

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des sciences alimentaires

**Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité
Alimentaire**



Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme

Réf :

Master

Thème :

**Elaboration d'un aliment fonctionnel à
la curcumine**

Présenté par :

AMOKRANE Rachida et OUMAKHLOUF Halim

Soutenu le : 02/07/2019

Devant le Jury composé de :

Mme BEDJOU.F Professeur

Présidente

Mme OUKIL.N MCA

Encadreur

Mme GUERFI .F MCB

Examinatrice

Melle BRAHMI.F MCA

Invitée

Année Universitaire : 2018/2019

*« L'amour ne disparaît jamais,
La mort n'est rien,
Je suis seulement passé dans la pièce à côté.
Je suis moi, vous êtes-vous.
Ce que nous étions les uns pour les autres
Nous le sommes toujours.
Donnez — moi le petit nom
Que vous m'avez toujours donné.
Parlez — moi comme vous l'avez toujours fait,
N'employez pas un ton différent.
Continuez à rire de ce qui nous faisait rire ensemble.
Priez, souriez, pensez à moi, priez pour moi.
Que mon nom soit prononcé la maison comme
il l'a toujours été.
La vie signifie ce qu'elle a toujours signifié.
Elle est ce qu'elle a toujours été. Le fil n'est pas coupé.
Pourquoi serai-je hors de votre pensée,
Simplement parce que je suis hors de votre vue ?
Je suis juste de l'autre cote du chemin.
Vous voyez, tout est bien. »*

Remerciements

Ce n'est pas parce que la tradition l'exige par habitude que cette page est présentée dans notre mémoire de fin de cycle, mais parce que les personnes à qui s'adressent mes remerciements les méritent vraiment.

Au début j'adresse par mes remerciements à Allah de m'avoir aidé à accomplir ce modeste travail. Un remerciement plus particulier, vif et unique, plein d'amour et de sincérité va droit à mon mari, sans sa compréhension et sa patience, ce travail n'aurait pas abouti

Un grand et chaleureux remerciement s'adresse à mes adorables et précieux enfants à qui je demande pardon, car j'ai pris beaucoup de leur temps et ils ont supporté beaucoup de moi, je prie Dieu de les mettre sur le chemin de la science et du savoir

Je ne risque pas d'oublier ma sœur Ghania, son mari Allaoua et sa fille Eliza, aussi mon frère Idir et ses 3 filles, surtout ma chérie, ma poupée et mon adorée Aicha

Mes sincères remerciements vont à mon encadreur Mme OUKIL d'avoir proposé ce thème, pour ses encouragements, sa compréhension et surtout pour la confiance qu'elle a mis en ma personne.

Ma gratitude, mes respects et ma grande estime à vous *Mme BEDJOU et Mme GUERFI* pour avoir accepté de rapporter et de juger notre travail et pour le temps que vous avez consacré à la lecture de ce document

Un remerciement très vif, chaleureux et particulier vont à *Melle BRAHMI et Mme GENDOUZ* pour leur gentillesse, leur simplicité, leur esprit scientifique et leur aide précieuse ;

Je tiens à adresser un remerciement distingué à Me FATMI, chef de département de génie des procédés de l'université de Bejaia pour son aide précieuse.

J'exprime mes vifs et sincères remerciements, à tous ceux qui ont participé de près ou de loin et qui n'ont pas hésité à me soutenir pour la réalisation de la partie expérimentale : *Mme Smail Lila, Mme Benyahia Saida, Mme Nigro Lila, Mme Aksas, Sonia, Saida de l'animalerie, sabrina, Melle Tabti Naima, Mme Kherbachi, Mme Djerada et ses collègues, Mme et Me Tamendjari, le laboratoire 3BS ,notamment Me Madani...*

Rachida

Remerciements

Je remercie en premier lieu ALLAH le tout puissant qui m'a éclairé le bon chemin et de m'avoir accordé la puissance, la volonté et la santé pour terminer ce travail.

Mes remerciements s'adressent en particulier à notre promotrice Madame OUKIL Naima, qui m'a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle a accordée, m'a permis de réaliser ce travail.

Je remercie l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail, notamment : Madame BEJDOU.F (Présidente) et Madame GHUERFI.f (Examinatrice) et Madame BRAHMI.F (invité)

Je remercie toutes les enseignants du département "sciences alimentaires" de l'université de Bejaia et tous qui m'ont Aidé de près ou loin pendant toutes mes années d'études.

Je profite aussi de cette occasion pour adresser mes remerciements à mes parents pour leurs sacrifices, et à tous les membres de la promotion 2018/2019 Master II Qualité des Produits et Sécurité Alimentaires de Université de Bejaia

Halim

Dédicaces

Je dédie ce travail en signe de respect, reconnaissance et de remerciement A:

❖ Mes chères parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

❖ Mon chère frère Fayçal et mes chères sœurs Nadjet et Nawel qui m'ont accompagnées durant tout mon parcours et ne m'ont jamais laissé tomber.

