

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA –BEJAIA



Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés
Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme de master
En Génie des procédés
Spécialité : Génie Alimentaire.

Thème :

Optimisation par les plans d'expériences de la formulation d'une sauce alimentaire

Présenter par :

HACHACHE LIZA & HARFOUCHE YASMINE

Devant le jury composé de :

KACHBI Abdelmalek	MCA	Université de Bejaia	Président
SELLAMI Ferhat	MCB	Université de Bejaia	Examineur
SENHADJI Ounissa	Professeur	Université de Bejaia	Encadreur
SAHI Sabrina	Doctorante	Université de Bejaia	Co-encadreur

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

Avant tout, nous remercions le bon Dieu de nous avoir donné le courage, la force, la patience et les moyens de réaliser ce travail, et de nous avoir mis entre de bonnes mains.

*En guise de reconnaissance, nous tenant fort à remercier notre promotrice, Professeur et Directrice de recherche à l'université de Bejaïa, **Mme Ounissa SENHADJI**, ainsi que notre Co-promotrice, **Mlle SAHI Sabrina** qui nous ont aidé et guidé durant tout le chemin de la réalisation de ce projet de fin d'études avec leurs apports précieux en matière du savoir-faire scientifique et pour nous avoir intégrée avec beaucoup d'efficacité dans un domaine qui nous a enthousiasmées.*

*Nos remerciements vont également à **Mr KACHBI** et **Mr ARREZOUG DJOUMAD** pour leurs précieuse aide durant la réalisation de ce travail.*

*Nos vifs remerciements vont à **Mr KACHBI** d'avoir accepté la présidence du jury, nous tenons compte à exprimer nos reconnaissances à **Mr SELLAMI** qui nous a fait l'honneur d'examiner notre travail, leurs regards critiques ne sauront que rehausser le niveau de notre savoir-faire.*

*Un grand merci à l'ensemble du personnel technique du bloc11 et plus particulièrement **Mme MOKHTARI** et **Mme BENAMOR**, pour leur disponibilité et l'aide efficace qu'elles nous ont apportées.*

DÉDICACE

A l'aide de DIEU, le tout puissant ce travail est achevé,
Je le dédie à toutes personnes que j'aime A ma très grande fierté,
mes très chers parents, car sans eux je ne serai pas arrivée là où j'en
suis grâce à leur sacrifices et encouragements pendant ma
formation et que dieu les protège et les garde en bonne santé.
A ma moitié, la prunelle de mes yeux, ma soul mate ma sœur
chérie Sara.

A mon support et guide de vie, le meilleur des grands frères
Syphax.

A mes grands-mères (yaya alja, nana, nounour) et sans oublier
dada.

Comment suis-je chanceuse de vous avoir à mes coté ma petite
famille.

Je le dédie aussi à mes très chères amies : Mina, Mimina, Jazmine
ma très cher binôme, Mimiy , Dida, henounou, lydia, cylouche,
nora, Sabrina....

A mes enseignants et enseignantes de département Génie des
procédés et à toute la promotion Master Génie alimentaire
2020/2021 et à toutes les personnes que j'aime... A tous ce qui
m'ont apporté d'aide de près ou de loin.

Liza.H

DÉDICACE

Je dédie ce travail

A mes chers parents qui m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leurs encouragements, par leur énorme sacrifice, qu'ils m'ont consentis durant mes études et qui ont toujours aimé me voire réussir.

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse ma Mère

A mon père, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

A mon adorable frère : FAROUK

Que Dieu les garde et les protèges.

A toute ma famille et mes amies et mon binôme Liza qui a partagé ce travail avec moi.

Yasmine .H

Liste des abréviations

CA : citron d'amizour.

CB : citron Boufarik.

CE : citron el-kseur.

DPPH : Di Phényl Picryl Hydrazyl.

E/H : Eau dans l'Huile.

E/H/E : Eau dans l'Huile dans l'Eau.

EAG : Equivalent D'acide Gallique.

EQ : Equivalent Quercétine.

FC : Folin-Ciocalteu.

FT : Flavonoïdes Totaux.

H/E : Huile dans l'Eau.

H/E/H : Huile dans l'Eau dans l'Huile.

HLB : Balance Hydrophile/Lipophile.

IC50 : Concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

ICP : Spectrophotométrie d'émission par plasma.

MS : Matière sèche.

pH : potentiel hydrogène.

PT : Polyphénols Totaux.

t : Temps d'agitation.

TA : Tensioactif.

UV: Ultra Violet.

VE : Volume de la phase aqueuse.

VH : Volume de la phase huileuse.

γ : Tension interfacial.

ω : Vitesse d'agitation.

Liste des figures

Chapitre I : Généralités sur le citron

Figure I.1 : Aire de répartition d'origine des agrumes	03
Figure I.2 : Champs des citronniers.....	04
Figure I.3 : La plante du citron	04
Figure I.4 : coupe équatoriale schématique d'un citron	05
Figure 1.5 : structure du noyau phénol.....	08
Figure 1.6 : Squelette de base des flavonoïdes.....	08
Figure 1.7 . Structure de la pectine.....	10

Chapitre II : Généralité sur les émulsions

Figure.II.1 : représentation schématique d'une émulsion.....	15
Figure II.2 : typologie des émulsions simples et multiples.....	16
Figure II.3 : différents types de distributions des tailles de gouttelettes.....	18
Figure II.4 : les deux types d'homogénéisation.....	18
Figure II.5 : phénomène du murissement d'Ostwald.....	20
Figure II.6 : Evolution du diamètre de gouttes en fonction du temps et de la vitesse d'agitation..	22
Figure II.7 : représentation schématique des différents mécanismes de stabilisation d'une émulsion H/E.....	23
Figure II.8 : schéma structural d'un tensioactif	23
Figure II.9 : Représentation de la dispensation du tensioactif selon sa nature.....	24
Figure II.10 : schéma de fabrication de la vinaigrette	28
Figure II.11 : répartition d'un processus.....	29

Chapitre III : Matériels et méthodes

Figure III.1 : Réaction d'une structure phénolique avec le radical DPPH.....	42
Figure III.2 : protocole de la détermination de l'activité antioxydante par le radical DPPH.....	43
Figure III.3 : Préparation d'une émulsion simple (E/H).....	44
Figure III.4 : Granulomètre.....	45

Chapitre IV : Résultats et discussions

Figure IV.1 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique	49
Figure IV.2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine	50
Figure IV.3 : Teneur des polyphénols totaux (g EAG /100 g MS)	51
Figure IV.4 : Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/100 g MS).....	51
Figure IV.5 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extraits.....	53
Figure IV.6 : Valeurs des concentrations d'IC50.....	54
Figure IV.7 : Distribution des tailles de gouttelettes des émulsions à base des émulsifiants (CE), (CA), (CB).....	57
FigureIV.8 : Evolution du volume de la phase aqueuse des essais du plan factoriel (Y) séparé en fonction du temps de repos	60
FigureIV.9 : Evolution du volume de la phase aqueuse des essais des points au centre (Y0) séparé en fonction du temps de repos.....	61
FigureIV.10 : Evolution du volume de la phase aqueuse des essais du plan factoriel (Y) séparé en fonction du temps de repos	62
FigureIV.11 : Evolution du volume de la phase aqueuse des essais des points au centre (Y0) séparé en fonction du temps de repos.....	63
Figure IV.12 : les tubes du bottel test de notre matrice d'essais après 21jours.....	63
FigureIV.13 : Isoréponse (X1, X2).....	68

Liste des tableaux

Chapitre I : Généralités sur le citron

Tableau I.1 : Classification de citrus limon.....	05
Tableau I.2 : variétés de citronniers à cultiver en pleine terre ou en pot selon la région.....	06
Tableau I.3 : composition biochimique moyenne dans 100g de citron.....	07
Tableau I.4 : les différentes classes des flavonoïde.....	09

Chapitre II : Généralité sur les émulsions

Tableau II.1 : propriétés thermodynamiques et physicochimiques de différents types d'émulsion.....	16
---	-----------

Chapitre III : Matériels et méthodes

Tableau III.1 : Réactifs utilisés.....	34
Tableau III.2 : Composition en acide gras.....	35
Tableau III.3 : concentration des étalons pour l'acide gallique	39
Tableau III.4 : Concentration des étalons de quercétine	41
Tableau III.5 : Domaine d'étude de plan étudié.....	46
Tableau III.6 : matrice des expériences	47
Tableau III.7 : Domaine d'étude de plan étudié.....	48
Tableau III.8 : matrice des expériences	49

Chapitre IV : Résultats et discussions

Tableau VI.1 : les absorbances correspondantes aux étalons de l'acide gallique.....	49
Tableau IV.2 : les absorbances correspondantes aux étalons de la quercétine	50
Tableau IV.3 : Teneur des extraits en métaux (μg métal/g matière sèche).....	57
Tableau IV.4 : Les volumes de la phase aqueuse et huileuse séparées en (%) après 24 h du temps de repos. Phase interne : acide acétique (4 ml). Phase externe : huile végétale (8 ml). Vitesse d'agitation= 3400 tr/min. Temps d'agitation= 2 min. Masse de poudre (0.04g) ...	58
Tableau IV.5 : Distribution de tailles des gouttelettes pour les différentes poudres.....	59
Tableau IV.6 : Matrice des expériences du plan factoriel complet à deux niveaux 2^2	59
Tableau IV.7 : Matrice des essais des points au centre.....	60
Tableau IV.8 : Matrice des expériences du plan factoriel complet à deux niveaux 2^2	65
Tableau IV.9 : Matrice des essais des points au centre.....	65

Tableau IV.10: Valeurs et signification des coefficients du modèle.....	65
Tableau IV.11: Analyses des variances (recherche de biais).....	66
Tableau IV.12: Analyse des variances (signification de la régression).....	67
Tableau IV.13: Calcul des résidus des modèles de 1 ^{er} degré.....	68

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux sommaire

Introduction générale01

Chapitre I : Généralités sur le citron

<i>I.1.</i>	Historique.....	<i>03</i>
<i>I.2.</i>	Définition du citron.....	<i>03</i>
<i>I.3.</i>	Classification botanique.....	<i>05</i>
<i>I.4.</i>	Types et variétés du citron.....	<i>05</i>
<i>I.5.</i>	Principaux constituants du citron.....	<i>06</i>
<i>I.6.</i>	Composition biochimique du citron.....	<i>07</i>
<i>I.7.</i>	Composition chimique des écorces de citron.....	<i>07</i>
<i>I.8.</i>	Composés phénoliques des écorces de citron.....	<i>08</i>
<i>I.8.1.</i>	Définition des polyphénols.....	<i>08</i>
<i>I.8.2.</i>	Flavonoïdes.....	<i>08</i>
<i>I.8.3.</i>	Propriétés antioxydantes des polyphénols.....	<i>10</i>
<i>I.9.</i>	Pectine.....	<i>10</i>
<i>I.9.1.</i>	Définition.....	<i>10</i>
<i>I.9.2.</i>	Structure de la pectine.....	<i>10</i>
<i>I.9.3.</i>	Propriétés physico-chimiques des pectines.....	<i>11</i>
<i>I.9.4.</i>	Utilisation des écorces d'agrumes dans l'industrie agroalimentaire.....	<i>11</i>
<i>I.10.</i>	Méthodes d'extraction.....	<i>12</i>
<i>I.11.</i>	Méthodes d'analyses.....	<i>13</i>
<i>I.11.1.</i>	Analyses Spectrophotométrie par UV.....	<i>13</i>
<i>I.11.2.</i>	Spectrophotométrie d'émission par plasma (ICP).....	<i>14</i>

Chapitre II : Généralité sur les émulsions

II.1.	Définition	15
II.2.	Différents types d'émulsions	15
II.3.	Caractérisation des émulsions.....	16
II.3.1.	Type d'émulsion.....	16
II.3.2.	Taille des gouttelettes	17
II.3.3.	Stabilité	18
II.3.3.1.	Floculation	18
II.3.3.2.	Crémage	19
II.3.3.3.	Coalescence	19
II.3.3.4.	Autres mécanismes de déstabilisation	20
II.3.3.5.	Bottel test.....	20
II.4.	Physicochimie des interfaces.....	21
II.4.1.	Tension interfaciale	21
II.5.	Influence de l'agitation sur la taille des gouttelettes.....	22
II.6.	Les émulsifiants.....	22
II.7.	Concepts de formulation.....	24
II.7.1.	Variables de composition et variables de formulation physico-chimiques.....	24
II.7.2.	Règle de Bancroft.....	24
II.7.3.	Méthodes HLB (Hydrophilic / Lipophilic balance).....	25
II.7.4.	Inversion de phase (PIT)	25
II.8.	Procédés de fabrication des émulsions	25
II.9.	Domaine d'applications des émulsions.....	26
II.9.1.	Pharmaceutique	26
II.9.2.	Cosmétique.....	26
II.9.3.	Pétrochimique.....	26
II.9.4.	Agroalimentaire.....	26
II.9.4.1	mayonnaise	26
II.9.4.2.	Les vinaigrettes	27
II.10.	Plans d'expériences	28
II.10.1.	Définition	28
II.10.2.	Intérêt	28

II.10.3.	Elaboration mathématique.....	29
II.10.3.1.	Calcul des coefficients du modèle.....	31
II.10.3.2.	Test de signification des coefficients du modèle.....	31
II.10.3.3.	Test de validité du modèle.....	32
II.10.3.4.	Test de signification globale de la régression.....	32
II.10.3.5.	Coefficient de corrélation R ²	33
II.10.4.	Estimation des coefficients du modèle.....	33

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1.	Présentation du matériel.....	34
III.1.1.	Produit chimique.....	34
III.1.2.	Matériel.....	36
III.1.3.	Appareillage et logiciels utilisés.....	36
III.2.	Mode opératoire et méthodes d'analyse.....	37
III.2.1.	Préparation des solutions.....	37
III.2.2.	Extraction par infusion.....	37
III.2.3.	Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes.....	38
III.2.3.1.	Dosage des polyphénols.....	38
III.2.3.2.	Dosage des flavonoïdes.....	40
III.2.3.3.	Evaluation de l'activité antioxydante par piégeage de radical libre DPPH.....	42
III.2.4.	Technique d'Analyses.....	43
III.2.4.1.	Analyse par spectrophotométrie UV-Visible.....	43
III.2.4.2.	Analyse par spectrophotométrie d'émission à coulage inductif (ICP).....	44
III.2.5.	Préparation des émulsions.....	44
III.2.5.1.	Préparation d'une émulsion simple E/H sans l'ajout d'un émulsifiant.....	44
III.2.5.2.	Préparation d'une émulsion simple E/H avec l'ajout d'un émulsifiant (poudre d'écorces de citron).....	45
III.2.5.2.1.	Détermination du meilleur émulsifiant.....	45
III.2.5.2.2.	Préparation des émulsions à base du meilleur stabilisant.....	46
III.2.6.	Modélisation de la stabilité d'émulsion par les plans d'expériences.....	46
III.2.6.1.	Paramètres de procédés.....	46
III.2.6.2.	Paramètres de compositions.....	48

Chapitre IV : Résultats et discussions

<i>IV.1.</i>	Evaluation des écorces de citron (Extraction par infusion).....	50
<i>IV.1.1.</i>	Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux.....	50
<i>IV.1.1.1.</i>	Dosage des polyphénols totaux	50
<i>IV.1.1.2.</i>	Dosage des flavonoïdes totaux	51
<i>IV.1.2.</i>	Teneurs des PT et FT des extraits d'écorces de citron de trois régions.....	52
<i>IV.1.3.</i>	Pouvoir anti- radicalaire DPPH	53
<i>IV.1.4.</i>	Analyse par spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif (ICP)	56
<i>IV.2.</i>	Application des poudres d'écorces de citron dans une émulsion alimentaire(vinaigrette)	57
<i>IV.2.1.</i>	Détermination du meilleur émulsifiant	57
<i>IV.2.2.</i>	Modélisation de la stabilité d'une émulsion alimentaire par les plans d'expériences.....	59
<i>IV.2.2.1.</i>	Elaboration du modèle du premier degré.....	59
	Conclusion Générale.....	69



INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Les agrumes sont les fruits dont la production est la deuxième plus importante au monde avec plus de 115 millions de tonnes par an, 517 milles tonnes ont été produites en **2013 par l'Algérie** qui occupe la 18ème place mondiale (**FAO, 2013**).

Le citron est l'une des principales espèces d'agrumes cultivées après l'orange et la mandarine dans le monde. Cet agrume se consomme sous plusieurs façons : chair, jus, confitures, fruits confits, liqueurs. De ce fait les industries de transformation alimentaires des agrumes génèrent plusieurs déchets chaque année. Ces sous-produits comprennent : les pépins, les écorces et les pulpes qui constituent une source inestimable de composés bioactifs tels que : les polyphénols, les fibres alimentaires, les caroténoïdes, les minéraux, la pectine, ... (**Mariel et Lopez , 2020**). Ces derniers sont très bénéfiques pour le métabolisme, ils préviennent plusieurs maladies tels que le cancer et les maladies cardiovasculaire en raison de leurs fortes activités biologiques, à savoir l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne (**Al-Jabri et Hossain , 2018**).

De ce fait ces composés bioactifs peuvent être incorporés dans des formulations alimentaires comme agents antioxydants (polyphénols), bio-pigments (caroténoïdes) et agents émulsifiants (pectine) (**Sarati et al, 2018**) ainsi que pour le développement de nouveaux produits alimentaires fonctionnels et nutraceutiques (**Balxinder et al, 2020**).

La pectine généralement employée pour son rôle dans le contrôle de la texture pouvant aller d'un simple épaississant jusqu'à gélifiant et stabilisant dans plusieurs produits alimentaires tels que les émulsions (**Sulieman et al, 2013**).

Les émulsions dispersées métastables telles que : boissons, mayonnaise, lait, fromage, yaourt, et vinaigrette, constitués de deux phases immiscibles sont classiquement stabilisées par des molécules tensioactives. Il est nécessaire de réduire l'utilisation de ces molécules dans toutes ces applications car elles s'avèrent nocifs pour la santé des consommateurs.

L'alternative serait alors d'arriver à former des émulsions sans tensioactif. Au cours des dernières décennies, un regain d'intérêt a été porté sur les émulsions stabilisées par des particules solides qui s'adsorbent à l'interface entre deux phases, connu sous le nom émulsion Pickering. Ces systèmes sont intéressants d'un point de vue économique et également environnemental. D'autre part, l'adsorption des particules aux interfaces étant irréversible

Introduction générale

(contrairement aux tensioactifs qui sont en équilibre thermodynamique à l'interface), les systèmes fabriqués sont extrêmement stables au cours du temps (**Ridel et al, 2015**).

La présente étude rentre dans le cadre de la recherche de molécules à caractère stabilisant pour la formulation de sauces alimentaires d'assaisonnement. L'objectif de ce travail est l'utilisation de poudre d'écorces de citron comme additif alimentaire naturel pour l'élaboration d'une émulsion alimentaire du type (E/H) (vinaigrette). Cet ingrédient va jouer le rôle d'émulsifiant et épaississant qui assurera une bonne compatibilité entre les phases huileuse et aqueuse.

Ce mémoire est essentiellement structuré en quatre chapitres. Le premier et le deuxième sont consacrés à la synthèse bibliographique qui regroupe respectivement des généralités sur le citron et des généralités sur les émulsions et leurs applications dans le secteur alimentaire. Le troisième chapitre est consacré à la mise en œuvre expérimentale. Le dernier chapitre, dédié aux résultats et discussion, englobe l'ensemble des résultats de l'étude qui a permis l'optimisation des paramètres qui influencent la stabilité de l'émulsion alimentaire formulée.

Dans la conclusion sont résumés les résultats les plus concluants de cette étude.



CHAPITRE I

Généralités sur le citron

I.1. Historique :

Dans l'esprit de tous, les agrumes sont les fruits des pays du soleil.

En effet, ces végétaux proviennent historiquement d'Asie, et plus précisément de Chine, D'Inde, du Vietnam, des régions tropicales de Malaisie et d'Indonésie. Leur implantation en Europe a suivi le cours d'histoire des hommes (Virbel-Alonso C, 2011).

D'après (Virbel-Alonso C, 2011). Les variétés d'agrumes sont très nombreuses.

Elles sont même en augmentation car de nouveaux hybrides apparaissent régulièrement sur les marchés de l'agrumiculture, tant au niveau des variétés cultivées (oranges, mandarines, clémentines, pomelos, citrons, limes, pamplemousses pour ne citer que les plus courantes). Il est clair que le nombre de variétés d'agrumes est considérable. Une sélection variétale efficace permet d'assurer une production importante tant d'un point de vue quantitatif que qualitatif.

Le citron (*Citrus lemon*) est né d'un croisement entre le pamplemousse, le cédrat et la lime (*Citrus vert*). Ses premières traces remontent à environ 3000 ans, lors de sa découverte dans les forêts de l'Himalaya. Par la suite, il est largement cultivé en Chine (Boukhoubzalalia, 2015).

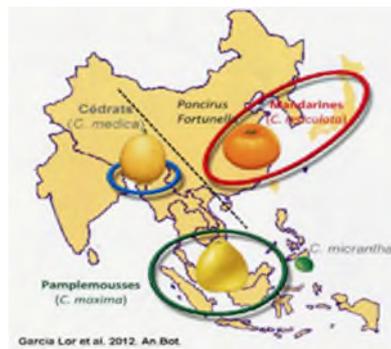


Figure I.1 : Aire de répartition d'origine des agrumes.

I.2. Définition du citron :

Le citronnier (*Citrus Lemon*) est un arbuste de 5 à 10 mètres de hauteur, à feuilles persistantes de la famille des rutacées. Dont le fruit est le citron, l'un des types de fruits les plus populaires dans le monde entier, largement cultivé dans les régions tropicales, subtropicales, (Jacquement et al., 1986) (Patsalou et al., 2017).