*❖ Mon beau-frère qu'a jamais cessé de m'encourager
Toute ma famille, qui porte le nom Oumakhlouf
Tous mes amis spécialement Nacer , Tayeb ,Idhir et Massi
que j'aime tant pour leurs amitié et confiance*

Halim

Sommaire

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Glossaire	
Introduction	1

Chapitre I Généralités

I.1 Histoire de <i>curcuma longa</i> L.....	3
I.1.1 Taxonomie et description botanique.....	3
I.1.2 Quelques espèces de <i>curcuma</i>	4
I.1.3 Valeur nutritionnelle de <i>curcuma longa</i> L.....	4
I.1.4 Utilisations du <i>curcuma longa</i> L.....	5
I.1.4.1 Utilisation alimentaire.....	5
I.1.4.2 Utilisation médicinale	5
I.1.4.3 Utilisation cosmétique	6
I.2 Les curcuminoïdes	6
I.2.1 Généralités	6
I.2.2 Propriétés physicochimiques de la curcumine.....	8
I.2.3 Activités biologiques et mécanisme d'action de la curcumine.....	8
I.2.3.1 Propriétés antioxydantes	8
I.2.3.2 Propriétés anti inflammatoires	10
I.2.3.3 Propriétés anticancéreuse.....	10
I.2.3.4 Propriétés antimicrobiennes.....	10
I.2.4 Le potentiel antioxydant	11
I.2.4.1 Les radicaux libres	11
I.2.4.2 Le stress oxydatif	11

Sommaire

I.2.4.3 Les antioxydants	11
I.2.4.4 Cibles des radicaux libres	12

Chapitre II La microencapsulation

II.1 La microencapsulation.....	13
II.1.1 utilité de la microencapsulation.....	13
II.1.2 Définition.....	13
II.1.3 Classification des microcapsules	13
II.1.4 Intérêts et matériaux utilisés dans la microencapsulation	14
II.1.5 La microencapsulation en industrie agroalimentaire.....	15
II.1.6 Procédé de microencapsulation	16
II.2 Le phénomène de coacervation	17
II.2.1 La coacervation simple	17
II.2.2 la coacervation complexe	17
II.2.2.1 Définition.....	17
II.2.2.2 Formation et propriétés du coacervat	18
II.2.2.3 Paramètres influençant la formation des coacervats.....	19
II.2.2.4 Les caractéristiques du coacervat	20
II.2.2.5 Procédé de microencapsulation par coacervation complexe	21
II.2.2.6 Avantages du procédé d'encapsulation par coacervation complexe	22
II.2.2.7 Les matières premières utilisées dans notre travail	22
II.3 La libération contrôlée.....	23

Chapitre III Aliment fonctionnel et évaluation sensorielle

III.1 Aliment fonctionnel.....	25
III.1.1 Généralités sur les aliments fonctionnels	25
III.1.2 Définition	25

Sommaire

III.1.3 Les fonctions des aliments fonctionnels.....	26
III.1.4 Le concept d'aliment fonctionnel.....	26
III.2 Le Kéfir	27
III.2.1 Bénéfices santé du Kéfir	28
III.2.2 Effet probiotique du Kéfir	28
III.2.3 Facteurs intervenant dans le développement des grains de Kéfir	28
III.2.3.1 Le milieu	28
III.2.3.2 Les éléments nutritifs	29
III.2.3.3 Le besoin hydrique	29
III.2.3.4 Le pH.....	29
III.2.3.5 le besoin en oxygène	29
III.2.3.6 La température.....	29

Chapitre IV Matériels et méthodes

IV.1 Démarches expérimentale	30
IV.1.1 Problématique	30
IV.1.2 Matériels utilisés	30
IV.1.3 Méthodes expérimentales.....	30
IV.1.3.1 Caractéristiques physicochimiques de la poudre de curcuma.....	30
IV.1.3.2 Extraction par macération de la curcumine à partir du curcuma	32
IV.1.3.3 Séparation des composés de l'extrait de curcumine par CCM	33
IV.1.3.4 Evaluation de deux activités biologique de l'extrait de curcumine	35
IV.1.3.5 Technique de la microencapsulation par coacervation complexe.....	37
IV.1.3.6 Evaluation de la microencapsulation	39
IV.1.3.7 Simulation <i>in vitro</i> de la dissolution des microcapsules	40
IV.1.3.8 Formulation d'une boisson fermentée au kéfir de lait et incorporation de	

Sommaire

la PCURE	40
IV.1.3.9 Analyse microbiologique de la boisson fermentée	41
IV.1.3.10 Evaluation sensorielle de la boisson fermentée additionnée de curcumine	44

Chapitre V Résultats et discussion

V.1 Caractéristiques physicochimiques de la PCUMA	46
V.1.1 La teneur en eau	46
V.1.2 Le pH.....	46
V.1.3 L'acidité titrable	46
V.1.4 Teneur en cendres.....	47
V.1.5 taux de solides solubles	47
V.2 Rendement de l'extraction de la PCUR par macération.....	47
V.3 Séparation des composés de l'extrait de curcumine par CCM.....	47
V.4 Evaluation de deux activités biologiques de l'extrait de curcumine	48
V.4.1 L'activité antioxydante.....	48
V.4.2 L'activité antibactérienne	51
V.5 Evaluation de la microencapsulation de la poudre de curcumine	52
V.5.1 Test de solubilité des microcapsules vides.....	54
V.5.2 Evaluation par microscope optique	54
V.5.3 Evaluation du rendement de l'encapsulation et détermination de son efficacité .	55
V.6 Simulation <i>in vitro</i> de la dissolution des microcapsules de curcumine.....	56
V.7 Analyse microbiologique de la boisson fermentée au kéfir	57
V.8 Evaluation sensorielle.....	58
V.8.1 Caractérisation produit	58
V.8.2 Coefficient des modèles	59

Sommaire

V.8.3 Moyennes ajustées par produit	60
V.8.4 Cartographie externe de préférences (PREF)	61
V.8.5 Analyse en composantes principales(ACP)	61
V.8.6 Classification ascendante hiérarchique (CAH)	62
V.8.7 Cartographie de préférence (PREFMAP)	62
Conclusion.....	64
Références bibliographiques	65
Annexes	

Liste des figures

Figure 1 : Schéma et photographie de la plante <i>Curcuma longa</i> L -----	3
Figure 2 : Rhizomes primaires et secondaires de <i>Curcuma longa</i> l-----	4.
Figure 4 : Structure chimique des curcuminoïdes-----	7
Figure 5 : Tautomérie cétoénolique de la curcumine -----	7.
Figure 6 : Site de réaction de la curcumine avec les radicaux libres. Les groupements phénols et méthylène permettent la neutralisation des radicaux libres.-----	9
Figure 8 : Photographies obtenues par microscopie électronique à balayage des coupes de microsphère et de microcapsule -----	13
Figure 9 : Représentation schématique des différentes situations de mélanges protéine-polysaccharides en milieu aqueux-----	17
Figure 10 : Schéma représentant des complexes de Béta-lactoglobuline et de la gomme d'acacia -----	18
Figure11 : influence de la force ionique sur le rendement de la coacervation complexe -	19.
Figure 12 : Procédé de microencapsulation par coacervation complexe -----	20
Figure 13 : Modes de libération des principes actifs des microcapsule -----	.22
Figure 14 : Délipidation à l'hexane-----	32
Figure 15 : Préparation de la plaque CCM-----	33
Figure 16 : Réduction du radical DPPH -----	34
Figure 17 Protocole de préparation des capsules vides -----	37
Figure 18 Protocole de préparation des microcapsules de curcumine -----	38
Figure 19 : Aspect morphologique de grains de kéfir-----	40
Figure 20 : Schéma récapitulatif de la préparation des dilutions -----	41
Figure 21 : photographies représentatives des différents spots obtenus par CCM -----	47

Figure 22 : Variation des absorbances de DPPH en fonction des concentrations des extraits utilisés -----	48
Figure 23 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de curcumine, l' α tocophérol et le trolox -----	49
Figure 24: Représentation graphique des IC50 des différents extraits testés -----	50
Figure 25 : Zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de la poudre de curcumine---	52
Figure 26 : Image représentative de la séparation des deux phases lors de la coacervation complexe-----	52
Figure 27 : photographies originales des différentes microcapsules élaborées-----	53
Figure 28 : Photographies originales des microcapsules vides et la poudre de curcumine encapsulée avec les deux ratios : agrégats de capsules -----	55
Figure 29 : Effet du ratio sur le rendement de l'encapsulation -----	56
Figure 30 : Profil de libération in vitro de la curcumine en fonction du temps-----	57
Figure 31 : Pouvoir discriminant par descripteur-----	59
Figure 32 : Coefficient des modèles des quatre échantillons de boisson fermentée -----	61
Figure 33 : Corrélation entre les variables et les facteurs -----	62
Figure 34 : Profil des classes créées -----	63
Figure 35 : Carte de préférence PREFMAP -----	64

Liste des tableaux

Tableau I : Valeur nutritionnelle et énergétique du <i>Curcuma Longa</i> L	.4
Tableau II : Exemples d'application de la microencapsulation dans le domaine alimentaire	14
Tableau III : Méthodes d'encapsulation	15
Tableau VI : Formulation des microcapsules	.37
Tableau VII : Caractéristiques physico-chimiques de la poudre de curcuma	.45
Tableau IX : Récapitulation des résultats de l'évaluation de la microencapsulation	54
Tableau X : Résultats de l'analyse microbiologique de la boisson fermentée	.58

Abréviations

Capv : capsules vides

PCUMA : poudre de curcuma

PCUR : poudre de curcumine

PCURE : poudre de curcumine encapsulée

D% : pourcentage de diffusion

EE% : Efficacité de l'encapsulation en pourcent

I% : pourcentage d'inhibition de DPPH

GC : Giolitti et Cantoni

GNO : gélose nutritive ordinaire

BCPL : Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol

EOR : espèces oxygénées réactives

DRO : dérivés réactifs de l'oxygène

DPPH : 1,1-diphényl-2picrylhydrazyl

DMSO : Diméthylsulfoxyde

CCM : chromatographie sur couche mince

JORA : journal officiel de la république Algérienne

ACP : analyse en composante principale

CAH : classification ascendante hiérarchique

PREFMAP : préférence Mapping

Glossaire

Glossaire

Antibactérien : En biologie, prévenant ou combattant les bactéries, l'infection bactérienne.