Chapitre I



Figure I.2: Champs des citronniers.

Il est d'une forme ovale, moyens à gros, au zest très parfumé. La peau est d'épaisseur variable, la pulpe acide, juteuse, avec quelques pépins. Ils restent longtemps sur l'arbre sans que le goût s'altère. Sa chair se devise en 6 ou 12 quartiers et contient peu de pépins (**rymond**



D, 1998, Nathalie R,2007-2008, Isabelle E,2011).

Figure I.3 : La plante du citron.

D'un point de vue botanique les agrumes sont des fruits charnus de type baie avec un péricarpe structuré en trois parties bien différenciées comprend l'albédo et le flavedo qui est une zone colorée contenant les poches schizolysigènes réparties de façon très irrégulière (**Ferhat et al., 2010**) comme illustré dans la **Figure.I.4**.

Chapitre I

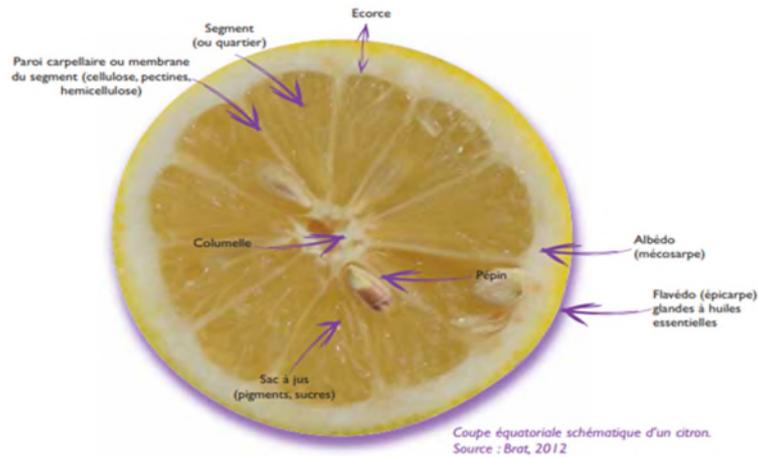


Figure I.4 : coupe équatoriale schématisée d'un citron.

I.3. Classification botanique :

Le tableau ci-dessous illustre la classification botanique du citron (**Gollouin et Tonelli, 2013**)

Tableau I.1 : Classification de citron.

• Règne	• Plante
• Classe	• Equisetopsida Eudicotylédones
• Ordre	• Sapindale
• Famille	• Rutaceae
• Genre	• Citrus

I.4. Types et variétés du citron :

Les principales variétés méditerranéennes cultivées du citronnier sont : Verna, Euréka, Lisbon, Monachello, Interdonato et Lunaris. (**Cano et al, 2008**).

Ces variétés sont sélectionnées pour leur valeur commerciale : productivité, richesse en jus, capacité d'être récoltée toute l'année, en effet le citron est un agrume principalement à maturité d'hiver mais apprécié l'été. Parmi les innombrables variétés de citron que nous pouvons trouver sur les marchés, voici les plus courantes illustrées dans le **tableau I.2** ci-dessous :

Chapitre I

Tableau I.2 : variétés de citronniers à cultiver en pleine terre ou en pot selon la région (Cano et al,2008).

Variétés	Saison	Caractère de fruit	Rendement	Images
(Citrus lemon) Citronnier 4 saisons	8mois /12 Janvier à December	Jaunes juteux avec quelques pépins	Excellent	
Citron meyer	8mois/12 mois Janvier à décembre	Jaunes à la peau lisse jaunes-orangés, juteux avec quelques pépins	Excellent	
Citron caviar	8mois /12 mois Octobre à février	Verts offrant une chair de petites perles qui éclatent en bouche, au goût vif et citronné avec de légères notes de pamplemousse	Bon	
Citronnier vert	8mois/12 Janvier à December	Citrons verts donnant un jus abondant, sans pépins, à la peau très fine	Moyen	
Eureka	4 saisons	Forme ovoïde, un zeste difficile à prélevé, juteuse très acide	Bon	

I.5. Principaux constituants du citron :

Comme tous les agrumes, le citron est un fruit très juteux renfermant 90% d'eau, fortement acide (PH inférieur à 3) ce qui en fait un fruit peu calorique, L'acidité est

Chapitre I

essentiellement dû à l'acide citrique, accompagné de faibles quantités d'acide malique, caféique et férulique. Le fruit a une haute teneur en vitamine C (acide ascorbique) 40 à 50 mg/100g mais également la vitamine B, vitamine E, et la vitamine K et d'un large éventail de vitamine du groupe B avec des quantités considérables de flavonoïdes, mais aussi une quantité importante de minéraux et oligo-éléments (**desaulniers, 2003**). Citrus lemon possède de nombreux composants nutritionnels naturels importants, tels que les composés phénoliques, les fibres alimentaires, les huiles essentielles et les caroténoïdes.

La composition du citron varie selon : la variété, la saison, le degré de maturité, les conditions de culture (**ciqual, 2017**).

I.6. Composition biochimique du citron :

Tableau I.3 : composition biochimique moyenne dans 100g de citron (**ciqual, 2013**).

Constituents	Teneur moyenne	Constituants (mg)	Teneur moyenne
Eau (g)	89.2	Beta carotenes (µg)	3
Proteins (g)	0.8	Vitamine E (mg)	0.8
Glucides (g)	2.45	Vitamine C (mg)	53
Lipids (g)	0.3	Vitamine B1 (mg)	0.05
Sucre (g)	2.2	Vitamine B2 (mg)	0.02
Fibres (mg)	2	Vitamine B3 (mg)	0.2
Sodium (mg)	<3	Vitamine B5 (mg)	0.19
Magnesium (mg)	8.93	Vitamine B6 (mg)	0.08
Potassium(mg)	149	Vitamine B9 (mg)	11
Calcium(mg)	18	Phosphore (mg)	15.5

I.7. Composition chimique des écorces de citron :

L'albédo est le composant principal de l'écorce de citron qui est une couche spongieuse et cellulosique déposée sous le flavedo. L'épaisseur de l'albédo fluctue en fonction de plusieurs facteurs tels que la variété et le degré de maturité et il possède une teneur élevée en fibres alimentaires. En outre, la présence de composés bioactifs associés (flavonoïdes et vitamine C) aux propriétés antioxydantes dans l'albédo citronné frais implique des avantages plus sains que d'autres sources de fibres alimentaires.

La composition chimique des écorces d'agrumes est sujette à des variations sous l'influence de divers facteurs et notamment la variété. De plus dans une même variété, la teneur en divers composés dépend des facteurs climatiques et environnementaux.

Les écorces sont particulièrement riches en composés digestibles et offrent de nombreuses possibilités d'utilisation pour l'alimentation fonctionnelle humaine et animale ainsi qu'en tant que complément alimentaire (**Bampidis et Robinson, 2006**).

Chapitre I

I.8. Composés phénoliques des écorces de citron :

I.8.1. Définition des polyphénols :

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires, ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Les polyphénols sont très nombreux, plus de 8000 structures identifiées, ils sont classés selon la complexité du squelette de base, le degré de modifications de ce squelette et les liaisons avec d'autres molécules. Suite à cette différence de structure, les polyphénols sont classés en quatre groupes voire flavonoïdes, tannins et lignines les acides phénoliques (**Hadj-Salem,2009**). Parmi les acides phénoliques présent dans les écorces de citron : l'acide caféïque, chlorogénique, gallique et férulique (**Xi1et al, 2017**).

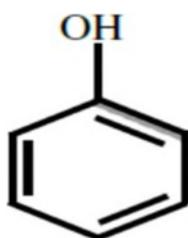


Figure 1.5 : structure du noyau phénol.

I.8.2. Flavonoïdes :

Le nom flavonoïde provient du nom flavedo, désignant la couche externe des écorces d'agrumes (**donatiant,2009**).

Les flavonoïdes sont des produits distribués dans le règne végétal comme les fruits et légumes, exemple des agrumes (citron, orange, pamplemousses, ...) qui sont consommés au quotidien, les écorces de ces derniers sont effectivement riches en ce qu'on appelle les citroflavonoïdes (**Ghedira,2005**).

En grande partie ils agissent comme des antioxydants primaires et ils dérivent des flavanes, qui contiennent 15 atomes de carbone, rangés dans la configuration C6-C3-C6, deux noyaux aromatiques A et B, liés entre eux par un hétérocycle oxygéné C (**Gattuso et al,2007; Chira et al, 2008**).

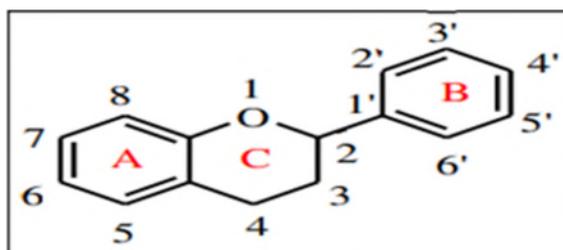
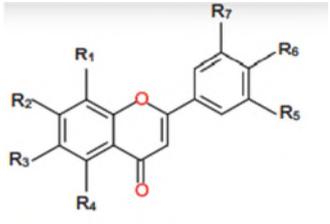
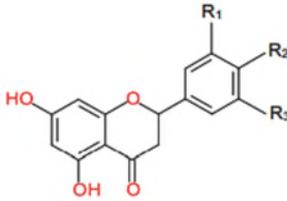
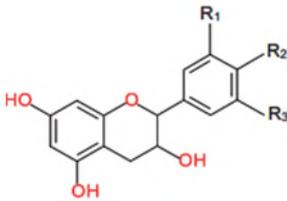
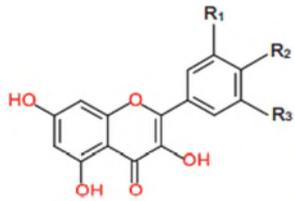
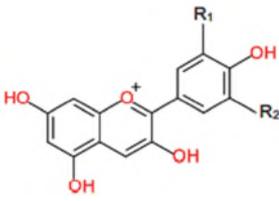


Figure 1.6 : Squelette de base des flavonoïdes.

Chapitre I

Les flavonoïdes sont divisés en cinq classes :

Tableau I.4 : les différentes classes des flavonoïdes (Divyani , 2021) .

Classe	Structure chimique	Exemples
Flavones		R1 = R2 = R3 = R4 = R6 = OCH3 ; R5 = R7 = H : Tangéretine
Flavanone		R1 = OH ; R2 = OCH3 : Hespérétine
Flavanol		R1 = R2 = OH ; R3 = H : Catéchine
Flavonol		R1 = R2 = OH ; R3 = H : Quercétine
Anthocyanidines		R1 = OH ; R2 = H : Cyanidine

Chapitre I

I.8.3. Propriétés antioxydantes des polyphénols :

Les acides phénoliques agissent donneurs de protons ou d'électrons et chélatent les métaux de transition (**blokhina et al, 2003**) la position et le degré d'hydroxylation, et la méthylation du cycle aromatique sont des facteurs importants qui déterminent l'activité antioxydante des acides cinnamiques et de leurs dérivés (**Robards et al, 1999**).

La propriété antioxydante des flavonoïdes la mieux décrite est leurs capacités à piéger les radicaux libres :



Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle selon la réaction au-dessus, cette réaction de piégeage nous donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyde Flavonoïde O° (**Wendpagnagdé et Rachel, 2005**)

I.9. Pectine :

I.9.1. Définition :

La pectine est un composé macromoléculaire naturel qui existe largement dans les parois cellulaires et les structures lamellaires intermédiaires de toutes les plantes supérieures, elle est considérée comme un polysaccharide complexe (**Rezzoug et al, 2007**), les pectines sont abondantes dans les fruits et légumes et parmi ses principales sources industrielles sont les écorces de citron, orange et les marcs de pomme (**Pinheiro et al, 2008 ; Combo et al, 2011**). Sur le plan nutritionnel la pectine est considérée comme fibre soluble celle-ci a une forte rétention d'eau, ce qui rend l'eau un meilleur solvant.

La pectine est employée dans l'industrie agroalimentaire en tant qu'additifs gélifiants, épaississants, stabilisant et émulsifiant (**Wicker et al, 2014**), elle est utilisée dans la préparation des confitures, des gelées et des marmelades, de nouvelles applications de la pectine continuent à s'émerger.

I.9.2. Structure de la pectine :

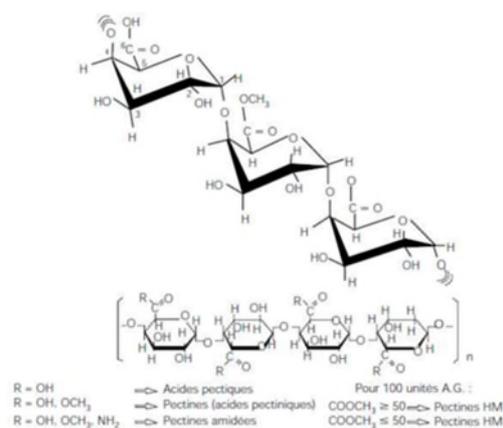


Figure 1.5. Structure de la pectine.

Chapitre I

I.9.3. Propriétés physico-chimiques des pectines :

La pectine est un polysaccharide non digestible entrant dans la catégorie des fibres alimentaires. Ce polysaccharide a de multiples usages en industrie alimentaire (agent épaississant, stabilisant ou gélifiant). De plus, la pectine a une très grande capacité de rétention d'eau. Ces propriétés fonctionnelles dépendent de la structure de la molécule de pectine et surtout son degré de méthylation.

Le degré de méthylation est un paramètre important qui influe sur le processus et le mécanisme d'association des pectines dans la formation des gels (**Combo et al, 2011**). Les pectines hautement méthylée (HM) formes de gels en présence de sucre et en milieu acide. Une application comme depuis longtemps de ce type de pectine bivalent, par exemple d'ions de calcium. Mis à part le degré de méthylation, la concentration en sucre ou acide, la présence des chaînes latérales et la température jouent également un rôle important dans la consistance du gel (**Srivastava et Malviya, 2011**). Ces propriétés confèrent une importance considérable très recherchée dans les différents domaines d'utilisation (**Wicker et al, 2014**).

I.10. Utilisation des écorces d'agrumes dans l'industrie agroalimentaire :

De nouveaux aspects concernant la valorisation de ces sous-produits, en procédant à l'extraction des composés bioactifs (composés phénoliques, huiles essentielles, pectines...etc) ont susciter l'intérêt des industries agro-alimentaire (Sahraoui et al., 2011 ; Kim et al., 2004 ; Bicu et al., 2011).

- ✓ Les huiles essentielles d'écorces d'agrumes(citron) sont contenues dans la partie flavedo, ces huiles sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour hausser le goût , aromatiser et colorer (caroténoïdes) quelques aliments (**Bouguerra A, 2012 ; Aprotosoiaie et al, 2010**), tels que les produits de boulangeries comme les gâteaux, les confiseries, les bonbons, les boissons et les glaces (**Grysole, 2005 ;Gamarra et al, 2006**).Notamment utilisés comme des conservateurs car elles possèdent des propriétés antimicrobiennes et antioxydante.
- ✓ La pectine de l'écorces citron est utilisée dans plusieurs formulations alimentaires : des confitures, yaourts, boissons, concentrés de jus de fruits, produits laitiers et les gelées grâce à ses propriétés gélifiantes et épaississantes (**Kebaili M, 2019**).
- ✓ Les polyphénols, flavonoïdes et huiles essentielles présents dans les extraits d'écorces de citron sont utilisés dans des systèmes d'emballage antimicrobiens afin de conserver les produits alimentaires car il augmente la durée de conservation grâce à leurs effets inhibiteurs sur les micro-organismes responsables des phénomènes

Chapitre I

d'altération, par exemple dans la mozzarella sans affecter le microbiote fonctionnel du produit (conte et al,2007).

- ✓ Les flavonoïdes (flavanones : l'héspéridine et néo héspéridine) peuvent être transformer en édulcorants à potentiels naturels (M'hiri et al, 2014).

I.11. Méthodes d'extraction :

L'extraction est une technique de séparation, cette technique utilise un moyen d'extraction pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de propriétés chimique ou physiques.

L'extraction consiste à transférer un composé d'une phase à une autre phase par exemple l'extraction slide-liquide (Kalla, 2012), également appelée extraction par solvant, est une opération de transfert de matériau destiné à séparer le principe actif d'une matrice solide par diffusion dans un solvant. Son but est d'extraire, séparer ou de dissoudre par immersion dans un liquide ou par pulvérisation par un liquide ou plusieurs ingrédients mélangés à un solide. La diffusion est due à la présence d'un gradient de concentration du soluté à extraire entre les phases solide et liquide. A la fin de l'opération, le système à tendance à s'équilibrer. Il s'agit généralement d'une opération à pression constante.

Il existe plusieurs variantes d'extraction solide-liquide à un dénominateur commun qui permet au solvant d'interagir avec le matériau solide de dissoudre ses composés solubles (Poirot, 2007) :

Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser.

Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans l'eau bouillante. Également utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude. Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (Benzeggouta, 2015).

Décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorces, racines, ou des plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min pour bien extraire les principes actifs (Benzeggouta, 2015).

Chapitre I

Infusion

Cette extraction consiste à verser de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes actifs.

Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes : feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatils ou thermolabiles comme les huiles essentielles (**Benzeggouta, 2015**).

I.12.Méthodes d'analyses :

I.12.1. Analyses Spectrophotométrie par UV :

La spectrophotométrie UV visible est une méthode quantitative, qualitative, sensible et permet d'analyser les échantillons à faible concentration. Les spectres sont caractéristiques aux molécules, et procurent des informations sur le squelette moléculaire et les différentes substitutions (**Madi, 2019**).

Domaine UV-Visible :

Le domaine uv-visible s'étend environ de 800

- ✓ UV -lointain : 200nm- 10nm.
- ✓ Proche UV : 400nm- 200nm.
- ✓ Visible : 800nm- 400nm.

Principe (Taleb,2013, Gratien , 2008) :

La spectrométrie d'absorption UV visible repose sur les transitions d'électrons de valence qui passent d'un état fondamental à un état excité après absorption d'un photon dans l'UV visible. Cette transition s'accompagne de niveaux rotationnels et vibrationnels. Elle nécessite une énergie assez forte qui correspond aux longueurs d'ondes UV visible.

Le spectre d'absorption de la matière est caractérisé par le coefficient d'extinction moléculaire ϵ à chaque longueur d'onde. Cette loi stipule que l'absorbance est directement proportionnelle à la longueur ℓ (épaisseur de l'échantillon traversée par le faisceau) et la concentration C , est décrite par l'équation suivante :

$$A = - \log (I/I_0) = \epsilon.\ell.C$$

Chapitre I

- ✚ I/I₀ : la transmittance de la solution
- ✚ A : l'absorbance à une longueur d'onde λ en unité arbitraire.
- ✚ ε : le coefficient d'extinction molaire. Exprimé en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$. Il dépend de la longueur d'onde, la nature chimique de l'entité et la température.
- ✚ ℓ : la longueur du trajet optique en cm.

I.12.2. Spectrophotométrie d'émission par plasma (ICP) :

✚ Définition (Voyeur et al, 2000) :

La spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (ICP-AES) est une technique d'analyse multi-élémentaire à fort potentiel. Elle offre 29 possibilités très intéressantes, avec peu d'interférences, la détermination simultanée de nombreux éléments sur l'appareillage multicanaux, une grande stabilité, une bonne reproductibilité, et un très faible bruit de fond. Cette technologie a démontré son excellence pour l'analyse des métaux dans des échantillons aussi divers que l'eau, le sang, les végétaux, les métaux, les roches, les céramique, les matériaux solides sont préalablement soumis à une dissolution. L'analyse par ICP-AES mesure les radiations émises par les atomes excités ou ionisés. Le rayonnement émis est spécifique d'un élément donné et son intensité est proportionnelle à sa concentration. Pour être excité, l'échantillon est nébulisé sous argon puis injecté dans une torche plasma où l'application d'un champ issu d'un générateur radio fréquence permet la création plasma. Les températures atteintes par le plasma sont de l'ordre de 5000 à 10000°K. Les eaux sont préalablement filtrées et acidifiées. Dans les cas d'échantillons contenant des matières en suspension ou pour des sédiments une mise en solution est nécessaire. Le principal avantage de l'ICP-AES est d'être pratiquement insensible aux effets de matrice. Cette technique multi-élémentaire se caractérise aussi par une très grande sensibilité jusqu'au $\mu g/L$. les principales composantes d'un ICP-AES sont :

- ✓ Un système d'introduction d'échantillon (nébuliseur)
- ✓ Une torche ICP
- ✓ Un générateur radio fréquence
- ✓ Un système optique qui permet d'acquérir des spectres d'émission du plasma
- ✓ Un système de traitement de signal qui permet l'analyse qualitative et quantitative à partir du rayonnement émis.



CHAPITRE II

Généralité sur les émulsions

II.1. Définition :

Une émulsion se définit comme la dispersion de deux phases liquides non miscibles. C'est un mélange de solution lipophile et hydrophile en se caractérisant par la présence de deux phases distinctes dont l'une est dispersée dans l'autre (**figure.II.1**). On appelle phase dispersée ou phase discontinue, le liquide formant des gouttelettes, alors que l'on désigne le second fluide comme étant la phase dispersante ou phase continue.

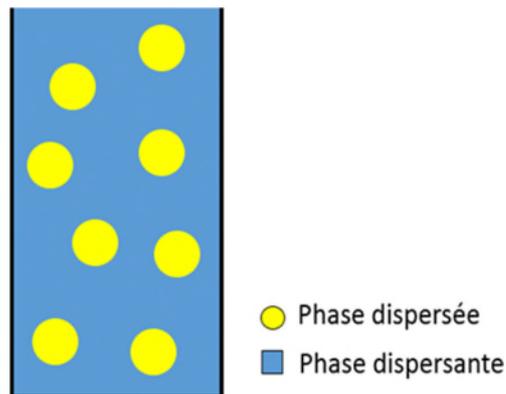


Figure.II.1 : représentation schématique d'une émulsion

Les émulsions faisant partie des colloïdes, la dimension des gouttelettes est située entre le micromètre et nanomètre. Une émulsion possède un aspect macroscopique homogène alors que sa structure microscopique est hétérogène. Cette répartition des deux liquides s'explique par la présence d'une énergie de surface au niveau de l'interface appelée tension interfaciale. Lorsque cette force est faible, on a besoin d'apporter moins d'énergie pour augmenter la surface des gouttelettes. L'émulsion est alors plus stable car on défavorise la séparation des phases (Caullet et al, 2018).

II.2. Différents types d'émulsions :

Les émulsions peuvent être classées selon leur typologie et leurs structures. Le premier fait référence à la répartition relative des phases non miscible (huile et eau), le second fait référence à l'arrangement des entités émulsionnées. Compte tenu de la typologie, les émulsions peuvent être classées en simple (H/E et E/H) ou multiples (huile-eau-huile (H/E/H), et eau-huile-eau (E/H/E)).

Chapitre II

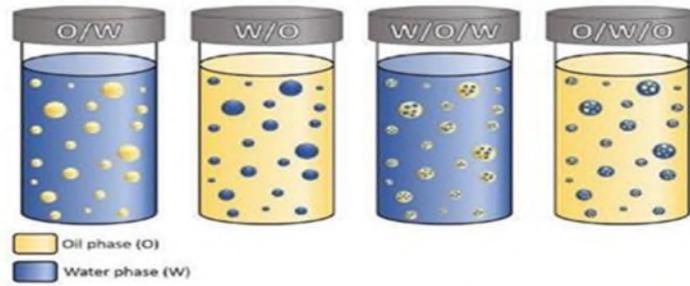


Figure II.2 : typologie des émulsions simples et multiples.

En ce qui concerne la structure, les émulsions peuvent être classées en macro-émulsions, nano-émulsions. Ces systèmes présentent des propriétés physico-chimiques spécifiques qui influencent leur domaine d'applications (**Arantzazu et al, 2021**).

Le tableau suivant représente propriétés de différents types d'émulsion :

Tableau II.1 : propriétés thermodynamiques et physicochimiques de différents types d'émulsion (**xiaoyan,2016**).

Type d'émulsion	Diamètre	stabilité	Apparence
Macro-émulsions	100nm-100µm	instable	Opaque
Nano-émulsions	10-100 nm	instable	Translucide
Micro-émulsions	1-100 nm	stable	Claire

II.3. Caractérisation des émulsions :

II.3.1. Type d'émulsion (Le Hir, 2001) :

Une propriété importante d'une émulsion est son type : émulsion simple H/E, E/H, ou éventuellement émulsion multiple.

Il existe différentes méthodes pour déterminer le type d'une émulsion ça revient à caractériser la phase externe (phase dispersante). Le contact avec l'émulsion se faisant par la phase externe, les propriétés de mouillabilité et de dispersion sont celles de la phase continue.

Chapitre II

- ✚ **Mouillabilité** : une petite quantité d'émulsion H/E va s'étaler sur un substrat hydrophile comme un morceau de verre propre ou de papier filtre, alors que l'émulsion E/H ne s'étale pas.
- ✚ **Dispersion** : si une petite quantité d'émulsion H/E est versée dans un milieu aqueux, sa phase externe va se dissoudre dans la phase aqueuse et les gouttelettes d'huile vont se disperser, ce qui n'est pas le cas pour une émulsion E/H.
- ✚ **Méthode de coloration** : on peut aussi utiliser la méthode des colorants, c'est-à-dire qu'on ajoute à l'émulsion un colorant liposoluble en poudre (du soudan III par exemple) : si l'émulsion est un type E/H, la coloration se propage dans l'émulsion, si elle est du type H/E, elle ne s'étend pas. On a des phénomènes inverses avec un colorant hydrosoluble (érythrosine ou bleu de méthylène).

Ces méthodes sont simples et rapides pour caractériser la nature de la phase externe.

- ✚ **Conductivité électrolyte** : dans la plupart des cas, on ajoute des électrolytes dans la phase aqueuse, ainsi la conductivité électrolytique sera caractéristique de la phase aqueuse et permettra de déterminer le type de l'émulsion (méthode préconisée par la pharmacopée européenne).

II.3.2. Taille des gouttelettes :

Après avoir caractérisé le type de l'émulsion, la seconde information importante est la taille des gouttes de la dispersion. Une émulsification est généralement un procédé d'agitation dans lequel cassure et coalescence sont en équilibre, l'émulsion qui en résulte est un système polydispersé dans lequel coexistent des petites et des grosses gouttes. Cet équilibre dépend de l'agitation, de la viscosité, de la température et de la formulation. La meilleure description consiste à donner une distribution de ses tailles qui traduit un inventaire statique du fractionnement de la phase dispersée. La taille des gouttes peut être mesurée par plusieurs techniques : turbidité, diffraction laser, sédiment métrie, atténuation ultrasonore, comptage individuel ou fractionnement capillaire. La diffraction laser est aujourd'hui la méthode la plus répandue (**Pierat, 2010**).

Chapitre II

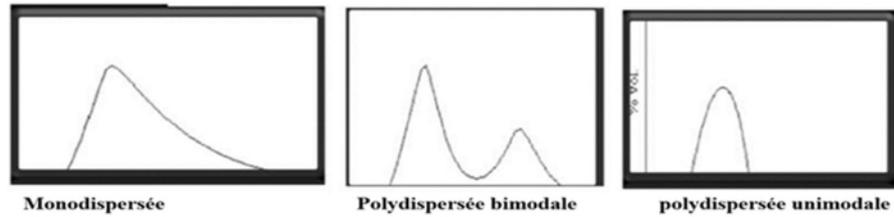


Figure II.3 : différents types de distributions des tailles de gouttelettes (McClements, 2016).

II.3.3. Stabilité :

Toute émulsion est thermodynamiquement instable. Cette instabilité résulte de différents mécanismes dont la mise en œuvre dans le temps peut varier de plusieurs heures à quelques années et conduit à la séparation totale de deux phases.

Les principaux mécanismes de déstabilisation sont le crémage, la floculation mais surtout la coalescence qui entraîne une diminution de l'aire interfaciale (Legrand, 2013).

II.3.3.1. Floculation :

La floculation est l'agrégation de deux ou plusieurs gouttelettes lipidiques dans une émulsion avec conservation individuelle de chaque particule.

Il s'agit d'un phénomène réversible par dilution, changement de pH ou agitation.

Les floccs sont maintenus par des liaisons faibles sans rupture du film interfacial. La fraction volumique de lipides et les interactions colloïdales entre les gouttelettes conditionnent le type de floccs formés (McClements, 1999).

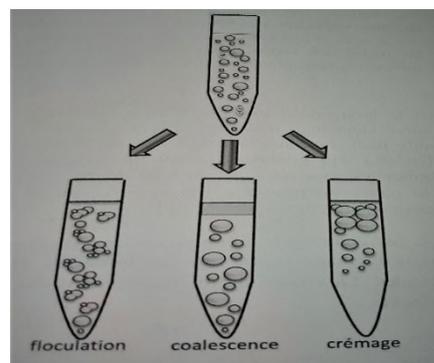


Figure II.4 : les phénomènes de déstabilisation.

Le phénomène de floculation est contrôlé par deux facteurs, la fréquence et l'efficacité des collisions. La fréquence et l'efficacité des collisions. La fréquence de

Chapitre II

collisions correspond au nombre de collisions entre les gouttelettes par unité de temps et volume. Elle dépend du nombre de gouttelettes et de la fraction volumique de la phase lipidique, ainsi que de la mobilité des gouttelettes (mouvement brownien, séparation gravitationnelle, forces de cisaillement). Deux floculations sont alors distinguées : le mouvement brownien induit une floculation péri cinétique, alors que l'on parle de floculation optocinétique lorsqu'elle est provoquée par un cisaillement. Quant à l'efficacité des collisions, elle traduit la probabilité que deux gouttelettes restent accolées suite à une collision, et elle dépend de l'équilibre entre les différentes interactions colloïdales attractives et répulsives intervenant entre les gouttelettes.

La floculation a pour conséquence une augmentation de la taille apparente des particules dispersées (agrégats par rapport aux gouttelettes). Cet accroissement de la taille apparente des particules a pour effet d'augmenter la vitesse de crémage de l'émulsion. Dans certains cas, lorsque les gouttelettes sont nombreuses et elles sont agrégées de façon à constituer un réseau dans la phase aqueuse, la floculation peut à l'inverse empêcher le crémage des gouttelettes.

La structure des agrégats dépend en partie des forces d'interaction entre les gouttelettes. La structure des agrégats dépend en partie des forces d'interactions entre les gouttelettes mais également du mécanisme responsable des collisions entre gouttelettes **(Dickinson, 1996)**.

II.3.3.2. Crémage :

Le crémage est le mouvement des gouttelettes lipidiques sous effet de la gravité ou la centrifuge pour former une couche concentrée au-dessus d'une émulsion huile dans eau, sans changement de la distribution de la taille des gouttelettes **(Dickinson, 1996)**. Un gradient vertical de concentration de gouttelettes s'établit jusqu'à former une couche supérieure de crème, enrichie en gouttelettes bien distincte de la phase inférieure, à l'inverse appauvrie en gouttelettes ce phénomène est réversible par agitation douce de l'émulsion.

De plus, la floculation joue un rôle accélérateur sur le crémage pour les fractions volumiques faibles à intermédiaires puisque des gouttelettes floculées ont un rayon de stocks résultant plus important, ce qui induit une migration plus rapide vers la partie supérieure **(Legrand, 2013)**.

II.3.3.3. Coalescence :

Chapitre II

La coalescence résulte de la fusion de deux ou plusieurs gouttelettes d'émulsion pour n'en former qu'une seule plus volumineuse. Contrairement au crémage, ce phénomène est irréversible et une forme de déstabilisation plus sévère que le crémage puisque le phénomène peut aller jusqu'à la séparation complète des deux phases. Deux facteurs influent principalement sur la coalescence : l'amincissement et la rupture du film interfaciale. Lorsque les gouttelettes sont en contact prolongé (cas d'une floculation « efficace », la coalescence peut se produire (McClements, 1999).

II.3.3.4. Autres mécanismes de déstabilisation :

Il existe deux autres mécanismes de déstabilisation des émulsions : la coalescence partielle et la diffusion d'Ostwald. La coalescence partielle est un mécanisme particulier de coalescence qui se produit lorsque la phase dispersée est cristallisée. Les cristaux de phase dispersée peuvent provoquer la rupture du film interfacial, toutefois les gouttelettes ne peuvent fusionner totalement du fait de l'état cristallin de la phase lipidique. La diffusion d'Ostwald est le procédé par lequel les gouttelettes de taille importante grossissent au détriment des gouttelettes de plus petite taille. Des molécules de la phase dispersée diffusent via la phase continue des petites gouttelettes vers les plus grosses ou la pression de Laplace est plus faible. Pour que ces processus s'opèrent, il faut que la phase dispersée soit partiellement soluble dans la phase continue (Legrand, 2013).

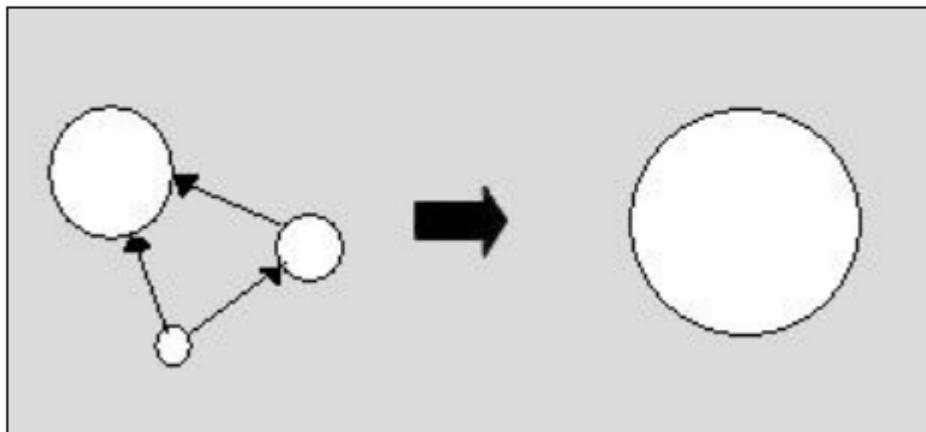


Figure II.5 : phénomène du murissement d'Ostwald

II.3.3.5. Bottel test :

Le test de l'ampoule ou bottel test consiste à observer le comportement d'une émulsion au cours du temps, à une température donnée. On recueille un volume donné d'émulsion

Chapitre II

fraîchement fabriquée dans une ampoule graduée que l'on bouche. Cette ampoule est observée à intervalles réguliers (tous les jours par exemple) pour observer les éventuelles démixtions et noter la hauteur des limites entre zones d'aspects différents. En général, on réalise une série d'ampoules pour optimiser la formulation. Ce test reproduit le vieillissement naturel de la formulation, sa mise en œuvre est simple, mais le temps nécessaire à l'obtention d'un résultat peut être long. Cette technique est donc mieux adaptée à un travail de développement plutôt qu'à une procédure de contrôle post-fabrication

Une autre technique utilisée pour mesurer la stabilité d'une émulsion est le vieillissement accéléré, réalisable par deux méthodes :

- Le vieillissement en enceinte climatique fait subir aux émulsions des cycles de chaud-froid répétés
- La sédimentation forcée reprend le principe du bottel test mais en utilisant une centrifugeuse pour accélérer la sédimentation

II.4. Physicochimie des interfaces :

II.4.1. Tension interfaciale :

Les émulsions sont des systèmes instables, formées de deux liquides immiscibles. Afin d'éviter leur déstabilisation, il faut stabiliser les interfaces formées lors de l'émulsification, cette stabilisation est principalement reliée à des notions de tension interfaciale, permettant la cohabitation des liquides immiscibles et aux angles de contacts que les particules peuvent former avec les phases (**Ridel, 2015**).

La tension interfaciale γ correspond à la force nécessaire pour rompre la surface entre deux liquides immiscibles. Elle caractérise mathématiquement la variation d'énergie libre, F , associée à une variation dA de la surface entre deux milieux :

$$FS = \frac{\theta F}{\theta A} A = \gamma A \quad (\text{II.1})$$

Elle est définie comme une énergie par unité de surface ou comme une force par unité de longueur, exprimée en N/m.

Plus spécifiquement, deux phases coexistent à l'équilibre seulement si elles sont séparées par une frontière stable caractérisée par son énergie libre FS associée à la formation d'une surface de contact A entre les deux phases (**Ridel, 2015**).

II.5. Influence de l'agitation sur la taille des gouttelettes

Les conditions d'agitation telles que le temps d'émulsification, le type d'agitateur et la vitesse d'agitation ont une influence capitale sur la taille des gouttes d'une émulsion. Sur la **Figure II.6**, on peut observer la diminution des diamètres de gouttes au cours du temps sur une émulsion de type H/E où le mobile d'agitation est une hélice à pales inclinées tournant à différentes vitesses. Le diamètre des gouttes baisse jusqu'à atteindre un palier quelle que soit la vitesse d'agitation (**Allouche, 2003**).

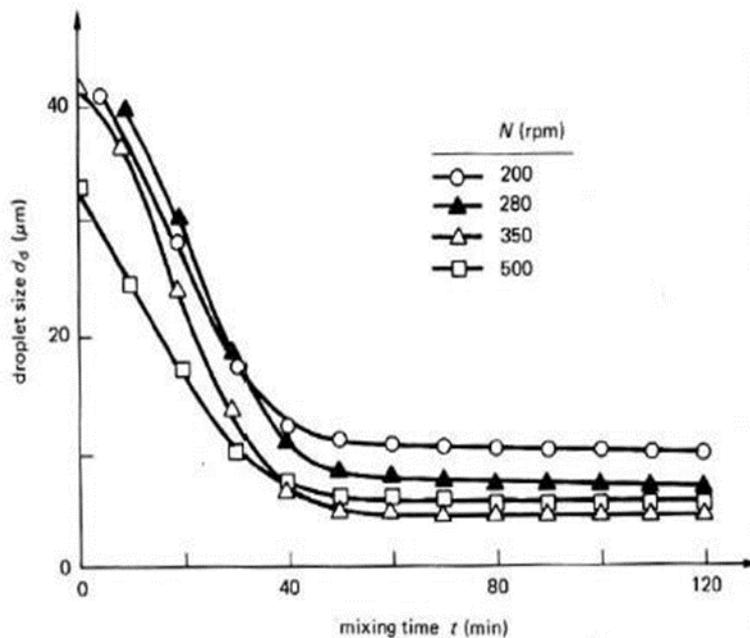


Figure II.6 : Evolution du diamètre de gouttes en fonction du temps et de la vitesse d'agitation (**Allouche, 2003**).

II.6. Les émulsifiants :

Des substances peuvent être ajoutées à la phase hydrophile ou lipophile pour participer à la stabilisation des émulsions, ces substances appelées émulsifiants, stabilisent l'interface entre les gouttelettes dispersées et la phase dispersante et/ou limitent la rencontre entre les gouttelettes dispersées. Une émulsifiante efficace doit avoir les caractéristiques générales suivantes :

- Capacité de s'adsorber rapidement à la surface des gouttelettes fraîchement formées pendant l'homogénéisation.
- Capacité de réduire la tension interfaciale d'une quantité significative.
- Capacité de former un revêtement interfacial qui soit résistant à la rupture et / ou fournir une interaction répulsive suffisamment forte entre les gouttelettes (**Macclements, 2016**).

Chapitre II

Il existe différents types d'émulsifiants **Figure II.7**: les tensioactifs (TA), les particules solides, les chaînes des polymères et les protéines. Les plus couramment utilisés sont les TA

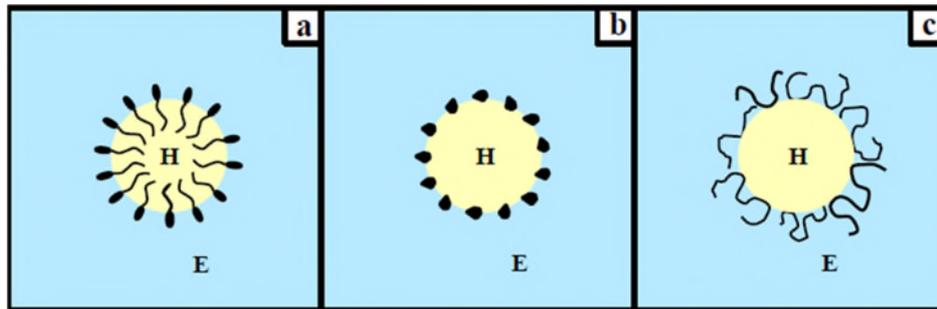


Figure II.7 : représentation schématique des différents mécanismes de stabilisation d'une émulsion H/E (Jounanny, 2011).

A : tensioactif (TA), b : particules solides, c : chaînes polymériques.

Les plus couramment utilisés sont les tensioactifs (aussi appelé surfactants ou agents de surface) sont des molécules modifiant la tension interfaciale entre deux phases.

Généralement, un tensioactif est une molécule amphiphile, c'est-à-dire possédant une partie hydrophile (polaire) et une autre hydrophobe (apolaire), comme présenté par la **figure II.8**, au-dessous :

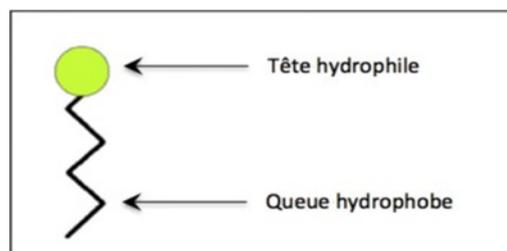


Figure II.8 : schéma structural d'un tensioactif

Suivant la nature de la tête polaire, un tensioactif peut être :

- Anionique ; il s'ionise négativement en phase aqueuse (par exemple $R-COO^-$),
- Cationique ; il s'ionise positivement en phase aqueuse (par exemple $R-NH_3^+$),
- Amphotère (ou zwitterion que); il possède alors les deux types de charges (par exemple un groupement carboxylate et un ammonium quaternaire $NH_3^+-R-R'-COO^-$), ou non ionique; il ne se dissocie pas en phase aqueuse (par exemple $R-OH$, R étant un groupe alkyle) (Lionel, 2011)

II.7. Concepts de formulation :

II.7.1. Variables de composition et variables de formulation physico-chimiques

La formulation des émulsions se ramène au choix des valeurs de deux types de variables : les variables de composition et les variables physico-chimiques. On appelle variable de composition les proportions relatives des constituants principaux du système : tensioactif, eau, huile. On appelle variables de formulation physico-chimiques tous les paramètres physiques (température, pression) ou chimiques (nature des constituants principaux et des additifs, proportion des additifs) susceptibles d'influer sur le système (Pierat, 2010).

II.7.2. Règle de Bancroft :

L'une des premières règles empiriques développées pour décrire le type d'émulsion qui pourrait être stabilisée par un agent tensioactif donné a été proposée par Bancroft. La règle de Bancroft stipule que la phase dans laquelle le tensioactif le plus soluble va former la phase continue d'une émulsion.

Par conséquent, un agent tensioactif soluble dans l'eau devrait stabiliser les émulsions huile-dans-eau, alors qu'un agent tensio-actif soluble dans l'huile devrait stabiliser les émulsions eau-dans-huile. En résumé, la règle de Bancroft est une méthode empirique utile pour déterminer le type d'émulsion d'un surfactant se stabilisera potentiellement (H/E ou E/H)

(McClements, 2016).