Anticancéreux : En pharmacologie, qualifie une thérapeutique destinée à lutter contre la prolifération cancéreuse

Antiparasitaire : En pharmacologie, médicament s'opposant au développement de parasites, organismes vivants aux dépens d'un autre organisme

Antimicrobien : est une famille de substances qui tuent ou ralentissent la croissance des microbes

Anti-inflammatoire : En pharmacologie, propre à combattre l'inflammation.

Antioxydant : composé qui protège les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. (Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement.)

Antiparasitaire : En pharmacologie, qualifié comme substance capable de lutter contre des parasites externes ou internes

In vitro : Biologie qui se fait hors de l'organisme vivant, dans un milieu artificiel.

Introduction

Introduction

« Que ton aliment soit ta seule médecine ». Ces paroles d'Hippocrate, le père de la médecine occidentale soit aujourd'hui encore plus vraies que jamais. Chaque jour, la relation entre les aliments et la santé est renforcée.

La curcumine est le principe actif majoritaire du « curcuma », une célèbre épice et additif alimentaire Indien. C'est un principe actif connu pour ses diverses vertus : antioxydant, antimicrobien, antiinflammatoire, anticancéreux, effet sur le système cardiovasculaire...La curcumine a donc un intérêt nutritionnel et pourrait être consommée comme complément alimentaire ou dans la préparation d'un aliment fonctionnel à base de curcumine.

L'absorption d'une molécule active est régie par deux facteurs principaux : les caractéristiques de solubilité et de dissolution de la molécule dans les fluides digestifs et sa capacité à traverser les membranes intestinales. L'administration du principe actif par voie orale a été, généralement la voie la plus commode et la plus utilisée, une fois administré par la bouche, le principe actif passe rapidement à la partie gastro-intestinale. Cependant, la curcumine est un principe actif facilement oxydable, insoluble dans l'eau, c'est-à-dire présente une faible biodisponibilité non suffisante pour obtenir l'effet thérapeutique recherché, d'où la nécessité de la protéger par le biais de l'encapsulation afin de pouvoir profiter de ses bienfaits. Pour cela ; une nouvelle stratégie technologique a été développée afin d'augmenter la biodisponibilité de certains principes actifs, il s'agit de l'encapsulation du principe actif dans des matériaux polymères biodégradables. En général, l'encapsulation vise à réduire la toxicité et les effets secondaires d'un principe actif, à augmenter sa solubilité et/ou sa stabilité et à favoriser une libération dans l'organisme.

L'encapsulation trouve ses applications dans de nombreux domaines techniques, et en particulier le domaine alimentaire où elle permet une stabilisation des matières encapsulées.

L'encapsulation par coacervation complexe est une technique déjà employée dans l'industrie alimentaire afin de protéger des ingrédients fonctionnels tels que les probiotiques, les vitamines, les Antioxydants et les acides gras (Champagne et Fustier 2007). Le principe de cette méthode est basé sur la désolvation partielle de deux colloïdes et leur agrégation par abaissement du pH. La coacervation complexe semble par ailleurs être une technique très intéressante de microencapsulation, permettant d'atteindre des taux d'encapsulation élevés (Ouin 2004).

L'objectif de ce travail est la mise au point des microcapsules du polymère biodégradable gélatine/carraghenane et de concevoir un aliment à base de ces microparticules dans l'intention d'élaborer un aliment qu'on pourra classer dans la case des aliments fonctionnels.

Introduction

Ce manuscrit s'articule autour de quatre chapitres : Le premier consiste à définir la plante de curcuma longa et résumer les caractéristiques et bienfaits de la curcumine, le 2^{ème} chapitre consiste à présenter le principe de la microencapsulation et les différentes techniques de préparation des microcapsules dont la coacervation complexe. Le 3^{ème} chapitre est consacré à la définition d'un aliment fonctionnel, du kéfir au lait et donner un aperçu sur l'évaluation sensorielle.

Le 4^{ème} chapitre présente le protocole expérimental et détaillera la méthode de coacervation complexe pour la préparation des microparticules de curcumine, ainsi que les différentes techniques utilisées pour la caractérisation des microparticules, l'étude de l'évaluation de l'encapsulation et l'étude de la cinétique de dissolution et de libération des microcapsules de curcumine, testés in vitro dans deux milieux simulés, le milieu gastrique (PH=1,2) et le milieu intestinal (pH=6,8).

Enfin, on termine ce travail par la formulation d'une boisson fermentée au kéfir au lait additionnée de curcumine avec une évaluation sensorielle qui nous permet de connaître le degré d'appréciation et d'acceptabilité du consommateur vis-à-vis de cette formulation.