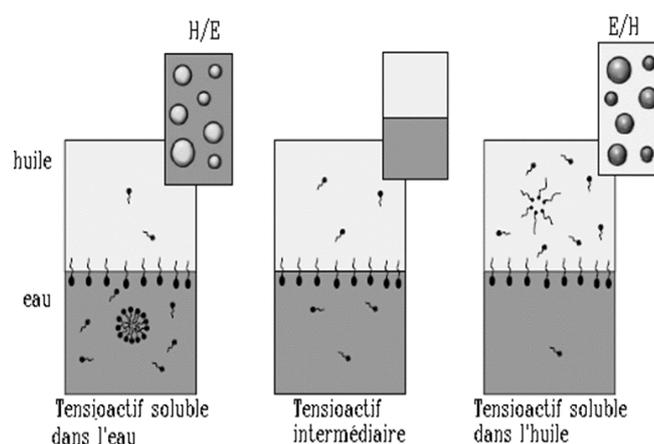


Figure II.9: Représentation de la dispensation du tensioactif selon sa nature.

Chapitre II

II.7.3. Méthodes HLB (Hydrophilic / Lipophilic balance) :

La caractérisation physico-chimique qui guide le choix d'un émulsifiant pour un système donné, est très logiquement son affinité pour chacune des phases aqueuse et lipidique. Elle est définie par balance Hydrophile Lipophile (HLB), littéralement l'équilibre entre les groupes hydrophile et lipophile de la tension active. C'est plus précisément la proportion de la partie hydrophile à la partie hydrophobe. Cette valeur est comprise entre 0 et 20 et nous renseigne donc sur l'hydrophilie de l'émulsifiant : plus la valeur de HLB est élevée plus le caractère hydrophile est marqué. La valeur HLB nous indique donc en première approximation la phase dans laquelle l'émulsifiant est plus soluble, qui devrait constituer la phase continue de l'émulsion. Ainsi l'on peut considérer que (**Legrand, 2013**) :

- Dans le cas d'émulsions de type eau dans l'huile, on utilise des tensioactifs de faible HLB ($HLB < 7$).
- Pour des émulsions de type huile dans l'eau, on choisit des tensioactifs de plus forte HLB ($HLB \geq 8$).

II.7.4. Inversion de phase (PIT) :

C'est un phénomène qui se produit lorsque l'on rajoute de la phase dispersée dans l'émulsion. Au-delà d'un certain pourcentage, la phase dispersée devient phase continue et vice versa. Cette inversion peut également se produire par agitation ou changement des conditions de températures par exemple. Seules certaines émulsions sont sujettes à ce phénomène, qui peut être recherché, comme dans la fabrication de la margarine ou du beurre, ou être un effet indésirable car modifiant l'aspect, la texture ou la stabilité de l'émulsion.

Ces différents effets sont bien entendu à prendre à compte, à suivre voire à réguler au mieux afin d'être capable de donner et de maintenir une texture adéquate au produit. Les méthodes de mesure rhéologiques sont alors les mêmes que celles qui sont utilisées pour les liquides ou les suspensions, sachant que les émulsions sont des produits fragiles et que les phénomènes de surface y sont particulièrement importants (**Roudot, 2001**).

II.8. Procédés de fabrication des émulsions :

D'un point de vue pratique, on fabrique une émulsion en appliquant une énergie mécanique qui va permettre la déformation de l'interface jusqu'à la formation de gouttelettes qui vont être fragmentées en très petite gouttelettes. De nombreux appareillages (agitation mécanique) sont conçus pour fabriquer des émulsions, que ce soit pour une utilisation

Chapitre II

laboratoire ou dans l'industrie, les méthodes les plus utilisés sont le rotor-stator, les homogénéisateurs à haute pression et les ultrasons (Dinckinson, 1996).

II.9. Domaine d'applications des émulsions :

Les émulsions sont utilisées dans plusieurs domaines d'applications très variés tels que le domaine pharmaceutique et cosmétique, pétrochimique et agroalimentaire.

II.9.1. Pharmaceutique :

Les émulsions sont particulièrement utiles dans l'industrie pharmaceutique pour transporter et protéger des principes actifs. Les actifs pharmaceutiques encapsulés dans ces émulsions peuvent être délivrés par voie orale, topique, mais aussi parentérale, en tant qu'adjuvant dans des vaccins (Protat., 2016).

II.9.2. Cosmétique :

Les émulsions sont utilisées pour formuler des produits cosmétiques depuis l'antiquité, elles permettent en effet d'obtenir une large gamme de textures et d'améliorer la sensorialité des produits. Pour les crèmes hydratantes par exemple, les émulsions multiples E/H/E évitent la sensation de gras sur la peau tout en conservant les propriétés hydratantes des émulsions inverses (Protat., 2016).

II.9.3. Pétrochimique :

Les émulsions sont très étudiées pour la récupération assistée du pétrole. En effet, l'injection sous haute pression d'une solution aqueuse contenant un émulsifiant permet de récupérer l'huile bloquée dans les porosités de la roche sous forme d'une émulsion directe. (Protat., 2016).

II.9.4. Agroalimentaire :

L'émulsion alimentaire désigne un groupe d'aliments très répons dans les secteurs alimentaires. De nombreux aliments se présente sous forme d'émulsions simples ou foisonnées, notamment le lait et ses dérivés (crème, beurre, yaourt, fromages, etc.), ovoproduits (la mayonnaise (H/E), crème anglaise), Assaisonnement (sauces froides tels que les vinaigrettes (E/H)) (Renard.,2003).

II.9.4.1 mayonnaise :

Les normes d'identité, aux États-Unis, pour la mayonnaise définissent le produit comme une émulsion semi-solide faite de jaune d'œuf, d'huile végétale comestible et d'acide

Chapitre II

acétique ou citrique. Elle peut également contenir des huiles, du sel, des épices, des édulcorants naturels et divers ingrédients aromatisants naturels. La teneur en huile ne doit pas être inférieure à 65% en poids, et le produit doit contenir au moins 2,5% d'acide acétique en poids. L'acide citrique sous forme de jus de citron ou de lime peut remplacer l'acide acétique à un niveau minimum de 2,5%. Le jaune d'œuf peut être sous forme liquide, congelée et / ou séchée. Cet ingrédient fournit des propriétés émulsifiantes et donne à la mayonnaise une couleur jaune pâle, qui ne doit pas être intensifiée par un autre ingrédient. Les sauces à salade sont également des émulsions huile-danseau, mais la concentration d'huile est seulement d'environ 30-45% par rapport à 65-82% en mayonnaise (**Yang et Lail., 2003**).

II.9.4.2. Les vinaigrettes :

Les vinaigrettes sont des produits liquides ou semi-liquides utilisés pour aromatiser, hydrater et enrichir les salades, en outre, elles peuvent être utilisées comme tartinades pour sandwichs ou comme ingrédients dans une variété de recettes froides et chaudes. La FDA (Food and Drug Administration) définit les sauces à salade comme des aliments émulsifiés préparés à partir de :

-Huiles végétales (toutes).

-Agents acidifiants (vinaigre, citron).

-Ingrédients contenant du jaune d'œuf.

-Pâte féculente (préparée à partir d'un amidon alimentaire, d'amidon modifié, de farine de tapioca, de farine de blé et / ou de farine de seigle additionnée d'eau)

-Ingrédients facultatifs : sel, édulcorants glucidiques nutritifs, tout épice ou arôme naturel, sauf s'il confère une couleur jaune, stabilisants et épaississants, jusqu'à 25% de substitution des acidifiants par l'acide citrique et / ou acétique (**Moustafa., 1995**).

Chapitre II

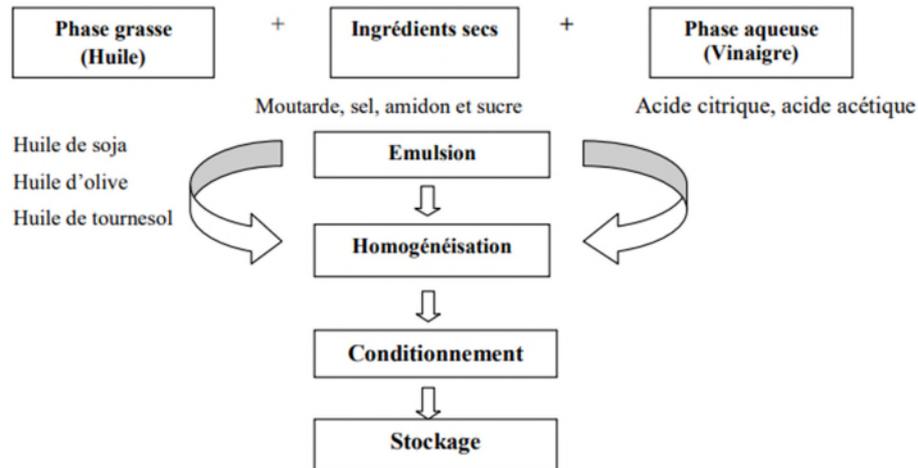


Figure II.10 : schéma de fabrication de la vinaigrette (Ayouaz et Benmamas.,2017)

II.10. Plans d'expériences :

II.10.1. Définition :

Un plan d'expériences n'est pas une série d'essais au hasard ni sélectionné par la seule intuition, mais une stratégie optimale permettant de prédire avec le maximum de précision une réponse à partir d'un nombre minimal d'essais en utilisant un modèle postulé (Fadil et al., 2015). La méthodologie des plans d'expérience convenablement organisée conduira fréquemment à une analyse et une interprétation statistique relativement simple des résultats. L'utilisation des plans d'expériences dans des systèmes simples ou complexes ayant des fonctions d'étude de type :

$$Y = f(X_i) \quad (II.2)$$

Avec :

Y : réponse du système

X_i : facteurs ou variables d'entrée du système, elles peuvent être continues ou discrètes, qualitatives ou quantitatives (Rabier., 2007).

II.10.2. Intérêt :

Il consiste à faire varier simultanément des niveaux d'un ou plusieurs facteurs qui sont les variables, discrètes ou continues, à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en

Chapitre II

déTECTANT les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse (Faucher.,2006).

L'objectif principale peut être résumé par la devise : « obtenir un maximum d'information avec un minimum d'expériences » (Tinsson., 2010).

II.10.3. Elaboration mathématique (Oughelis.,2017) :

Les méthodes statiques expérimentales sont généralement utilisées pour prédire des processus quelconques qui ne peuvent être décrits par des modèles théoriques fondés sur des lois physiques. Le processus est alors considéré comme une boîte noire.

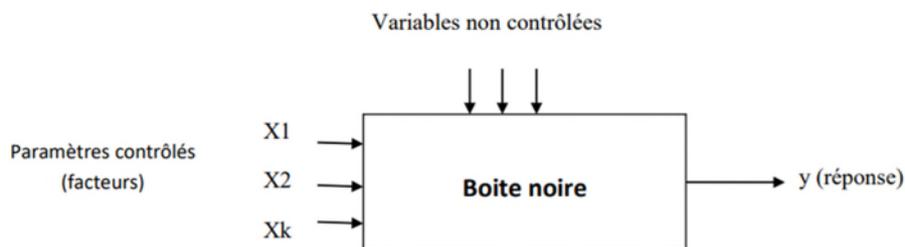


Figure II.11 : répartition d'un processus

Les variables indépendantes X_1, X_2, \dots, X_K à l'entrée sont appelées « facteurs ». La ou les variables de sortie Y sont appelées « réponses ».

La modélisation permet de décrire les variations de Y caractérisant les résultats d'une expérience en fonction des variables d'entrées X_1, X_2, \dots, X_K modifiées au cours des essais suivant un plan d'expérience.

$$Y = F(X_1, X_2, \dots, X_K) \quad (II.3)$$

Les modèles empiriques, classiquement utilisés, sont des modèles polynomiaux de degré généralement inférieur ou égal à 2.

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^K \beta_j X_j + \sum_{\substack{U=1 \\ U \neq j}}^K \beta_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^K \beta_{jj} X_j^2 + e \quad (II.4)$$

Sous forme matricielle, l'équation peut s'écrire comme suite :

$$Y = BX + e \quad (II.5)$$

Dans le processus réel, il existe toujours des variables qui ne peuvent être ni contrôlées ni commandées ; chaque mesure est alors entachée d'une erreur expérimentale par conséquent les réponses présentent un caractère aléatoire.

Chapitre II

L'emploi des principes d'analyse de la régression permet de trouver, lors du traitement des données expérimentales, les coefficients b_0, b_j, b_{uj} ; b_{jj} dits coefficients de régression. Ils constituent des approximations des coefficients théoriques $\beta_0, \beta_j, \beta_{uj}, \beta_{jj}$.

L'équation de régression obtenue s'écrira donc :

$$\hat{Y} = b_0 + \sum_{j=1}^K b_j X_j + \sum_{\substack{U=1 \\ U \neq j}}^K b_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^K b_{jj} X_j^2 + \dots \quad (II.6)$$

b_0 : Terme constant de l'équation de régression. B_j : Effets linéaires.

B_{uj} : Effets d'interaction. B_{jj} : Effets quadratiques.

La valeur expérimentale y_i diffère de la valeur \hat{y}_i prédite par le modèle d'une quantité e_i appelée résidu d'essai i observé lors de la réalisation de l' i ème expérience :

$$e_i = Y_i - \hat{Y}_i \quad (II.7)$$

Nous faisons l'hypothèse de la régression multilinéaire qui pour tout i , les résidus e_i sont des variables aléatoires de moyenne nulle, $E(e_i) = 0$ et de même variance σ^2 . Nous supposons aussi que pour toute expérience i , les valeurs des indépendantes d'entrées x_i sont connues sans erreur.

Les coefficients estimés minimisent la somme des carrés des résidus (hypothèse des moindres carrés).

$$L = \sum_1^N e_i^2 \quad \text{Minimum} \quad (II.8)$$

N est l'étendue de l'échantillon (ou nombre d'essais)

Pour comparer les effets des variables réelles Z_j sur la réponse, nous utilisons généralement des variables centrées réduites (ou variable codées) x_j .

La formule qui permet le passage d'un système de coordonnées Z_1, Z_2, \dots, Z_k au nouveau système X_1, X_2, \dots, X_k dont les variables sont sans dimension s'écrit :

$$X_j = \frac{Z_j - Z_j^0}{\Delta Z_j} \quad \text{avec } j = 1, 2, \dots, K \quad (II.9)$$

On a pour tout facteurs :

$$Z_j = \frac{Z_j^{\max} - Z_j^{\min}}{2} \quad \text{et} \quad \Delta Z_j = \frac{Z_j^{\max} - Z_j^{\min}}{2\alpha}$$

Z_j^0 est la coordonnée du point central dans l'intervalle $[-1, +1]$ exprimée en unité réelle de mesure.

Chapitre II

ΔZ_j est l'intervalle de variation suivant l'axe des Z_j .

II.10.3.1. Calcul des coefficients du modèle

Les coefficients du modèle, lors du traitement des résultats expérimentaux, sont déterminés par la régression multilinéaire basée sur le critère des moindres carrés ou la somme des carrés des résidus doit être minimale.

L'expression matricielle de la colonne B des coefficients des modèles polynomiaux s'écrit :

$$B = (X^t X)^{-1} X^t Y \quad (II.10)$$

X^t est la transposée de la matrice de calcul X est la matrice colonne des réponses

Cette relation est fondamentale, nous verrons que sa forme est simplifiée dans le cas où la matrice x est orthogonale ; si N est le nombre d'essais, B s'écrit alors :

$$B = \frac{1}{N} X^t Y \quad (II.11)$$

II.10.3.2. Test de signification des coefficients du modèle :

La signification des coefficients est étudiée par le test de Student. Les valeurs des t_j sont calculées par l'expression suivante :

$$T_j = \frac{b_j}{s_{b_j}} \quad (II.12)$$

B_j est le $j^{\text{ème}}$ coefficient de l'équation de régression ; S_{b_j} est son écart quadratique moyen. La variance de reproductibilité s_{rep}^2 des essais est indispensable pour estimer la signification des coefficients.

$$S_{rep}^2 = \frac{\sum_1^{N_0} (Y_{0i} - \bar{Y}_0)^2}{(N_0 - 1)} \quad (II.13)$$

Y_{0i} et N_0 représentent respectivement la réponse et le nombre de points au centre du domaine.

La variance des coefficients du modèle est donnée par :

$$S_{b_j}^2 = C_{jj} \cdot S_{rep}^2 \quad (II.14)$$

C_{jj} sont les éléments diagonaux de la matrice variance – covariance $(X^t X)^{-1}$.

Si la matrice X est diagonale $C_{jj} = 1/N$

N est le nombre d'essais

Si la valeur t_j est supérieure à la valeur $t_{\alpha}(f)$ lue sur la table de student correspondant au risque $\alpha = 5\%$ pour un nombre de degré de liberté $f = N_0 - 1$ alors le coefficient b_j est

Chapitre II

significativement différent de zéro. Les coefficients non significatifs sont exclus de l'équation du modèle.

II.10.3.3. Test de validité du modèle

Le test de Fisher consiste à comparer la variance résiduelle S^2_{res} à la variance expérimentale estimée par la variance de reproductibilité S^2_{rep}

$$F = \frac{S^2_{res}}{S^2_{rep}} \quad (II.15)$$

$$S^2_{res} = \frac{\sum ei}{N-P} = \frac{Et E}{N-P} \quad (II.16)$$

E : est la matrice des résidus ;

E^t : est la matrice transposée de E ;

P : nombre de coefficients significatifs de l'équation du modèle.

Pour vérifier si la différence est significative, il faut d'abord lire dans la table de Fisher la valeur $F\alpha$ (f_1, f_2) correspondant au risque $\alpha=5\%$ pour $f_1 = N-p$ et $f_2 = N_0-1$ degrés de liberté.

Si F calculé est inférieure à $F\alpha$ (f_1, f_2) cela signifie que la différence entre les deux variances est petite c'est-à-dire les variances sont homogènes : la variance résiduelle est aussi aléatoire et le modèle est sans biais.

II.10.3.4. Test de signification globale de la régression

On teste la signification de la régression en comparant cette fois-ci la variance due à la régression à la variance résiduelle :

$$F = \frac{S^2_{reg}}{S^2_{res}} \quad (II.17)$$

Avec
$$F = \frac{B' X_t Y}{Et E} * \frac{N-P}{P} \quad (II.18)$$

$B' X_t Y = \hat{Y}^t \hat{Y}$ représente le manque d'ajustement dû au modèle

B' est la matrice des réponses estimées par le modèle.

On lit sur la table de Fisher la valeur $F\alpha$ (f_1, f_2) correspondant au risque $\alpha=5\%$ pour $f_1 = p$ et $f_2 = N - p$ degrés de liberté.

Chapitre II

Si la valeur calculée de F est nettement supérieure à celle de la table, alors la régression est significative : c'est-à-dire que les variables retenues pour la modélisation ont dans leur ensemble un effet significatif sur la réponse.

II.10.3.5. Coefficient de corrélation R^2

Pour apprécier la précision de l'équation de régression, on calcule le coefficient de détermination R^2 qui représente le taux de corrélation entre les réponses calculées par la régression et celles mesurées

$$R^2 = \frac{\sum_t \hat{Y}_t \bar{Y} - \bar{Y}_t \bar{Y}}{\sum_t \hat{Y}_t \bar{Y} - \bar{Y}_t \bar{Y}} \quad (II.19)$$

\bar{Y} est la moyenne des réponses mesurées.

\hat{Y} est la moyenne des réponses prédites.

II.10.4. Estimation des coefficients du modèle : (Diaz-Rosado, 2013)

Le modèle mathématique associé au plan choisi, est un modèle linéaire du premier degré avec interactions :

$$\hat{y} = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{12} X_1 X_2$$

Où: \hat{y} est la réponse estimée x_1, x_2 sont les variables centrées réduites correspondant respectivement aux variables réelles Z_1, Z_2 .

b_0 : est la valeur moyenne de la réponse ;

b_1, b_2 : sont les effets linéaires ;

b_{12} : sont les effets d'interaction doubles ;

Les coefficients de l'équation de régression b_j sont obtenus par le produit scalaire de la colonne y par les colonnes x_j correspondantes divisés par le nombre d'expériences N .



CHAPITRE III

Chapitre III

Matériels et méthodes

Ce chapitre est consacré à la présentation des matériaux et des techniques expérimentales utilisés au cours de ce travail. Il est divisé en trois parties.

III.1.Présentation du matériel :

III.1.1.Produit chimique :

Le **Tableau III.1** ci-dessous présente l'ensemble des réactifs utilisés lors des expériences :

Tableau III.1 : Réactifs utilisés.

Réactifs	Masse molaire g/mol	Pureté %	Formule chimique
Trichlorure D'aluminium Hexa hydraté	241,33	100	AlCl ₃ , 6 H ₂ O
Carbonate de sodium	105,99	99,8	Na ₂ CO ₃
Réactif de FolinCiocalte	/	/	/
Méthanol	32,04	99	CH ₄ O
Acide gallique	118,14	/	C ₇ H ₆ O ₅ , H ₂ O
Quercétine	302,24	95	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
DPPH	394,32	90	C ₁₈ H ₁₂ O ₆
Acide acétique	60,052	99.7%	CH ₃ COOH

✓ La phase aqueuse :

L'acide acétique :

L'acide acétique ou acide éthanoïque est un acide carboxylique de masse molaire de 60,052g/mol et de formule CH₃-COOH. IL représente le principal

Chapitre III

constituant du vinaigre après l'eau, puisqu'il lui donne son goût acide et son odeur piquante.

C'est un liquide combustible incolore à forte odeur de vinaigre, de masse volumique de l'ordre de 1,048 g·cm⁻³ à 20 °C et de pureté de 99.7%. IL peut dissoudre les composés polaires tels que les sels et les sucres. Il se mélange facilement avec de nombreux autres solvants polaires ou non polaires tels que l'eau.

Ces propriétés de solvant et sa bonne miscibilité justifient sa large utilisation dans l'industrie chimique.

✓ La phase huileuse :

Huile de tournesol :

L'huile végétale "Fleurial" utilisée pour la préparation des émulsions est (100% tournesol) commercialisée par société agro-industrie Cevital. Elle est pure, légère extraite de graines de tournesol Cette huile est composée de 98% de triesters d'acides gras, les 2% restants sont, entre autres, des stérols et du tocophérol. La composition en acides gras de l'huile de tournesol utilisée est représentée dans le **tableau III.2** (En % massique).

Tableau III.2 : Composition en acide gras

Composés	Pourcentage %
Acides gras saturés	10%
Acide gras mono insaturés	30%
Acide gras poly-insaturés	60%

✓ Matière végétale : Agent émulsifiant

Nous avons utilisé des écorces de citron récoltées de trois régions différentes (Amizour, El Kseur et Boufarik).

Après la récolte des citrons, rinçage, essuyage et épluchage, les écorces de citron sont coupées en petits morceaux à l'aide des ciseaux inoxydables puis séchées dans une étuve à 50°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante, une fois séchées elles sont broyées à l'aide d'un broyeur , ces poudres sont tamisées à l'aide d'un tamiseur contenant des

Chapitre III

mailles de 0,2 mm, puis sont conservées dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière et stockées dans un dessiccateur pour les protéger contre l'humidité.

III.1.2 Matériel

- Spatule et micro- spatule.
- Fioles jaugées de 25 ml, 50 ml, 200 ml, 250 ml.
- Becher de 50ml, 100ml et 200 ml.
- Entonnoir.
- Pipette.
- Papier filtre.
- Filtre seringue.
- Papier absorbant.
- Papier aluminium.
- Para film.
- Pissette d'eau distillée.
- Thermomètre.
- Verre de montre.
- Dessiccateur.
- Tubes à essai
- Tubes gradués.
- Micropipette

III.1.3 Appareillage et logiciels utilisés :

- ✓ Les logiciels utilisés sont : Excel 2019, MATLAB 2013 pour le calcul et le traitement des résultats.
- ✓ Les appareils utilisés sont :
 - Une plaque chauffante (kika, werke).
 - Conductimètre.
 - Une balance électronique (OHAUS).
 - Un spectrophotomètre UV-Visible (Thermo SCIENTIFIC, EVOLUTION 220).
 - Un broyeur (RETSCH ZM 200).
 - L'ultra-turrax (T25) marque IKA.
 - Granulomètre.

Chapitre III

III.2. Mode opératoire et méthodes d'analyse :

III.2.1. Préparation des solutions :

✓ **Solution de Folin Ciocalte diluée :**

Un volume de 1 ml de FC est additionné avec 9 ml d'eau distillé .stocké à l'abri de la lumière dans un réfrigérateur.

✓ **Solution de chlorure d'aluminium hexa hydraté $\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ (2%) :**

Une masse de 3,62g de chlorure d'aluminium est introduite dans une fiole de 100ml, sous la haute nous avons ajouté du méthanol, nous avons agite jusqu'à sa dissolution totale, puis nous avons ajouté du méthanol jusqu'au très de jauge.

✓ **Solution de carbonate de sodium (à 7,5 %) :**

Nous avons versé une masse de 7,5 g (pesée à l'aide d'une balance précise à 1 mg) de carbonate de sodium dans une fiole de 100 ml , puis nous avons ajouté une quantité d'eau distillée et nous avons agité jusqu'à sa dissolution totale, ensuite nous avons rempli jusqu'au trait de jauge.

✓ **Solution du DPPH :**

Une masse de 0.0028g est introduite dans une dans une fiole de 100ml, sous la haute nous avons ajouté du méthanol, nous avons agite jusqu'à sa dissolution totale, puis nous avons ajouté du méthanol jusqu'au très de jauge.

✓ **Solution de l'acide acétique (Phase aqueuse) :**

Dans une fiole de 1000ml nous avons versé un volume de 5.7 ml d'acide acétique dans l'eau distillée pour avoir une solution de 0.1M.

✓ **L'huile végétale « Fleurial » (phase huileuse) :**

L'huile utilisée est obtenue du marché local de la ville de Béjaia et n'a subi aucun traitement.

III.2.2. Extraction par infusion :

Nous avons procédé le même protocole pour les trois poudres d'écorces de citron.

Une masse de 1g de poudre est introduite dans un erlenmeyer, un volume de 50ml d'eau distillée chauffée à une température de 80°C est additionné, puis nous avons laissé

Chapitre III

fusionner pendant 20min à l'abri de la lumière, ensuite nous avons filtré la liqueur en utilisant un papier filtre et un filtre seringue de 0.45µm. une fois refroidie à température ambiante la liqueur est analysée par l'UV visible.

III.2.3. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes :

III.2.3.1. Dosage des polyphénols :

L'estimation quantitative des polyphénols est réalisée à l'acide du réactif folin-ciocalteau. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon., 1968**).

La coloration bleue produite, présente un maximum d'adsorption aux environs de 760 nm dans l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Goupy., 2001**).

✓ **Mode opératoire :**

1 ml d'extrait dilué (16 fois) est mélangé avec 1ml du réactif FC et 0.8 ml de Na_2CO_3 , Le mélange est agité et incubé à l'obscurité. Après 30 minutes de repos à température ambiante, l'absorbance est mesurée à l'aide du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm. La teneur en composés phénoliques est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en gramme équivalent d'acide gallique (g EAG) par 100 grammes de matière sèche (g EAG/100g MS) (**FKIH., (2007)**).

✓ **Préparation du blanc :**

1ml d'eau distillée a été mélangé avec 1ml du réactif FC + 0,8 ml Na_2CO_3 , agité et t'incubé à l'abri de la lumière.

✓ **Courbe d'étalonnage de l'acide gallique :**

Une courbe d'étalonnage à 760 nm est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations initiales.

✓ **Préparation de la solution mère d'acide gallique mono hydraté ($C_6H_6O_5, H_2O$) :**

Chapitre III

Une masse de 0.0236g d'acide gallique a été versé dans une fiole de 50ml, ensuite une quantité d'eau distillée a été ajoutée, la solution est agitée jusqu'à la dissolution totale d'acide gallique puis, nous avons rempli jusqu'au trait de jauge.

✓ Préparation des étalons :

A partir de la solution mère ($4 \cdot 10^{-4}$ g/ml) d'acide gallique nous avons préparées 11 étalons de différentes concentrations des fioles de 25ml. D'après la loi de dilution :

$$C_1V_1=C_2V_2$$

$$(4 \cdot 10^{-4}) \times V_1=25 \times C_2$$

$$C_2 = (4 \times 10^{-4}) \times V_1/25$$

Tableau III.3 : concentration des étalons pour l'acide gallique.

[C] 10^{-2} (mg /ml)	0,05	0,16	0,32	0,4	0,48	0,64	0,72	0,88	1,28
V (ml)	0,03	0,1	0,2	0,25	0,3	0,4	0,45	0,55	0,8

1,6	2,08	2,4	2,8	3,2	4	4,8
1,25	1,3	1,5	1,75	2	2,5	3

✓ Dosage des étalons :

Nous avons procédé au dosage de ses étalons en suivant le même protocole de dosage précédemment, nous avons établi la courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols en mesurant les absorbances des différents étalons dosés à la longueur d'onde 760 nm.

✓ Calcul de la teneur en polyphénols :

Les extraits sont préparés en ajoutant 1g de la matière sèche à 50 ml d'eau distillée, donc une concentration de :

$$[MS]=\frac{1g \text{ Ms}}{50 \text{ ml}} = 0,02 \text{ g MS /ml eau}$$

Après la lecture de l'absorbance à 760 nm, la concentration PT est calculée en mg équivalent AG/ml à partir de l'équation de la droite d'étalonnage obtenue.

Chapitre III

$$[PT] = X \text{ (mg EAG/ ml)}$$

La teneur en polyphénols est exprimée en mg équivalent d'acide gallique g de matière sèche

$$\frac{[PT]}{[MS]} = \frac{X}{0.02} = 50 X \text{ (mg EAG/ g MS)}$$

La teneur en polyphénols est exprimée en g équivalent d'acide gallique par 100 g de matière sèche :

$$\frac{[PT]}{[MS]} = \left[\frac{X}{0,02} \right] \times 0,1 = 5 X \text{ (g EAG/100g Ms)}.$$

III.2.3.2. Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (FKIH., (2007)).

Les flavonoïdes contiennent certain groupement structural susceptible de former par chélation des complexes jaunâtre avec les métaux notamment le fer et l'aluminium. L'ion métallique intervenant dans la formation de complexe sous forme de M^{++} s'uni a des oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électron (Nathalie Boizot).

✓ Mode opératoire :

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). La concentration en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

✓ Préparation du blanc :

2 ml d'eau distillée ont été mélangées avec 2 ml de la solution $AlCl_3$ (2% dans le méthanol).

✓ Courbe d'étalonnage :

Comme pour le dosage des polyphénols une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires, à la longueur d'onde de 430 nm, en utilisant la quercétine comme contrôle positif à différentes concentrations initiales.

✓ Préparation de la solution mère de la quercétine :

Une quantité de 0,025g de la quercétine est introduite dans un tube à essai, Puis 10 ml de méthanol sont ajoutés, la solution est agitée jusqu'à la dissolution complète de

Chapitre III

quercétine. 1ml de cette solution est prélevé puis versé dans une fiole de 50ml, ensuite nous avons complété avec du méthanol jusqu'au trait de jauge, une solution mère d'une concentration de 0.05mg/ml est obtenue.

✓ Préparation des étalons :

A partir de la solution mère (0,05mg/ml) de quercétine 8 étalons de différentes concentrations ont été préparés avec un volume totale $V_T = 5\text{ml}$ D'après la loi de dilution :

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$0.05 * V_1 = 5 * C_1$$

$$C_2 = 0,05. V_1 / 5$$

✓ Courbe d'étalonnage :

Comme pour le dosage des polyphénols, une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires, à la longueur d'onde de 430 nm, en utilisant la quercétine comme contrôle positif à différentes concentrations initiales.

Tableau III.4 : Concentration des étalons de quercétine.

C (mg/ml)	0,001	0,002	0,005	0,007	0,01	0,015	0,02	0,04
V_{SM} (ml)	0,1	0,2	0,5	0,7	1	1,5	2	4
V_{méthanol} (ml)	4,9	4,8	4,5	4,3	4	3,5	3	1

✓ Dosage des étalons :

Nous avons réalisé un dosage de ses étalons de la même façon que pour les flavonoïdes totaux pour tracer la courbe d'étalonnage.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par gde matière sèche :

$$\frac{[FT]}{[MS]} = \frac{X}{0,02} = 50 X \text{ (mg EQ / 100g MS)}$$

Chapitre III

La teneur en flavonoïdes est exprimée en g équivalent de quercétine par 100g de matière sèche.

$$\frac{[FT]}{[MS]} = \frac{X}{0,02} \times 0,1 = 5 X \text{ (mg EQ/ 100g MS)}$$

X : la concentration des étalons en Q dans les écorces de citron (mg EQ/ 100g MS)

III.2.3.3. Evaluation de l'activité antioxydante par piégeage de radical libre DPPH :

✓ Principe :

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense (**Chambers., et al., 1996**) Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances anti oxydantes (AH), qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune (**Groubert., 1984**). Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration découle, de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents (**Bancirova, 2009**).

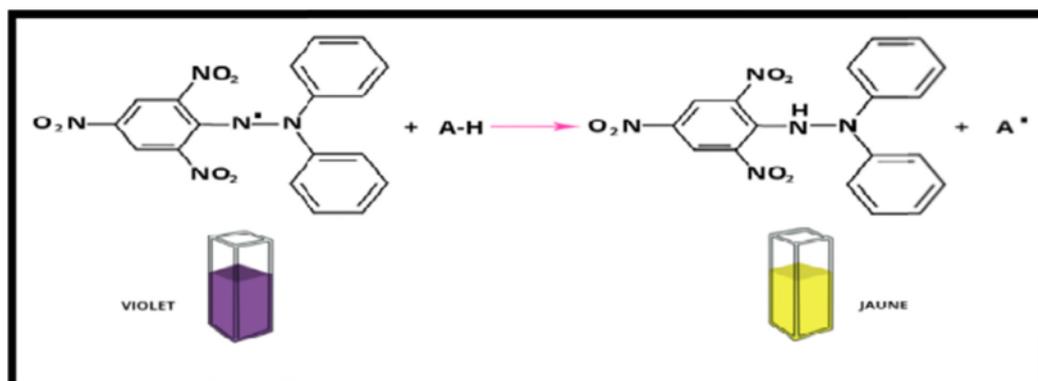


Figure III.1 : Réaction d'une structure phénolique avec le radical DPPH.

[AH] : PT,FT.

✓ Mode opératoire :

La détermination de l'activité antioxydant par le radical DPPH a été effectuée selon la méthode décrite par Burits et Bucar (**Mansouri, et al 2005**). Le protocole utilisé pour la détermination de pourcentage d'inhibition du radical DPPH est illustré dans la **figure III.2** :

Chapitre III

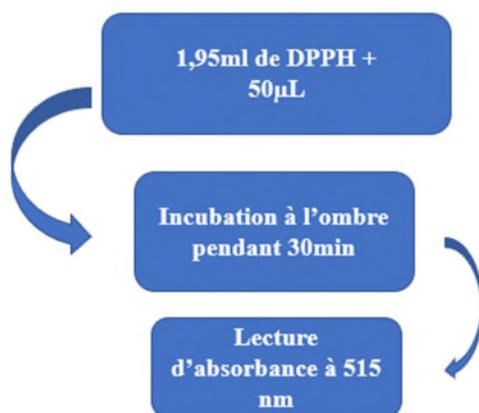


Figure III.2 : protocole de la détermination de l'activité antioxydante par le radical DPPH .

Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est calculé selon la formule suivante (Gadaw, 1997) :

$$I(\%) = \frac{[\text{Abs témoin} - \text{Abs échantillon}]}{\text{Abs témoin}} \times 100$$

Abs témoin : absorbance du témoin (DPPH)

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon préparée (50µl d'extrait +1,95 ml DPPH).

✓ Calcul des IC50 :

IC50 ou concentration inhibitrice de 50%, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Pastre, 2005).

III.2.4. Technique d'Analyse :

III.2.4.1. Analyse par spectrophotométrie UV-Visible :

Les analyses spectroscopiques UV-visible des extraits d'écorces de citron, des polyphénols totaux et des flavonoïdes de chaque échantillon ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre «EVOLUTION 220, Thermo SCIENTIFIC » couplé avec un microordinateur, en utilisant des cuves en quartz de trajet optique de 1cm pour le tracé des spectres d'absorbances des extraits dans l'intervalle [200nm-700nm], pour les absorbances des dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes sont mesurés à 760nm, et à 430nm respectivement.

Chapitre III

III.2.4.2. Analyse par spectrophotométrie d'émission à coulage inductif (ICP) :

Une masse de 1g de poudre d'écorce de citron est introduite dans un erlenmeyer, un volume de 50ml d'eau pure chauffée à une température de 80°C est additionné, puis nous avons laissé fusionner pendant 20min à l'abri de la lumière, ensuite nous avons filtré la liqueur en utilisant un papier filtre et un filtre seringue de 0.45µm. une fois refroidie à température ambiante la liqueur est analysée par l'ICP.

III.2.5. Préparation des émulsions :

Pour la préparation des émulsions, nous avons utilisé d'huile végétale de tournesol, une solution d'acide acétique à 0.1M et un émulsifiant (poudre d'écores de citron).

III.2.5.1. Préparation d'une émulsion simple E/H sans l'ajout d'un émulsifiant :

Dans un bécher de 40ml nous avons mélangé 4ml d'acide acétique et 8ml d'huile sous une agitation à des différentes vitesses (tr/min) et temps (min) qui varient selon la première matrice réalisée (Tableau III.5).

✓ Bottel test :

Nous avons versé les émulsions dans des tubes gradués afin de suivre leur stabilité, le volume séparé est noté au cours du temps.

Ce test consiste à observer le comportement d'émulsion au cours du temps et à mesurer le volume de la phase externe. Une quantité d'émulsion fraîchement formulée est introduite dans un tube gradué fermé, la séparation des deux phases est observée et est suivie au fil du temps.

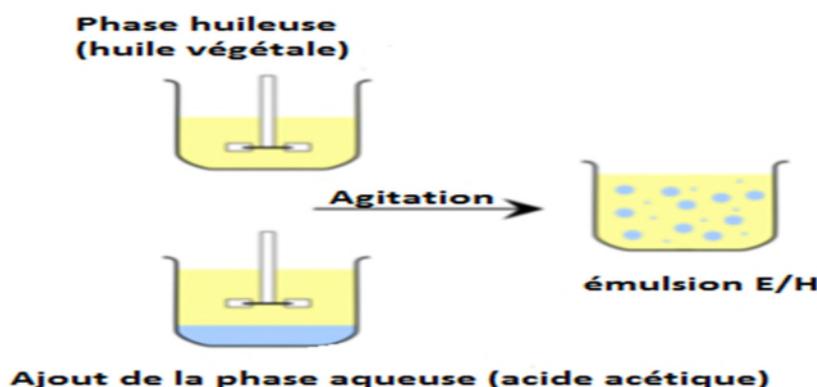


Figure III.3 : Préparation d'une émulsion simple (E/H).

Chapitre III

III.2.5.2.Préparation d'une émulsion simple E/H avec l'ajout d'un émulsifiant (poudre d'écorces de citron) :

III.2.5.2.1.Détermination du meilleur émulsifiant :

Dans un bécher de 40ml nous avons mélangé 4ml d'acide acétique, 8ml d'huile et 0.04g de chaque poudre d'écorces de citron (CB, CA, CE) à une vitesse d'agitation de (3400tr/min) et avec un temps de (10min).

✓ **Bottel test :**

Nous avons versé les émulsions dans des tubes gradués afin de suivre leur stabilité, le volume séparé est noté au cours du temps.

✓ **Analyse granulométrique :**

L'analyse granulométrique permet de déterminer la taille et la dispersion des gouttelettes. La technique principale utilisée est la granulométrie laser. En général, il est nécessaire de diluer l'échantillon afin d'obtenir un échantillon analysable.



Figure III.4 : Granulomètre.

Chapitre III

III.2.5.2. Préparation des émulsions à base du meilleur stabilisant:

Dans un bécher de 40ml nous avons préparé les émulsions en variant le rapport volumique des deux phases (VE/VH) et la quantité de poudre comme indiqué dans la deuxième matrice à une vitesse d'agitation 5000 tr/min et un temps $t=5$ min.

✓ Bottel test :

Nous avons versé les émulsions dans des tubes gradués afin de suivre leur stabilité, le volume séparé est noté au cours du temps.

III.2.6. Modélisation de la stabilité d'émulsion par les plans d'expériences :

Afin d'étudier les effets et les interactions des paramètres de procédés (vitesse et temps d'agitation) et paramètres de composition (rapport volumique et quantité de poudre) qui influent sur la stabilité d'une émulsion alimentaire (vinaigrette), nous avons utilisé la méthodologie des plans d'expériences. Le plan choisi pour réaliser les expériences est le plan composite centré. Si les tests de validation du modèle sont positifs, l'étude s'achève, sinon, le choix se base sur le plan factoriel complet à deux niveaux.

Dans cette étude les paramètres de composition et de procédé sont étudiés séparément de ce fait deux matrices sont obtenues. La réponse à modéliser est la stabilité d'une émulsion (Bottel test).

III.2.6.1. Paramètres de procédés :

✓ Intervalle des facteurs :

Tableau III.5 : Domaine d'étude de plan étudié.

Niveau	Z1= ω (tr/min)	Z2= t(min)
$\alpha = -1,41$	3400	2
-1	4366,5	3,1716
0	6700	6
1	9033,5	8,8284
$\alpha = 1,41$	10000	10

Chapitre III

✓ Matrice des expériences :

13 expériences variables ont été préparées selon la matrice des expériences présenté dans le **tableau III.6** :

Tableau III.6 : matrice des expériences.

		N° d'essai	Z1(tr/min)	Z2(min)	X1	X2
Plan composite	Plan factoriel	1	4366,5	3,1716	-1	-1
		2	9033,5	3,1716	1	-1
		3	4366,5	8,8284	-1	1
		4	9033,5	8,8284	1	1
	Points au centre	5	6700,0	6,0000	0	0
		6	6700,0	6,0000	0	0
		7	6700,0	6,0000	0	0
		8	6700,0	6,0000	0	0
		9	6700,0	6,0000	0	0
		10	3400	6,0000	$-\alpha$	0
		11	10000	6,0000	$+\alpha$	0
		12	6700,0	2,0000	0	$-\alpha$
		13	6700,0	10,0000	0	$+\alpha$

Chapitre III

III.2.6.2. Paramètres de composition :

- ✓ Intervalle des facteurs :

Tableau III.7 : Domaine d'étude de plan étudié.

Niveau	Z1=m (g)	Z2=rapport volumique (%)
$\alpha = -1,41$	0,04	0,25
-1	0,064	0,36
0	0,12	0,625
1	0,176	0,89
$\alpha = 1,41$	0,2	1

- ✓ Matrice des expériences :

13 expériences variables ont été préparées selon la matrice des expériences présenté dans le **tableau III.8**.

Tableau III.8 : matrice des expériences.

		N° d'essai	Z1(g)	Z2(ml)	X1	X2
Plans composite	Centrée	1	0,063431	0,35983	-1	-1
		2	0,176569	0,35983	1	-1
		3	0,063431	0,89017	-1	1
		4	0,176569	0,89017	1	1
		5	0,120000	0,62500	0	0
		6	0,120000	0,62500	0	0
		7	0,120000	0,62500	0	0
		8	0,120000	0,62500	0	0
		9	0,120000	0,62500	0	0
	10	0,040000	0,62500	- α	0	
	11	0,200000	0,62500	+ α	0	
	12	0,120000	0,25000	0	- α	
	13	0,120000	1,00000	0	+ α	



CHAPITRE IV

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. Evaluation des écorces de citron (Extraction par infusion) :

IV.1. 1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux :

IV.1.1.1. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalte. Les résultats obtenus sont exprimés en grammes équivalents d'acide gallique par 100 grammes de matière sèche (g EAG/100 g MS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, représentée dans la **figure IV.1**.