Chapitre I Généralités

I.1 Histoire du *curcuma Longa L*

Le *Curcuma longa L*, est une épice qui fait l'objet d'échanges commerciaux depuis tellement longtemps, qu'on ne peut déterminer avec certitude son origine. On pense cependant qu'il vient du Sud ou du Sud -Est de l'Asie, peut-être plus spécifiquement de l'Inde, d'où il se serait répandu dans toute l'Asie, de même qu'au Proche et au Moyen-Orient, il y a des milliers d'années (Penso et al., 1986). Depuis 4000 ans, le *Curcuma longa L* est important dans la culture védique, on retrouve sa trace dans des écrits sanskrits ; et dans la médecine ayurvédique (médecine holistique qui étudie empiriquement les effets de l'alimentation sur la santé) (Perry et al., 2008).

En Europe, les moines font mention de la plante, introduite par les navigateurs, dans leurs écrits dès le 6ème siècle (Delaveau., 1987). Connue en Chine depuis le 7ème siècle, en Afrique de l'Est depuis le 8ème siècle, en Afrique de l'Ouest depuis le 13ème siècle, en Europe en 1298 par Marco Polo qui le découvre en Chine et par les arabes au 13ème siècle.

I.1.1 Taxonomie et description botanique

Curcuma longa L. appartient au règne végétal, angiosperme, monocotylédone, division Magnoliophyta, classe des Liliopsidae, ordre des Zingiberales, famille des Zingiberaceae, genre *Curcuma*. La partie utilisée est le rhizome qui doit être récolté 7 à 8 mois après la plantation, quand il commence à sécher. *Curcuma longa L.* est une plante persistante qui peut mesurer de 60 à 100 cm de hauteur, pourvue d'une tige courte et de longues feuilles engainantes comme le montre la figure (1).



Figure 1 : Schémas et photographie de la plante *Curcuma longa L.* (Itokawa et al, 2008)

Chapitre I Généralités

Le rhizome se compose de plusieurs parties (Figure2). Le rhizome commercialisé est le rhizome primaire, il est ovale, oblong, piriforme et communément appelé « ampoule » ou curcuma « rond ». Les rhizomes secondaires sont plus cylindriques, mesurent 4 à 7 cm de long pour 1 à 1,5 cm de large et sont appelés « doigts ». Ils sont de couleur jaunâtre à brun jaunâtre à l'extérieur et jaune ou jaune orange à l'intérieur. Leur odeur est aromatique, leur goût chaud et légèrement intense



Figure2 : Rhizomes primaires et secondaires de *Curcuma longa* L (JOURDAN, 2015)

I.1.2 Quelques espèces de curcuma

D'après la classification phylogénique, il existe de nombreuses espèces de curcuma comme le montre la figure (3)(voir annexe 1)

I.1.3 Valeur nutritionnelle de *curcuma longa* L

Le tableau (I) résume la valeur nutritionnelle et énergétique calculée pour 100 g de poudre de *Curcuma longa* L qui est de 354 kcal, représentant en moyenne 11.42 % des besoins journaliers d'un adulte.

Tableau I : Valeur nutritionnelle et énergétique du *Curcuma Longa* L (Pour 100 g) (Shahid., 2016)

Chapitre I Généralités

Énergie	354 kca	Minéraux		Vitamines	
Eau	11,36 g	Calcium	183 mg	Vit B1	0,15 mg
Protéine	7,83 g	Cuivre	603 mg	Vit B2	0,23 mg
Sucre	3,21 g	Fer	41,42mg	Vit B3	5,14mg
Fibre	21,10 g	Magnésium	193 mg	Vit B6	1,80mg
Acides gras		Manganèse	7,8 mg	Vit B9	39 mg
Omega 9	3,12 g	Phosphore	268 mg	Vit C	26 mg
Omega 3	0,48 g	Potassium	2525 mg	Vit E	3,1 mg
Omega 6	1,69 g	Curcumine	3888 mg	Vit K	13,4mg

I.1.4 Utilisation du curcuma longa L

I.1.4.1 Utilisation alimentaire

Dans l'industrie agroalimentaire, l'intérêt du Curcuma porte sur ses propriétés aromatiques, comme colorant alimentaire jaune E.100 (Codex alimentarius), comme antioxydant et comme agent de conservation.

En 1980, la direction de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes en France a autorisé la coloration artificielle par la curcumine des articles suivants : « moutardes, beurre, Fromages, laits aromatisés, huiles, graisses (à l'exception des margarines), bouillons et potages, condiments, sauces, produits de charcuterie et salaisons, confitures, gelées, sucreries, pastillages, bonbons, glaces, pâtes de fruits, caviar, crevettes, sirops, croûtes de fromages... » Le *Curcuma longa* L est fréquemment consommée partout dans le monde. En Asie sa consommation moyenne avoisine les 1,5 g par jour et par personne. (Delaveau., 1987).