➤ Courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

Tableau VI.1 : les absorbances correspondantes aux étalons de l'acide gallique.

C (10⁻² mg/ml)	0,05	0,16	0,32	0,4	0,48	0,64	0,72	0,88	1,28	1,6
Abs	0,0243	0,04791	0,0899	0,11874	0,14459	0,19345	0,21623	0,26675	0,35847	0,43988
	2	2,08	2,4	2,8	3,2	4	4,8			
	0,57508	0,58416	0,69607	0,80676	0,88497	1,14869	1,33453			

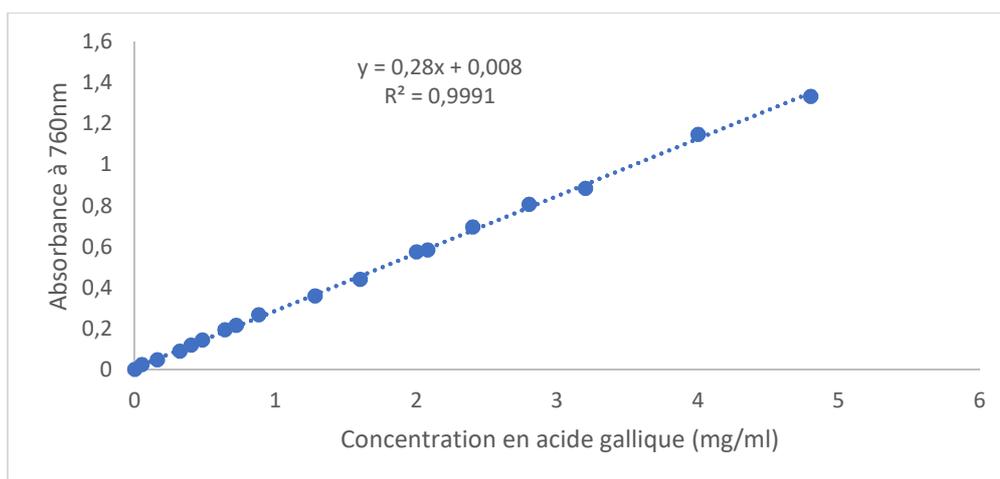


Figure IV.1 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Chapitre IV

IV.1.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Les résultats obtenus sont exprimés en grammes équivalents de quercétine par 100 grammes de matière sèche (g EQ/100 g MS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine, représentée dans **la figure IV.2**.

➤ Courbe d'étalonnage de la quercétine :

Tableau IV.2 : les absorbances correspondantes aux étalons de la quercétine.

C (mg/ml)	0,001	0,002	0,005	0,007	0,01	0,015	0,02	0,04
Abs	0,036	0,075	0,187	0,267	0,377	0,583	0,73	1,426

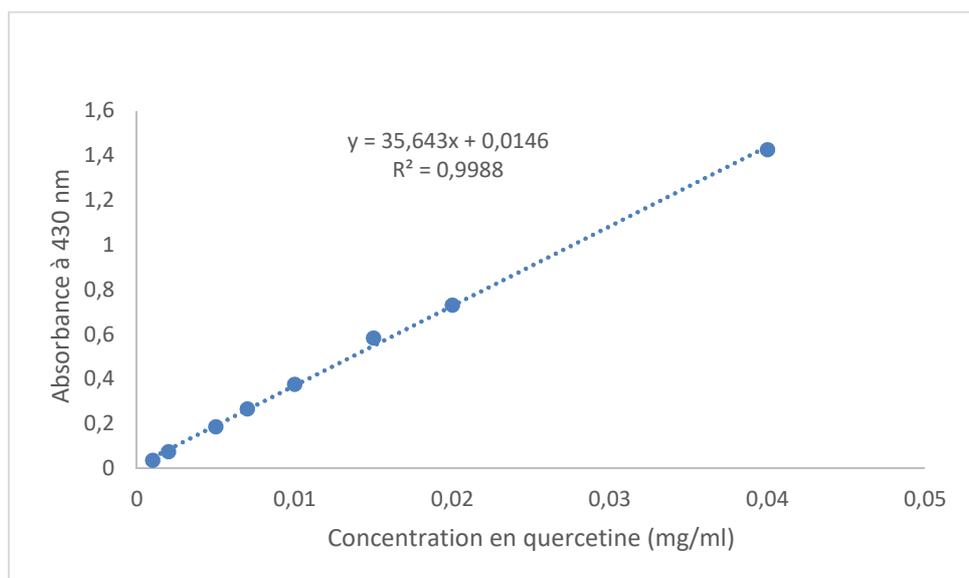


Figure IV.2: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

IV.1.2. Teneurs des PT et FT des extraits d'écorces de citron de trois régions :

➤ Teneurs des PT :

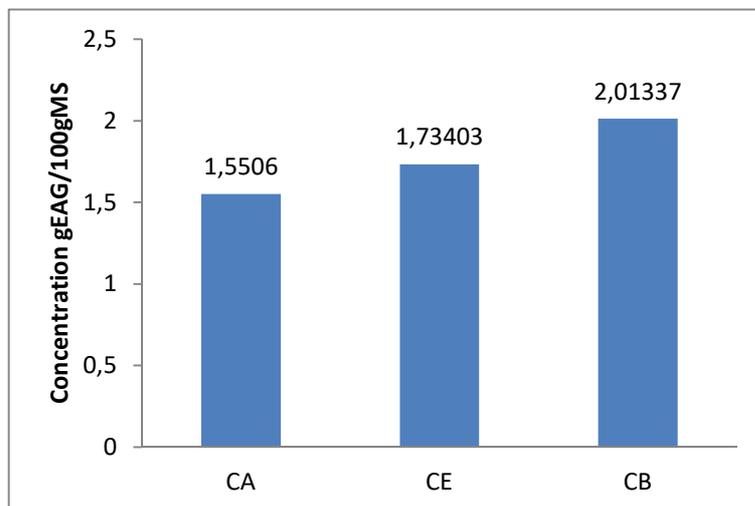


Figure IV.3 : Teneur des polyphénols totaux (g EAG /100 g MS).

En tenant compte des résultats rapportés dans la **figure IV.3**, les extraits d'écorces de citron des trois régions (Amizour, El Kseur, Boufarik) s'avèrent très riche en composés phénoliques ; avec des teneurs proches l'une de l'autre ; une concentration d'ordre de 2.013 g EAG /100g MS est atteinte pour l'échantillon de la région de Boufarik (CB) ,suivi par l'échantillon de la région de El Kseur (CE) avec une teneur de 1.734 g EAG /100 g MS, en dernier une concentration d'ordre de 1.55g EAG /100g MS est enregistrée pour l'échantillon de la région de Amizour (CA).

➤ Teneurs des FT :

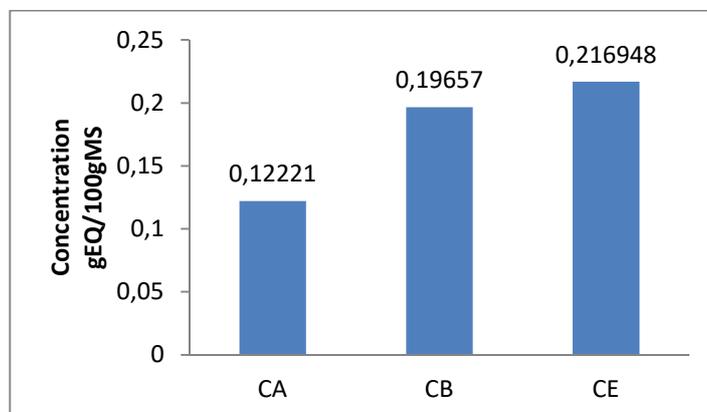


Figure IV.4 : Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/100 g MS).

Chapitre IV

Les résultats représentés dans la **figure IV.4**, montrent que les concentrations en flavonoïdes des extraits CE et CB sont proches 0.216 et 0.196 g EQ/100 g MS respectivement, et elles s'avèrent plus riche que la teneur en flavonoïdes de l'extrait CA d'une valeur de 0.122 g EQ/100gMS.

Les résultats de notre étude ont démontré que les extraits aqueux d'écorces de citron sont très riches en polyphénols et en flavonoïdes avec des concentrations variées, cette variation peut être due à plusieurs facteurs qui influencent sur la composition chimique de l'écorce tel que : la période de la récolte, l'origine botanique...

L'étude réalisée par **Dahmoune et al., (2013)** sur les extraits éthanoliques d'écorce de citron jaune de Béjaia (Sidi Aich) par la méthode d'extraction assisté par micro-onde et par ultrason, a montré que la teneur en polyphénols totaux est de 1.578 et de 1.522 g EAG/ 100g MS respectivement et le travail mené par **Casquete et al. (2015)** sur les extraits éthanoliques d'écorces de citron jaune de Porto (Portugal) a révélé que la teneur en composés phénoliques est d'ordre de 0.22267 g EAG/100g d'écorce fraîche.

Les différences observées entre les résultats des différents travaux et ceux obtenus dans la présente étude peuvent être liées selon **Balaustrandram et al. (2015)** et **Li et al (2006)** à la méthode d'extraction, le solvant d'extraction, le degré de maturation des fruits et les facteurs climatiques et environnementaux.

IV.1.3. Pouvoir anti- radicalaire DPPH :

L'activité antioxydante des trois extraits d'écorce de citron a été mesurée par la méthode spectrophotométrique en mesurant le pourcentage de neutralisation de radical DPPH. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance, accompagnée par un changement de couleur du violet vers le jaune dû aux substances anti-radicalaire.

La **figure IV.5 représente** les résultats du piégeage du radical libre DPPH qui sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations des extraits.

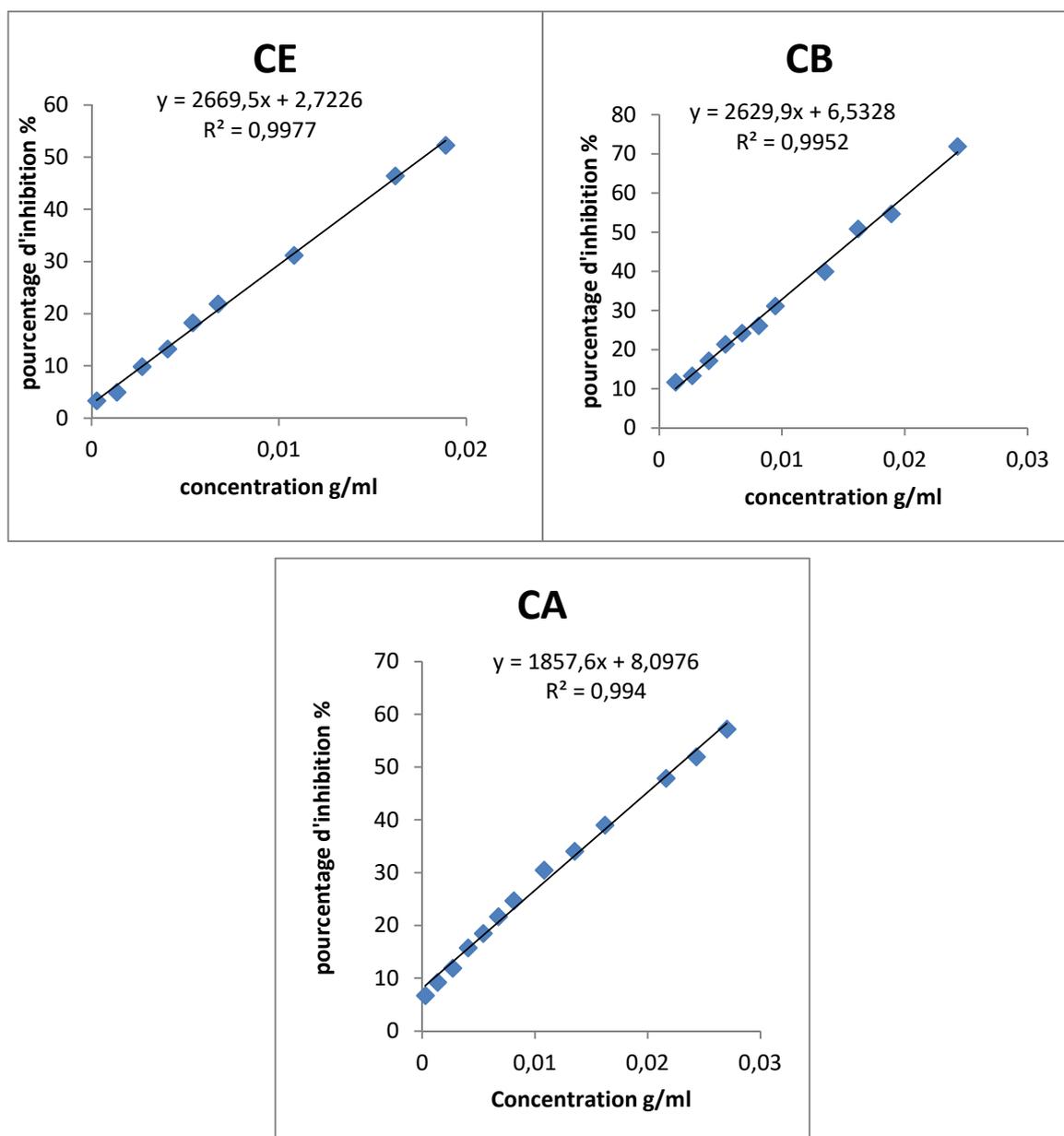


Figure IV.5 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extraits.

D'après les résultats obtenus dans les trois figures ci-dessus, nous avons enregistré une augmentation des pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations des extraits étudiés.

➤ **Détermination d'IC₅₀ :**

IC₅₀ est la concentration de PT qui neutralise (réduit) 50% des radicaux libres (DPPH). Il est inversement proportionnel à la capacité antioxydant d'un composé car il représente la quantité

Chapitre IV

d'antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % les concentrations de radicaux libres. Plus la valeur IC50 est faible, plus l'activité antioxydant du composé est élevée.

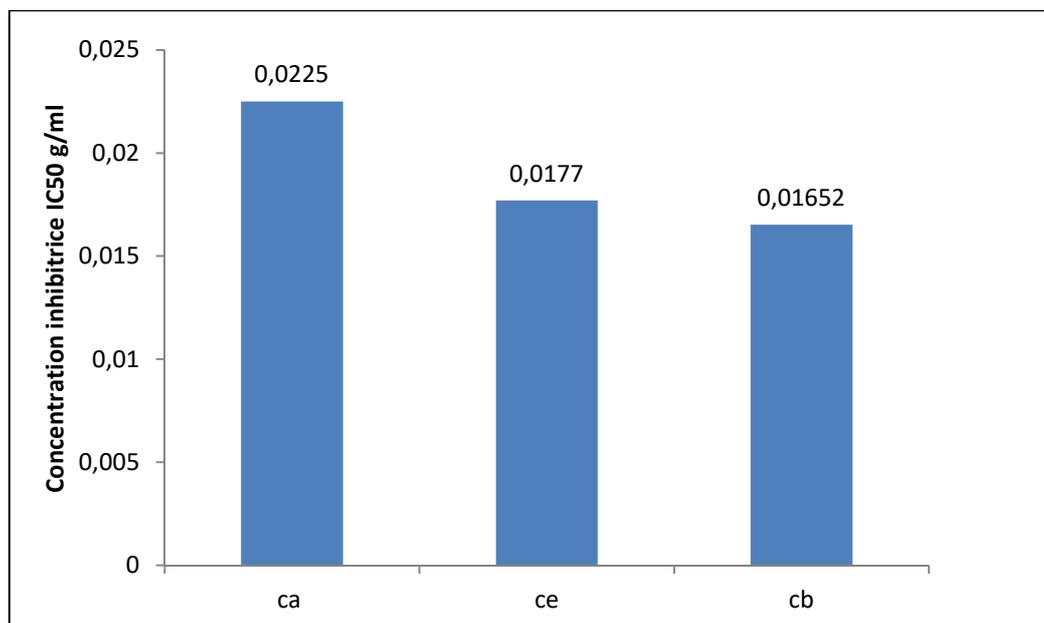


Figure IV.6: Valeurs des concentrations d'IC50

D'après l'histogramme ci-dessus, nous remarquons que l'extrait d'écorce de citron de la région de Boufarik (CB) et la région d'El Kseur (CE) se révèle actif avec des concentrations inhibitrices proches (IC50) d'ordre de 0,0165 g/ml et 0,0177 g/ml respectivement, et pour l'extrait d'écorce de citron de la région d'Amizour (CA) on a enregistré une concentration d'ordre de 0,0225g/ml.

D'après les résultats obtenus, la variation de l'activité antioxydante des différents extraits peut s'expliquer par leurs différentes teneurs en polyphénols, notamment les propriétés de ces composés. Les polyphénols semblent être des donneurs d'hydrogène efficaces pour le radical DPPH en raison de leur chimie structurale idéale.

Selon (**Snigh et al, 2018**) Les polyphénols sont des composés bioactifs qui agissent comme antioxydants primaires ou piègeurs de radicaux libres.

D'après (**Bouba, 2009**), les métabolites secondaires en particulier les polyphénols sont connus par leur effet antioxydant en neutralisant les radicaux libres. Ces composés sont dotés d'activité antioxydante en libérant un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle ou bien par leurs propriétés chélatrices des ions métalliques Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel.

Chapitre IV

IV.I.4. Analyse par spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif (ICP) :

Les résultats de l'identification et quantification des différents métaux présents dans les écorces de citron par analyse ICP, sont représentés dans le **tableau IV.3**.

D'après le **tableau IV.3** ci-dessous, le magnésium (Mg) est présent avec une teneur de 215.68 µg métal/g MS dans l'échantillon CB, tandis qu'il est absent dans les deux autres échantillons CE et CA, l'échantillon CE est plus riche en Barium (Ba) avec une valeur enregistrée à 213.94 µg métal/g MS suivi par les valeurs : 131.05 et 97.86 µg métal/g MS pour le CA et le CB respectivement.

Les teneurs en zinc (Zn) des trois écorces sont les suivantes : (CE : 92.26 > CA : 48.94 > CB : 34.51 µg métal/g MS), pour le métal Sr les résultats obtenus sont : (16.46 dans le CB , 13.91 dans le CE et 8.42 dans le CA).

Tableau IV.3 : Teneur des extraits en métaux (µg métal/g matière sèche)

Extraits µg metal/g Ms	CA	CB	CE
Cu	3,63008172	1,29524369	1,47122555
Fe	3,47870717	5,84208484	2,2427511
Mn	1,00023768	1,29005416	1,12145099
Ni	0,38453268	1,68949538	0,33786103
As	0,77322559	0,69346899	0,69040371
Ba	131,054089	97,8691889	213,949837
Bi	0,41211896	0,35559812	0,30641785
In	1,11175358	1,06067853	0,98616181
Li	0,13907103	0,26407155	0,68242265
Mg	/	215,684736	/
Sr	8,42836708	13,915076	16,4696621

Chapitre IV

Zn	48,9472451	34,5102361	92,2657899
Ti	0,38775732	0,48586764	0,44133181

L'analyse par ICP a indiqué la richesse de la plupart de nos poudres d'écorces de citron en métaux avec des teneurs élevées pour : Mg, Ba, Zn, Sr, Fe, Cu et des faibles teneurs marquées pour : Mn, Ni, As

L'étude de (Somayeh et al, (2012) sur la composition minérale des écorces de citron jaune d'Iran a montré leurs richesses en cuivre (Cu), fer (Fe), magnésium (Mg), zinc (Zn), sodium (Na), potassium (K), phosphore (P) et calcium (Ca), une autre étude menée par (Gonzalez et al, 2010) a prouvé la présence de : potassium, magnésium, phosphore, cuivre, fer, manganèse, sélénium, sodium et zinc. Les différences entre les résultats de notre étude et ces travaux peuvent être liées à plusieurs facteurs mentionnés dans la partie précédente.

IV.2. Application des poudres d'écorces de citron dans une émulsion alimentaire (Vinaigrette) :

IV.2.1. Détermination du meilleur émulsifiant :

➤ Bottel test :

Ce test permet de déterminer visuellement la stabilité des émulsions préparées avec les trois poudres d'écorce de citron (CB, CE, CA) comme agents émulsifiants en suivant le déphasage des deux phases au fil du temps.

Tableau IV.4 : Les volumes de la phase aqueuse et huileuse séparées en (%) après 24 h du temps de repos. Phase interne : acide acétique (4 ml). Phase externe : huile végétale (8 ml).

Vitesse d'agitation= 3400 tr /min. Temps d'agitation= 10 min. Masse de poudre (0.04g)

Agent émulsifiant	CA	CE	CB
Volume de la phase aqueuse (%)	31.81	26.08	22.60
Volume de la phase huileuse (%)	68.19	73.92	77.4

Chapitre IV

➤ Analyse granulométrique :

Afin de confirmer le choix de l'agent stabilisant, nous avons effectué l'analyse granulométrique qui nous a permis d'obtenir la distribution des tailles de différentes émulsions étudiés.

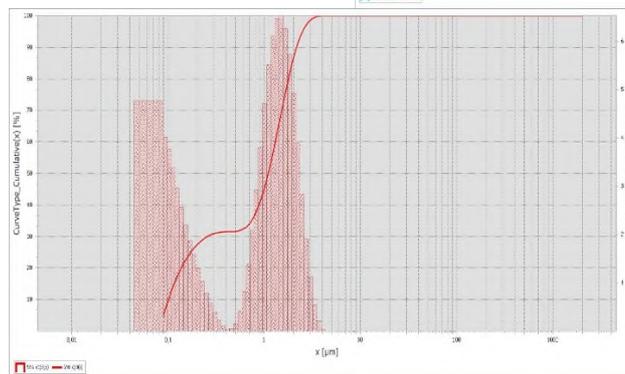
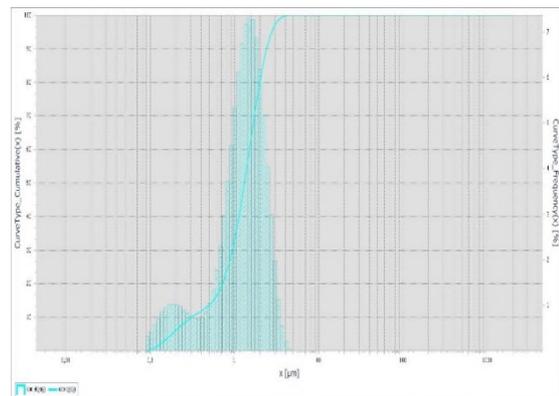
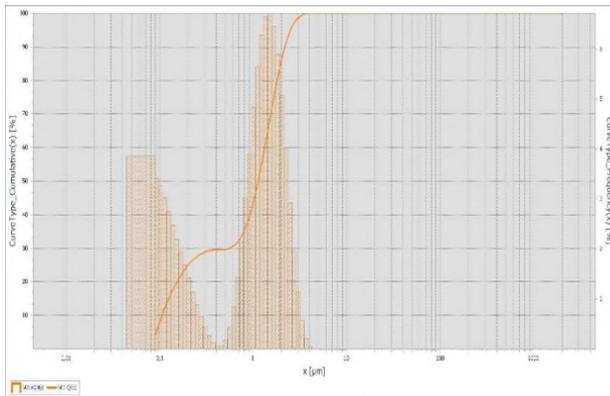
Les résultats représentés dans le **tableau IV.5** illustrent les différentes distributions de taille pour les émulsions obtenues avec les 3 poudres d'écorces.

Tableau IV.5 : Distribution de tailles des gouttelettes pour les différentes poudres.

Pourcentage des gouttelettes poudres	10%	50%	90%
	Diamètres (µm)		
CA	0,310	1,311	2,404
CB	0,101	1,103	2,159
CE	0,106	1,130	2,173

(CE)

(CA)



(CB)

Figure IV.7 : Distribution des tailles de gouttelettes des émulsions à base des émulsifiants (CE), (CA), (CB).

Chapitre IV

D'après les résultats de Bottel test représenté dans le **tableau IV.4** et les résultats de l'analyse granulométrique représenté dans le **tableau IV.5** et **la figure IV.7**, la poudre d'écorce de citron de la région de Boufarik (CB) est le meilleur stabilisant (émulsifiant) avec une distribution de taille de gouttelettes minimales ; et une séparation minimale des deux phases. De ce fait le reste de notre étude est basé sur cet échantillon de plus ce dernier s'est avéré le plus riche en antioxydants (polyphénols).

IV.2.2. Modélisation de la stabilité d'une émulsion alimentaire par les plans d'expériences :

IV.2.2.1. Elaboration du modèle du premier degré :

L'objectif de cette partie est de déterminer les paramètres de procédés et de composition optimale et leur effet sur la stabilité d'une émulsion alimentaire, de ce fait deux matrices sont réalisées (Paramètres de procédés Z1 : Vitesse, Z2 : Temps), (Paramètres de composition Z1 : Masse de poudre, Z2 ; Rapport volumique). Le nombre N de combinaisons possibles des facteurs (k=2) sur deux niveaux est égal à $2^2 = 04$ et compléter avec 05 essais au centre du domaine.

➤ L'étude de l'effet des paramètres de procédés sur la stabilité d'une émulsion :

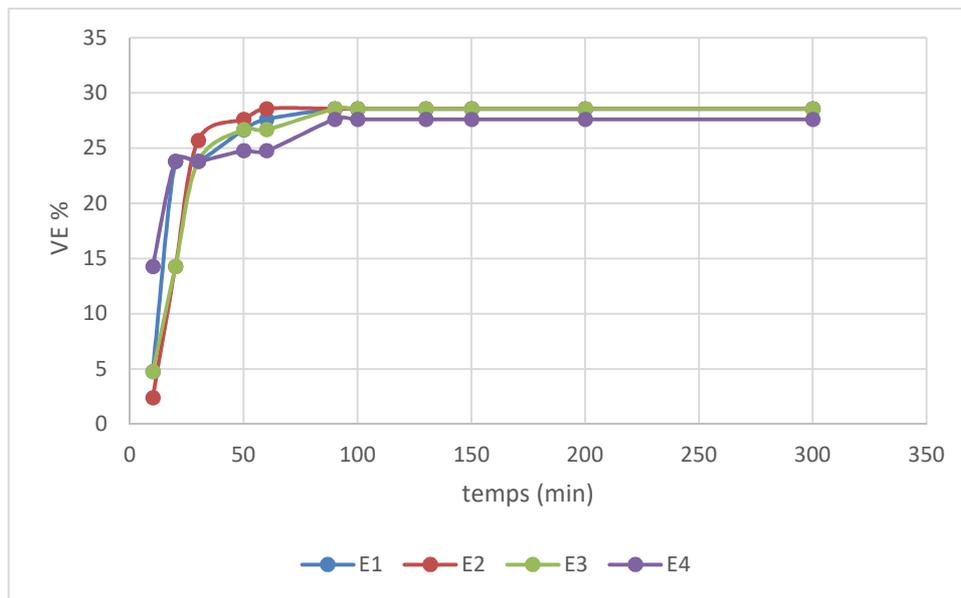
Tableau IV.6: Matrice des expériences du plan factoriel complet à deux niveaux 2^2 .

Essai n°	X ₁ (V)	X ₂ (t)	Y(Reponses) %
1	-	-	71.43
2	+	-	72.08
3	-	+	71.57
4	+	+	71.54

TableauIV.7 : Matrice des essais des points au centre.

Essai n°	X ₁	X ₂	Y ₀ (Reponses) %
	(V)	(t)	
5	0	0	73.24
6	0	0	75.47
7	0	0	72.56
8	0	0	70.50
9	0	0	71.50

L'étude de l'effet de la vitesse d'agitation et le temps d'agitation sur la stabilité des émulsions préparées avec 8ml l'huile végétale et 4ml l'acide acétique (0,1M), a été réalisée en faisant varier la vitesse d'agitation (tr/min) et le temps d'agitation (min) selon la matrice des essais. Les résultats (les réponses) en pourcentage du volume de la phase aqueuse séparé au court du temps sont représentés dans les **figures IV.8** et **figure IV.9**.



FigureIV.8 : Evolution du volume de la phase aqueuse des essais du plan factoriel (Y) séparé en fonction du temps de repos.

Chapitre IV

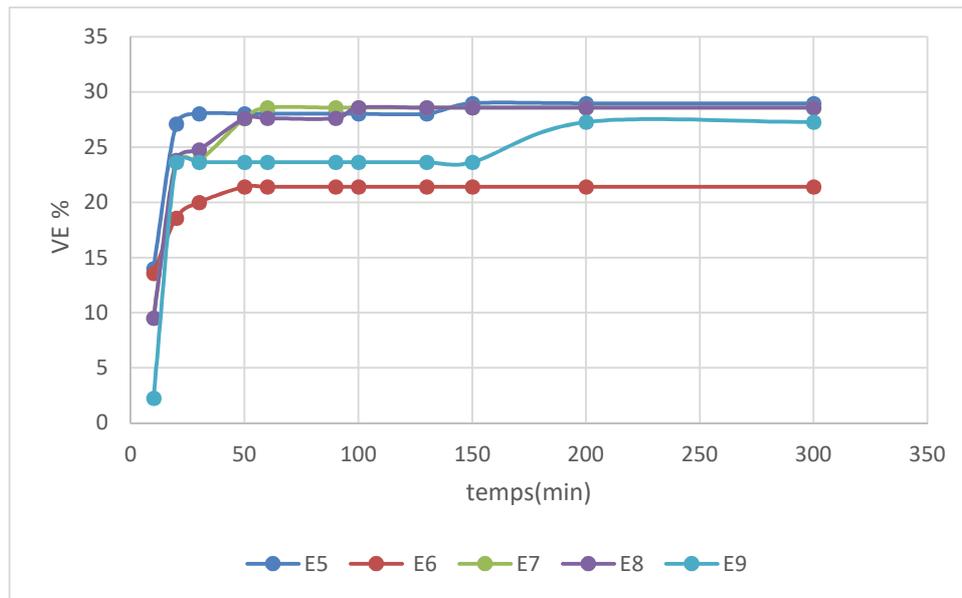


Figure IV.9: Evolution du volume de la phase aqueuse des essais des points au centre (Y0) séparé en fonction du temps de repos.

D'après la **figure IV.8** et la **figure IV.9** ci-dessus. Nous remarquons que le déphasage partiel commence dès les premières minutes du temps de repos, avec un pourcentage variant d'un tube à un autre, cela est dû à la variation des paramètres opératoires (la vitesse d'agitation et le temps), plus la vitesse augmente plus l'émulsion est bien agitée et homogénéisée donc prend un peu plus de temps à se déphaser : par exemple si on compare entre le deuxième et le quatrième essai du plan factoriel agités à une même vitesse d'agitation (9033,5 tr/min) et à un temps différent (3,17 ; 8,82 min) respectivement. Après 10 minutes de temps de repos des deux essais on remarque que le déphasage s'est produit dans le quatrième essai avec un pourcentage de la phase aqueuse d'une valeur de VE= 14,28%, et d'une valeur de 2,4% pour le deuxième essai.

Après 90 minutes de repos on remarque que les taux de déphasage des tubes ont atteint un pourcentage presque identique (28,57% et 27,62).

Et concernant les essais au centre (Y0) qui sont réalisés sous les mêmes conditions ($\epsilon=6700$ tr/min ; $t=6$ min), nous constatons que le déphasage commence dans les premières minutes avec des taux presque égaux et se stabilisent par la suite après 30 min.

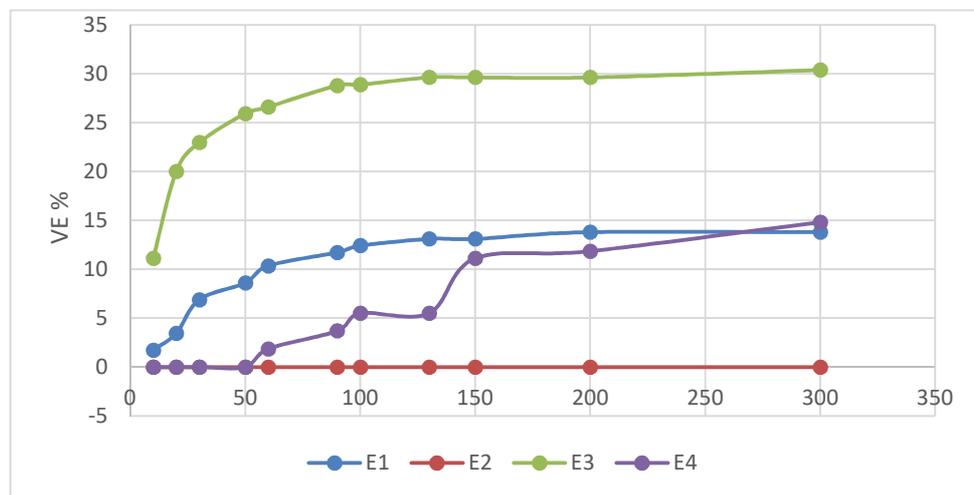
- ✚ Après modélisation, le modèle obtenu n'est pas valide, de ce fait les paramètres de procédés étudiés (vitesse et temps d'agitation n'ont pas d'effet sur la stabilité d'une émulsion alimentaire dans les intervalles étudiés. De plus l'immiscibilité de l'acide acétique (phase aqueuse) et de l'huile (phase organique) vient du fait que l'eau est

Chapitre IV

une molécule polaire, et l'huile apolaire. Par conséquent, les molécules d'huile ne peuvent pas être stabilisées avec des molécules d'eau car elles ne peuvent pas former de liaisons hydrogène avec ces dernières.

➤ L'étude de l'effet des paramètres de composition sur la stabilité d'une émulsion :

L'étude de l'effet de la quantité de poudre d'écorce de citron et le rapport volumique des deux phases (VE /VH) sur la stabilité des émulsions a été réalisée en variant ces deux paramètres selon la matrice des expériences obtenue à un temps d'agitation fixé à 5min et une vitesse d'agitation fixée à 5000 tr/min. Les résultats (les réponses) en pourcentage du volume de la phase aqueuse séparé au fil du temps sont représentés dans la **figure IV.10** et **figure IV.11**.



FigureIV.10 : Evolution du volume de la phase aqueuse des essais du plan factoriel (Y) séparé en fonction du temps de repos.

Chapitre IV

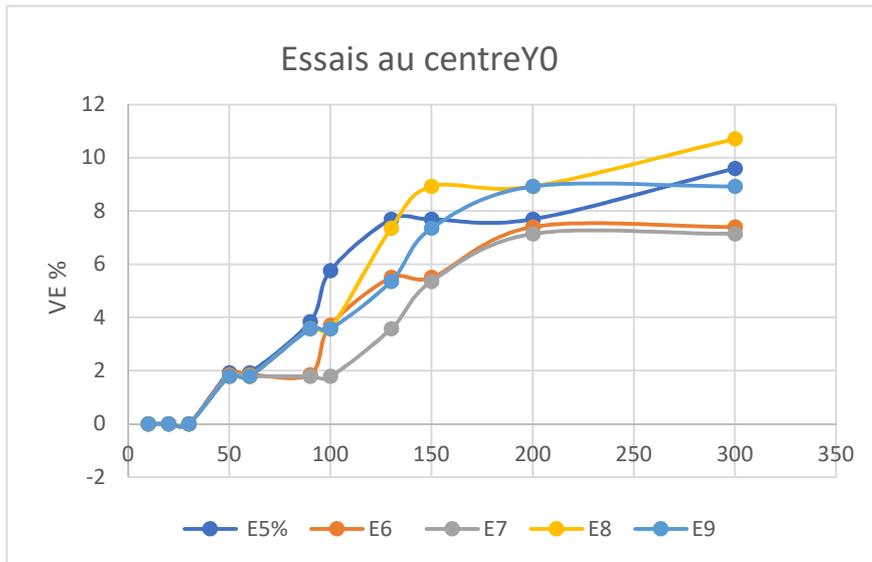


Figure IV.11 : Evolution du volume de la phase aqueuse des essais des points au centre (Y0) séparé en fonction du temps de repos.



Figure IV.12 : les tubes du bottel test de notre matrice d'essais après 21 jours.

D'après les résultats de la **figure IV.10** et la **figure IV.11** ci-dessus :

Nous constatons que les facteurs masse de poudre d'écorces et rapport volumique ont un effet sur la stabilité de l'émulsion. Par exemple si on compare entre le premier et le deuxième essai dont le rapport volumique est fixé à 0.359 et la masse à (0,063 ; 0,176 g) respectivement on constate que le pourcentage du volume d'évolution de la phase aqueuse VE est (13,79 ; 0%) respectivement. On déduit que la masse influe positivement sur la stabilité d'une émulsion.

Chapitre IV

Et pour le premier et le troisième essai dont la masse est fixée à 0,063g et le rapport volumique à (0,359 ; 0,89) respectivement, nous remarquons que les pourcentages d'évolution de la phase aqueuse VE% après 5h sont (13,79 ; 30,37%) respectivement, par conséquent on déduit que plus le rapport volumique diminue, plus on tend vers une émulsion stable.

Concernant les essais au centre(Y_0) qui sont réalisés sous les mêmes conditions ($\omega=5000$ tr/min ; $t=5$ min), nous constatons que le déphasage commence dès les 30 premières minutes avec des pourcentages presque égaux et se stabilisent par la suite.

Tableau IV.8: Matrice des expériences du plan factoriel complet à deux niveaux 2^2 .

Essai n°	X ₁ (m)	X ₂ (Rv)	Y(Réponse)%
1	-	-	87,75
2	+	-	100
3	-	+	69,08
4	+	+	88,15

Tableau IV.9: Matrice des essais des points au centre.

Essai n°	X ₁ (m)	X ₂ (Rv)	Y ₀ (Réponse)%
5	0	0	90,39
6	0	0	90,91
7	0	0	92,84
8	0	0	90,18
9	0	0	89,30

Chapitre IV

➤ Test de signification des coefficients :

Tableau IV.10: Valeurs et signification des coefficients du modèle.

coefficient	valeur	Ecart-type	T de student	T tabulé n-1=4 1-α =0.95	coefficient non significatifs
b0	88.7333	0.4393	201.9898	2.776	S
b1 → (m)	7.8300	0.6589	18.826		S
b2 → (Rv)	-7.6300	0.6589	11.5791		S
b12	1.7050	0.6589	2.5875		Ns

S : significatif ; NS : non significatif

Du point de vue statistique, le test de Student est requis pour estimer les coefficients du model.

➤ L'équation du modèle mathématique :

$$Y = 88,733 + 7,8300 * X_1 - 7,6300 * X_2$$

$$Y = 88,733 + 7,8300 * m - 7,6300 * Rv$$

Nous remarquons que :

- Le nombre de coefficients significatifs est égal à 3.
- Les deux paramètres étudiés ont un effet sur la réponse : Le rapport volumique (X_2) a un effet négatif sur la réponse ; La masse d'émulsifiant (X_1) influe positivement sur la réponse.
- L'effet interaction des deux paramètres est nul.

➤ Test de validité du modèle (recherche du biais) :

La validité du modèle est déterminée par le test Fisher, qui compare la variance résiduelle (S^2_{res}) à la variance de reproductibilité (S^2_{rep}).

Chapitre IV

Tableau IV.11: Analyses des variances (recherche de biais).

Variances	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré Moyen	F_1 (Fisher-Snedecor)	$F_{\text{tabulé}}$ $P=0,95$, $F_1=N-K$ $F_2= n$
Variance résiduelle	56.2091	6	9.3682	5.3938	6.16
Variance reproductible	6.9473	4	1.7368		

La valeur F_1 de Fisher (5.3938) est inférieure à la valeur tabulé ($F_{\text{tabulé}} = 6.16$), l'erreur d'ajustement entre le modèle réel et estimé est négligeable par rapport à l'erreur expérimentale, donc l'équation du modèle prédit est valide et correspondent bien aux données expérimentales.

➤ **Test de la signification globale de la régression :**

La signification globale de la régression est vérifiée par le test de Fisher (F_2), qui compare la variance de régression (S^2_{reg}) à la variance résiduelle (S^2_{res}).

Chapitre IV

Tableau IV.12: Analyse des variances (signification de la régression).

Variances	Somme descarrés	Degre de liberté	Carré Moyen	F₂ (Fisher-Snedecor)	F_{tabulé} P=0,95, f₁=k f₂=N-,
Variances Régression	7134.1	3	23780		
Variance résiduelle	56	6	9	2538	5

La régression est significative puisque le F₂ calculé est significativement plus grand que le F₂ tabulé ; les variables réservées à la modélisation ont un effet significatif sur cette étude (le model est validé à 95%).

Tableau IV.13: Calcul des résidus des modèles de 1^{er} degré.

N° Essai	Y Expérimental	Modèle linéaire	
		Y calculé	Ecart y_{exp} -y_{cal}
1	87,75	88,5333	-0,8927
2	100	104,1933	-4,1933
3	69,0800	104,1933	-6,0703
4	88,1500	88,7333	-0,8886
5	90,7240	88,7333	2,1942
6	90,7240	88,7333	2,1942
7	90,7240	88,7333	2,1942
8	90,7240	88,7333	2,1942
9	90,7240	88,7333	2,1942

Chapitre IV

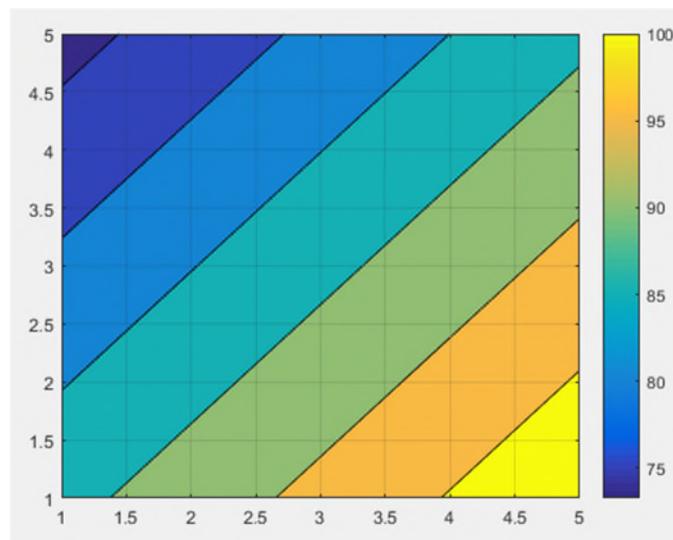
➤ Estimation des coefficients de détermination pour la réponse Bottel test :

Les coefficients de corrélation obtenus sont : $R^2=0.9992$ et $R^2_{\text{corrigé}} = 0.9990$.

Les résultats représentés dans le **tableau IV.13** permettent de juger de manière plus précise la qualité de l'ajustement réalisé, Les valeurs des écarts entre Y_{exp} (réponses mesurées) et Y_{cal} (réponses prédites par le modèle) sont négligeables. Elles confirment que l'ajustement est de bonne qualité, ce qui valide le modèle du plan d'expérience avec un coefficient de régression R^2 de 0,9992 pour la réponse Bottel test (Test de stabilité d'émulsion), ce qui signifie qu'uniquement $8 \cdot 10^{-4}$ ne sont pas expliqués par le modèle, De plus les valeurs du coefficient corrigés sont élevées ($R^2_{\text{corrigé}} = 0,9990$), ce qui confirme la haute signification du modèle.