I.1.4.2 Utilisation médicinale

Le *Curcuma longa* L a fait l'objet de préparations thérapeutiques en vertu de ces propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires rapportées à travers les siècles dans différentes parties du monde. On lui attribue même des effets thérapeutiques semblables aux classes de médicaments suivants : les médicaments anti-inflammatoires, Antidépresseurs (Prozac), Chimiothérapie, Anticoagulants (aspirine), Antidouleur, contre le diabète (Metformine), contre l'arthrite, contre les maladies inflammatoires de l'intestin, contre le cholestérol (Lipitor) • Les stéroïdes (Wun., 2003).

Chapitre I Généralités

I.1.4.3 Utilisation cosmétique

Le Curcuma a été utilisé comme un produit de beauté depuis des siècles. C'est un moyen naturel de traiter plusieurs problèmes de peau et de cheveux, aussi bien utilisé dans les recettes de grands-mères que dans le commerce sous forme de crèmes, masques, huiles, shampooings.... L'utilisation de curcuma longa L dans le domaine cosmétique tire son importance pour ses propriétés antioxydants, antibactériens et antiinflammatoires (Turbide, 2013).

Le *Curcuma longa* L est formé d'un groupe de molécules bioactives essentielles pour garantir une bonne santé de la peau et peut réduire l'apparition des taches de vieillesse et les zones sombres de l'hyperpigmentation par une inhibition du stress oxydant. (Jenkins , 2002.) : 1000 milligrammes de curcuma deux fois par jour préviennent contre la formation de plaques de pigmentation sur la peau. Le curcuma protège contre l'agression des UV dû au soleil (Jenkins , 2002).

Selon une étude coréenne (Biospectrum Life Science Institute), la curcumine serait capable d'inhiber l'activité du TGF Bêta 1 ('transforming growth factor Bêta 1), qui est un facteur de croissance qui semble jouer un rôle dans la mort des follicules pileux ainsi que de la chute des cheveux (Turbide., 2013).

I.2 Les curcuminoïdes :

I.2.1 Généralités

Les métabolites secondaires végétaux, peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. En ce qui concerne le *Curcuma longa* L, il a été démontré que le rhizome réduit en poudre, était une riche source de composés phénoliques connus sous le nom collectif de « Curcuminoïdes ». Ces composés ont tous en commun la présence de plusieurs cycles benzéniques portant plusieurs fonctions hydroxyles. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel.

Chapitre I Généralités

La famille des curcuminoïdes comprend quatre composés phénoliques(figure 4) : • La Curcumine • La Diméthoxycurcumine • La Bisdéméthoxycurcumine • la cyclocurcumine dont voici la structure et la nomenclature chimique (Péret-Almeida et *al.*,2005, Scotter et *al.*, 2009, Lee et *al.*, 2011)

A : Curcumine 1 : [1,7-bis (-hydroxy3-méthoxyphényl) -1,6 heptadiène -3,5 dione] (ou diféruoylméthane) est une molécule contenant deux noyaux phénoliques identiques séparés par une courte chaîne d'hydrates de carbone. Sa structure est symétrique et contient deux fonctions cétone, deux fonctions alcool et deux fonctions éther.

B : Curcumine 2 : Diméthoxycurcumine (une fonction éther de moins que la curcumine).

C : Curcumine 3 : Bisdiméthoxycurcumine (deux fonctions éther de moins que la curcumine).

D : curcumine 4 : Cyclocurcumine (deux noyaux phénoliques, une fonction cétone, deux fonctions alcool et deux fonctions éther