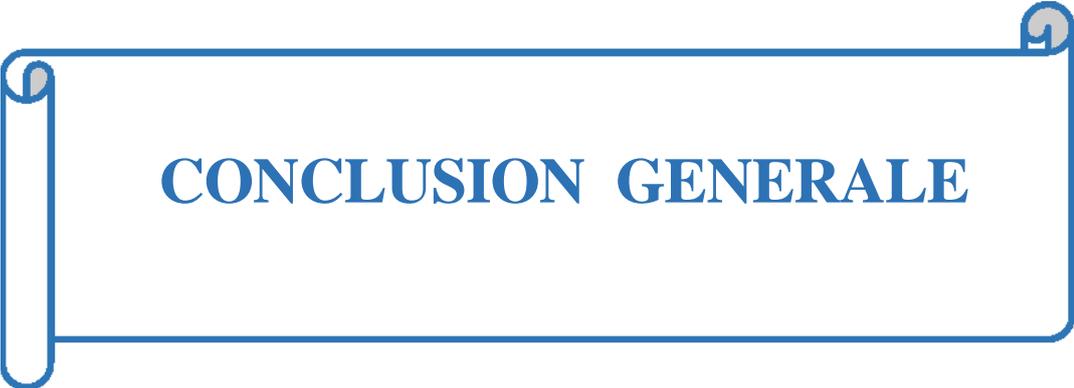
➤ Isoréponse des paramètres opératoires étudiés :

L'objectif de ce travail est d'obtenir les valeurs optimales des deux paramètres opératoires (la masse de poudre d'écorce et le rapport volumique VE /VH) qui permettent d'obtenir la formulation la plus stable (**l'émulsion présentant une meilleure stabilité**). La figure IV.12 est tracée à l'aide du logiciel MATLAB 7.0



FigureIV.12 : Isoréponse (X1, X2).

D'après la **figureIV.12**, Plus la masse de poudre augmente et le rapport volumique diminue plus la formulation tend vers la stabilité, nous avons obtenu une meilleure stabilité 100% avec une masse de 0.176 g de poudre d'écorce de citron et un rapport volumique (VE/VH) qui égale à 0.36, Cette formulation a présenté une stabilité à 100% pendant 20jours.



CONCLUSION GENERALE

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Ce travail de recherche s'est basé sur l'élaboration d'une sauce d'assaisonnement alimentaire (vinaigrette) à base d'écorce de citron jaune compte tenu de leur caractère émulsifiant et antioxydant.

Pour se faire l'évaluation des propriétés antioxydantes d'écores de citron a d'abord été effectuée sur trois variétés de citron issues des régions de Amizour, El Kseur, Boufarik.

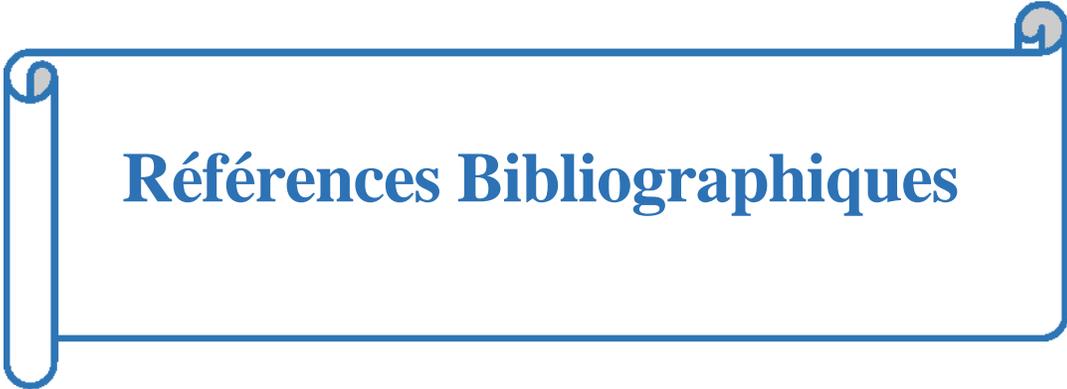
Les résultats obtenus ont montré que les trois extraits aqueux d'écorces de citron des différentes régions (Amizour, El Kseur, Boufarik) sont très riches en polyphénols (1,5506 ; 1,73403 ; 2,01337gEqAG/100gMs) et en flavonoïdes (0,12221 ; 0,19657 ; 0,216948 gEQ/100Ms) respectivement qui possèdent un bon effet antioxydant. La poudre d'écorce de citron de Boufarik s'est avérée la plus riche en ces composés et a montré une meilleure stabilité dans la préparation des émulsions, de ce fait le reste de l'étude s'est basé sur cet échantillon.

L'optimisation des paramètres opératoires pour la préparation d'une émulsion (vinaigrette) à savoir : la vitesse d'agitation, le temps d'agitation, la masse de poudre d'écorce de citron et le rapport volumique (VE/VH) a été par la suite, procédée.

La modélisation de la formulation a été effectuée par la méthode des plans d'expérience. Les résultats de la modélisation par le plan factoriel complet à deux niveaux pour l'optimisation des paramètres de procédés (vitesse et temps d'agitation) affirment que le modèle n'est pas significatif dans l'intervalle étudié. Contrairement aux résultats d'optimisation des paramètres de composition (masse de poudre et rapport volumique) qui affirment que le modèle est significatif avec un coefficient de corrélation de $R^2=99,92\%$.

L'étude montre que la production de la sauce vinaigrette à base d'écorce de citron est très influencée par les facteurs étudiés à savoir le rapport volumique et la quantité de poudre.

La meilleure formulation du point de vu stabilité (100%) est établie avec une quantité de poudre d'écorces de 0.176g et un rapport volumique (VE/VH) de 0.36. Cette stabilité est établie durant 20 jours.



Références Bibliographiques

Références

A

ALLOUCE, J. (2003), Développement de nouvelles méthodes pour l'élaboration d'émulsions multiples eau/huile/eau. Thèse de doctorat, institut national polytechnique de lorraine, France.

APROTOSOAIE, A. C. et al . (2010). The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill). *FARMACIA*, 58(1), pp. 46-54.

ARANTZAZU SANTAMARIA-ECHART ET AL. (2021) , Nouvelles tendances en matière d'émulsifiants naturels et de technologie d'émulsion pour l'industrie alimentaire

AYOUAZ S, BENMAMAS F. (2017), Etude de la viscosité de quelques produits de Cevital, mémoire master, université de Béjaïa.

B

BALWINDER, S et al., Food Reviews International. Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of citrus peel, 2019.

BAMPIDIS, VA et ROBINSON, (2006) PH Les sous-produits d'agrumes dans l'alimentation des ruminants : une revue. *Science et technologie de l'alimentation animale*, 2006, vol. 128, n° 3-4, p. 175-217.

BANCIROVA. M.(2009), Comparison of the antioxidant capacity and the antimicrobial activity of black and green tea. *Food Research International*, 43, (5),1379-1382.

BOUZEGGOUTA. N. (2014-2015). thèse « Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées ».

BICU, I MUSTATA, F. (2011). Cellulose extraction from orange peel using sulfite digestion reagents. *Bioresource Technol*, 102 (21), 10013-10019.

BLOKHINA et al (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, vol. 91, no 2, p. 179-194.

BOUBA. (2009), Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun : caractérisation physico chimique et fonctionnelle. Thèse de doctorat, ENSAI Ngaoundéré.

BOUGUERRA. A . (2012), Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* mill en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire.

Références

BOUKHOBZALALIA. (2015), Mémoire : L'effet des sels minéraux du sol sur l'écologie de *Parlatoria ziziphi* (Homoptera : Diaspididae) dans un verger d'oranger à Rouiba. Page 23.

BURITS M , BUCAR F. (2000), *Phytotherapy Research* 14 (323-328).

C

CANO A, MEDINA AND BERMEJO A. (2008), Bioactive Compounds in Different Citrus Varieties. Discrimination among Cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21(5) :377-381.

CASQUETE ET AL. (2015), evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels. *Innovative food science and emerging technologies*, 31, 37-44.

CARLOS DIAZ ROSADO.J (2013), thèse de doctorat, « Étude et développement de la spectroscopie d'émission optique sur plasma induit par laser pour la réalisation d'analyses de terrain : application à l'analyse en ligne de métaux dans les liquides », UNIVERSITÉ PARISSUD.

CHAMBERS C, K. EXAUDI-LARSEN ET AL. (1996), "Aqueous extraction of solubles from oranges: a kinetic study." *Food Chemistry* 57(4): 483-486.

CHIRA K , SUSH J.H , SANCIER C , TEISSEDRE L. (2008), Les polyphénols du raisin. *Journal of Phytothérapie*, 6: 78-82.

CIQUAL. (2017), ANSES, exceptées celles de l'équivalent Vitamine A qui correspond à la division de la teneur en Bêta-carotène par 6

CIQUAL et al. (2013). Élaboration et utilisation de la table de composition nutritionnelle du Ciqua-2012. *L'Information diététique*, (4), 39-49.

COMBO A. et al. (2011), Les oligosaccharides pectiques: production et applications possibles. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* ,15(1) : 153-164.

Références

CONTE.R, et al. (2007). Systèmes d'emballage actifs innovants pour prolonger la durée de conservation de la mozzarella. *Journal of dairy science*, 90(5), 2126-2131.

D

DAHMOUNE ET AL. (2013). valorisation of citrus limon residues for the recovery of antioxidants, avaluation and optimization of microwave and ultrasoud application to solvent extraction.

DESAULNIER MARGUERITE, DUBOST MIREILLE. (2003). Table de composition des aliments, Département de nutrition, Université de Montréal, Canada.

DICKINSON. E . (1996). Dickinson E, les colloides alimentaire, traduction courththaudon j.L et le meste M., masson, paris.

DONATIE. N. K . (2009). Enquête Eth onobotanique de six plantes médicinales malienne Extraction, identification d'alcaloïdes - Caractérisation, quantification de polyphénols: Etude de leur activité antioxydante. Thèse en cotutelle avec l'Université Paul Verlaine de Metz-UPVM(France), 188P.

E

ESPIRADE E.(2002). introduction à la transformation industrielle des fruits et légumes

EVANS D.F ET WENNERSTROM H.(1994), the colloidal domain : where physics, chemistry, biology and technology meet, VCH Publishers, new york, 1994.

F

FADIL. et al.(2015). Optimization of parameter influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by response surface methodology . *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (8), 2346-2357.

FAUCHER. J. (2006). Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue. Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse. 198p.

FERHAT. M,A, MEKLAT B Y, CHEMAT. (2010), Citrus d'Algérie : les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions. Ed. Office des publications universitaires, Alger. 157 p.

Références

FKIH.S.(2007).Etude de l'effet de l'irradiation ionisante sur certains polyphénols alimentaires et résidus pesticides.

G

GAMARRA F.M.C., et al. (2006). Influence on the quality of essential lemon (citrus aurantifolia) oil by distillation process. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 23, 147-151.

GATTUSO G, BARRECA D, LEUZZI, GARSTI

.(2007), Flavonoïde scom position of citrus juices. *Molecule*, review Dipartimento di Chimica Organica e Biologica, Università di Messina, Salita Sperone 31, I-98166 Messina, Italy ,12: 1641-1673.

GHEDIRA K. (2005).Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.

GOLLOUIN F , TONELLI N. (2013). De fruits et de graines comestibles du monde entier. Edition Brigitte Peyrot Poos, Paris, La voisier SAS.PP. 186-195.

GONZALEZ ET AL. (2009), *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* , Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health.

GOUPY J. (2001), Introduction aux plans d'expérience. 2 ème Edition Dunod, Paris.

GRATIEN.A (2008), thèse «spectroscopie ultra violet-visible et infrarouge de molécules clés atmosphériques ».

GROUBERT A. (1984), Techniques d'extraction végétale. Montpellier, pharmacie.

GRYSOLE J. (2005), La commercialisation des huiles essentielles in huiles essentielles : de la plante à la commercialisation-Manuel pratique : Chapitre 07. Corporation LASEVE (laboratoire d'analyse, et de séparation, des essences, végétales). Québec, pp. 139-162.

H

HADJ-SALEM.J(2009), Thèse « Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique », Institut national polytechnique de lorraine.

Références

I

IRBELO-ALONS C. (2011) , un peu d'histoire. Citron et autre agrumes. Maison d'édition Livre Christine (citron et autres agrumes).

J

JACQUEMEND C, ET BLONDEL L (1986), Contribution à l'étude des porte-greffes des agrumes. Le Poncirustrifoliata. Page 41.

JOUANNY-BOUYER D. (2016), stabilisation d'émulsions d'intérêt pharmaceutique par des protéines et des polysaccharides : exemples de β -lactoglobuline, de la gomme arabique et de gomme xanthane. Thèse de doctorat, université paris-sud 11, France.

K

KABAILI M. (2019), Valorisation des déchets verts et de biomasses en traitement des eaux.

KALLA A .(2012) , THESE doctorat « Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien: Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum et Traganum nudatum »

KIM W.C,et al. (2004), Optimization of narirutin extraction during washing step of the pectin production from citrus peels. Journal of Food Engineering, 63, 191-197.

L

LAURINE .C.et al. (2017). LES ÉMULSIONS ALIMENTAIRES ET COSMÉTIQUES.

LEGRAND J. (2013), émulsion alimentaire et foisonnement. Édition Lavoisier.

LIONEL FLESINSKI (2011), thèse ÉTUDE DE LA STABILITÉ DES ÉMULSIONS ET DE LA RHÉOLOGIE INTERFACIALE DES SYSTÈMES PÉTROLE BRUT/EAU : INFLUENCE DES ASPHALTÈNES ET DES ACIDES NAPHTÉNIQUES a L'UNIVERSITÉ DE PAU ET DES PAYSDEL'ADOUR).

Références

M

MADI A.(2009-2019) , mémoire de magister « caractérisation et comparaison du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques », université mentouri Constantine, 2009-2019.

MANSOURI A , et al. (2005). Phenolic profile antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (Phoenix dactylifera). Food Chemistry p411– 420.

MARIEL C ET LOPEZ H (2020). Food Reviews International. Food Vegetable and Fruit Waste Used in Meat Products.

MC-CLEMENTS D.J.(1999), Food emulsion: principales. practice, and techniques, CRC press, Londres.

MC-CLEMENTS D.J. (2016), Food émulsions principales, practices and techniques third édition.

M’HIRI N, et al. (2014), Extraction methods of citrus peel phenolic compounds, Food Reviews International, 30 : 4, 265-290.

MOUSTAFA .A. (1995), in practical handbook of soybean processing and utilization..

N

NATHALIE BOIZOT, JEAN-PAUL. (2006), Charpentier, Méthode rapide d’évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d’un arbre forestier.79 p.

O

OUGHELIS-HAMMACHE FADILA. (2017), Docteur en sciences «Matériaux membranaires en cyclodextrines pour le transport sélectif de composés organique cibles», Université A. M Bejaia.

P

PASTRE.J. (2005), Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques.

Références

PATSALOU, ET AL. (2017), Development of a citrus peel-based biorefinery strategy for the production of succinic acid. *Journal of Cleaner Production*, vol. 166, p.

PIERAT, N. (2010), Préparations d'émulsions par inversion de phase induite par agitation. Thèse de doctorat, université Henri Poincaré - Nancy 1, France.

PINHEIRO. R. et al. (2008), Optimization of extraction of highest pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 99: 5561–5566.

POIROT R. (2007), thèse doctorat « méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale », Institut National Polytechnique de Toulouse.

PROTAT, M. (2016), Formation d'émulsions multiples stimulables en une seule étape d'émulsification : effet du sel et évolution vers des architectures biocompatibles. Thèse de doctorat.

R

RABIER F. (2007), Modélisation par la méthode des plans d'expériences du comportement dynamique d'un module IGBT utilisé en traction ferroviaire. Thèse de Doctorat en Génie Mécanique. Ecole doctorale matériaux – structure – mécanique, 181.

RENARD A.C. (2003), « les desserts laitiers ultra-frais non fermentés », aromes ingrédients et additifs n°45, p. 22-28, université Pierre et Marie Curie, France.

REZZOUG S.A , et al.(2007), Etude de la disponibilité de la pectine extraite à partir d'écorces d'oranges suite à un prétraitement thermomécanique. In 11ème Congrès de la Société Française de Génie des Procédés-SFGP ,(Vol. 96, pp. CD-ROM).

RIBEREAU.P-GAYO,P., (1968), Les tannins, les composés phénoliques des végétaux. Paris. EdDunod.173-201.

RIDEL, L. (2015), Émulsions de Pickering : approche théorique et applications : analyse physico-chimique des phénomènes interfaciaux : obtention d'émulsions de Pickering nanométriques de manière spontanée et d'émulsions foisonnées de Pickering. Thèse de doctorat, université Claude Bernard - Lyon I, France.

Références

ROBARDS K., PRENZLER D.P, TUCKE R.G., SWATSITANG P, GLOVER W.(1999), Phenolics compounds and their role in oxidative processes in fruits. Food Chemistry, 66 : 401-436.

ROBARDS,et al.(2008) , Composés phénoliques et leur rôle dans les processus oxydatifs des fruits. Chimie alimentaire, 1999, vol. 66, n° 4, p. 401-436.

ROUDOT AC .(2001), Rhéologie et analyse de texture des aliments. N°9004.Lassay-les-châteaux :P-127.

RYMOND.D et al. (1998).Les cinq merveilles naturelles éd : vivre en Harmonie.

S

SAHRAOULN, et al.(2011), Valorization of citrus by-products using Microwave Steam Distillation (MSD). Innovative Food Science Emerging Technologies. 12, 163-170.

SARATI, BEHZAD S et KEIKHOSRO K. (2018), resources, conservation et recycling. Citrus processing wastes: environmental impact, recent advances, and future perspectives in total valorization.

SNIGH.B(2018), Food Chemistry. Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate,

SOMAYEH.(2012), Chemical composition of lemon (citrus limon) and peels its considerations as animal food.

SULIEMAN. A. et al. (2013), Extraction of pectin from lemon and orange fruits peels and its utilization in jam making. International Journal of Food Science and Nutrition Engineering, 3(5), 81-84.

T

TALEB, Thèse (2013). « Apport de la spectroscopie vibrationnelle, infrarouge et Raman, appliquée au sérum pour le diagnostic du carcinome hépatocellulaire chez les patients atteints de cirrhose»

Références

TINSSON.W.(2010), Plans d'expériences constructions et analyses statistiques,Mathématiques et Applications 67,DOI 10.1007/978-3-642-11472-41,c_ Springer-Verlag Berlin Heidelberg .532p.

V

VIRBRL-ALONSO C, (2011) , Citron et autres agrumes. Ed. Groupe Eyrolles, 15 p.

VOWER.J, et al. Article « Etalonnage en transmission spectrale de filtres pour lecteur de micro- plaque Elisa, Division Optique, 29 Avenue Roger Hennequin 78197 Trappes Cedex, Laboratoire National de Métrologie et d'Essais (LNE).

W

WANPENG Xi1. (2017), caractérisation du profil phénolique et de la capacité antioxydante de d Blokhina O., Virolainen E., Fagerste d K.V. Antioxidants, Oxidative Dam age and Oxygen De privation Stress : a re vie w. Annals of Botany, 91 : 179-194.ifférentes parties de fruits de cultivars de citron (citrus limon burm).

WANG Xiaoyan,(2016). Propriétés émulsifiantes du chitosan et des complexes chitosan/gélatine, thèse à l'école polytechnique de Montréal.

WENDPAGNAGDE. N, RACHEL.P, (2005).Thèse doctorat, université de Bamako, p:37 -39.

Wicker L., et al, (2014), .Pectin as a bioactive polysaccharide extracting tailored function from less. Food Hydrocolloids, 1-9.

Y

YANG S.C, LAI L.S. (2003), Encyclopedia of food sciences and nutrition (Second Edition).

Optimisation par les plans d'expériences de la formulation d'une sauce alimentaire

Résumé

L'objectif de ce travail est l'élaboration et l'optimisation de la formulation d'une émulsion alimentaire de type Eau/Huile (vinaigrette) à base de poudre d'un sous-produit alimentaire, par la méthode des plans d'expériences. En premier lieu, l'activité antioxydante des extraits aqueux du sous-produit a été évaluée. Des émulsions ont été préparées en se basant sur un plan factoriel à deux niveaux qui nous a permis d'étudier les paramètres influant la stabilité de l'émulsion. Les résultats obtenus ont montré que d'un côté, les paramètres de procédés (temps, vitesse d'agitations) n'ont pas d'effet sur la stabilité de l'émulsion dans le domaine étudié et d'un autre, les paramètres de compositions (masse, rapport volumique) ont un effet significatif sur cette stabilité.

Nous sommes parvenus à formuler une émulsion totalement stable (100%) pendant 20 jours avec les conditions optimales suivantes : rapport volumique 0,359, masse 0,176 g, temps d'agitations 5 min, vitesse d'agitation 5000 tr/min.

Mots clés : Sous-produit, polyphénols, activité antioxydant, émulsion (E /H), stabilité,émulsifiant.

Abstract

The objective of this work is the development and optimization of the formulation of a food emulsion of the Water/Oil type (vinaigrette) based on lemon peel powder by the method of experimental plans. First, the antioxidant activity of aqueous extracts of lemon peel powder was evaluated. Emulsions were prepared using a two-level factorial design which allowed us to study the parameters influencing the stability of the emulsion. The results obtained showed that: the process parameters (time, stirring speed) have no effect on the stability of the emulsion in the field studied. Contrary to the composition parameters (mass, volume ratio) have an effect on this stability.

We recorded total stability (100%) for 20 days under the following conditions: volume ratio 0.359, mass 0.176 (g), stirring time 5 (min), stirring speed 5000 (rpm).

Key words: lemonpeels, polyphenols, antioxidantactivity, emulsion (E /H), stability, emulsifier.