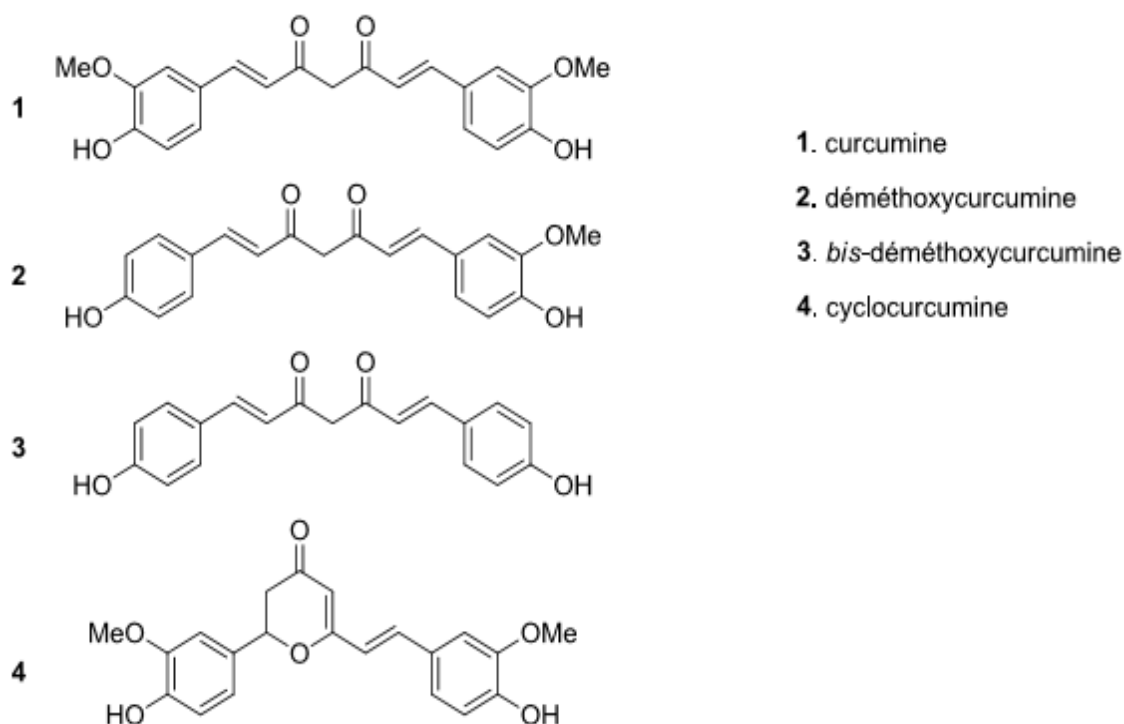


Figure4 : Structure chimique des curcuminoïdes (Esatbeyoglu et *al.*, 2015)

Etant donné que la curcumine est le composé majoritaire du *Curcuma longa* L, nous nous proposons dans ce qui suit d'en étudier les propriétés physico-chimiques et thérapeutiques.

Chapitre I Généralités

I.2.2 Propriétés physico-chimiques de la curcumine

• C₂₁ H₂₀ O₆ (isomères). • Le poids moléculaire de curcumine est de 368.37 Da. • Le maximum d'absorption de la curcumine au spectrophotomètre à 430nm dans le méthanol et entre 415 et 420 nm dans l'acétone. • Température de fusion : 183°C. • Insoluble dans l'eau. • Soluble dans l'alcool, éther, acide acétique. • La curcumine est jaune-orange pour un pH compris entre 2,5 et 7 et rouge à pH supérieur à 7. En conditions physiologiques, il existe un équilibre entre une forme énolique et une forme di cétonique (Goel et al., 2008) (Figure 5).

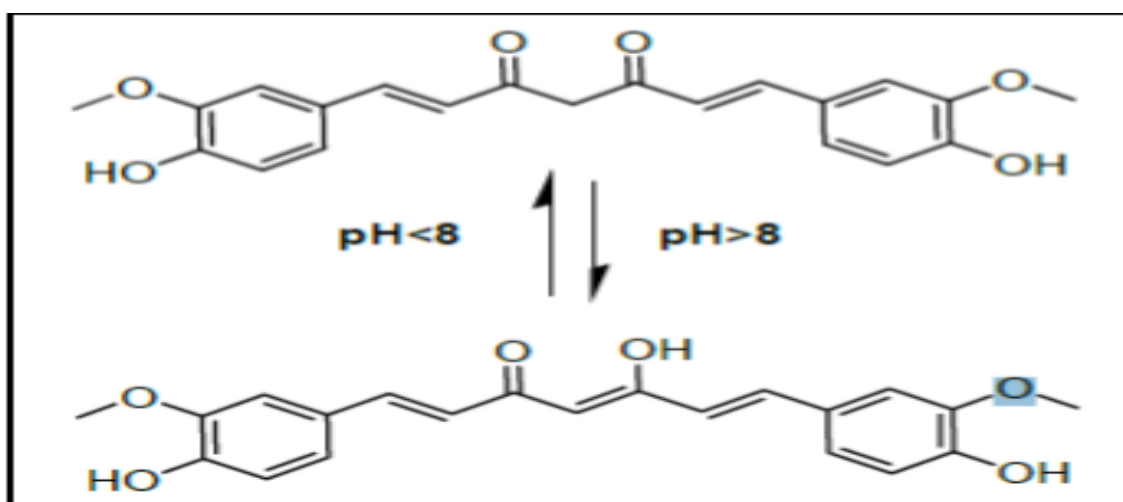


Figure5: Tautomérie cétoénolique de la curcumine ; formes dicétone (en haut) et énol (en bas).(Goel et al ,2008).

I.2.3 Activités biologiques de la curcumine

La curcumine possède une large gamme d'activités pharmacologiques (activités anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydantes, cicatrisantes, des effets antimicrobiens et antiparasitaires). Le mécanisme d'action est complexe et probablement multifactoriel. Les cibles moléculaires de la curcumine sont diverses

I.2.3.1 Propriétés antioxydants

La curcumine est considérée comme un antioxydant dix fois plus actif que la vitamine E, son action se fait par différents mécanismes :

a) Par transcription génétique : Elle module l'expression des gènes pour que ces derniers piègent les radicaux libres. Dans un modèle de glomérulonéphrite, la curcumine exerce une activité anti-fibrotique en augmentant l'expression du gène de l'hème-oxygénase-1 (HO-1). (Jeong et al., 2006) L'enzyme microsomale hème oxygénase (HO) catalyse l'oxydation de

Chapitre I Généralités

l'hème en biliverdine (convertie en bilirubine par la biliverdine réductase) et monoxyde de carbone (CO) ; elle est largement distribuée dans les tissus des mammifères. (Liu et al., 2015).

b) Par voie non enzymatique :

In vitro, la curcumine peut inhiber significativement la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO), comme les anions superoxyde, le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, ainsi que la génération de radicaux nitrite par activation des macrophages, ces derniers jouant un rôle important dans l'inflammation.

Les groupements phénoliques peuvent être à l'origine de l'activité antioxydante de la curcumine en libérant un proton. Les deux groupements phénoliques A et B sont aussi capables de libérer un proton selon les mécanismes I et II. Les groupements méthylène de la curcumine peuvent également être à l'origine des propriétés antioxydantes de la curcumine comme cela est montré par le mécanisme III comme il est bien expliqué dans la figure (6). Les radicaux de curcumine formés se stabilisent par résonance (ou mésomérie) qui correspond à la délocalisation de l'électron au sein de la molécule. Ainsi la capacité de la curcumine à donner un proton permet de neutraliser les radicaux libres dans l'organisme et d'empêcher la survenue d'un stress oxydatif ou de le diminuer lorsque celui-ci est déjà installé (Barzegar et al., 2011).

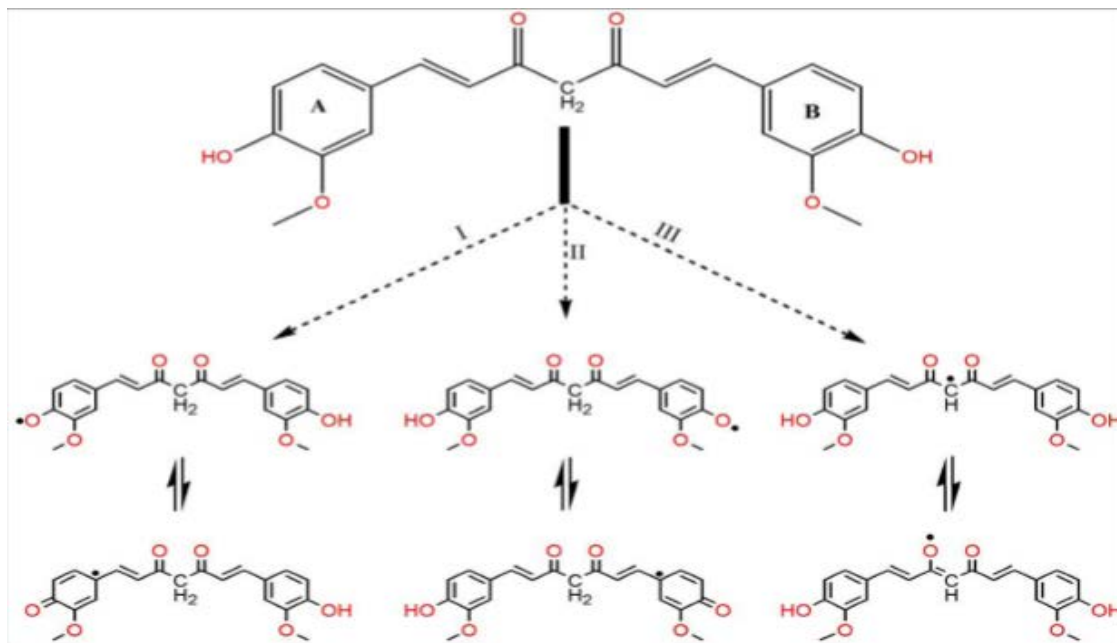


Figure 6 : Site de réaction de la curcumine avec les radicaux libres. Les groupements phénols et méthylène permettent la neutralisation des radicaux libres. La curcumine ayant libéré un proton se stabilise par mésomérie (Barzegar et al., 2011).

Chapitre I Généralités

c) Par voie enzymatique : L'activité antioxydante de la curcumine est médiée par des enzymes antioxydantes telles que le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase.

I.2.3.2 Propriétés anti-inflammatoires

Les curcuminoïdes et la curcumine sont capables d'interagir avec de très nombreuses cibles moléculaires impliquées dans l'inflammation, entre autres la cyclooxygénase, la lipoxygénase, les leucotriènes, la thromboxane, les interleukines. La curcumine intervient dans la réponse inflammatoire en inhibant l'activité des enzymes cyclo-oxygénase-2 (COX-2), lipoxygénase (LOX) et NO-synthase inductible (iNOS) (Jurenka., 2009). La curcumine serait aussi capable d'exercer des effets anti-inflammatoires et antiprolifératifs sur des cellules cancéreuses, en inhibant la production de l'interleukine 1 β (IL-1 β), de l'interleukine 6 (IL-6) et du facteur nécrosant les tumeurs α (TNF- α).

I.2.3.3 Propriétés anticancéreuses

Plusieurs études indiquent que la curcumine est un puissant agent anti-cancerux. Les tumorigenèses de la peau, de la glande mammaire, de la cavité orale, des voies aérodigestives, de l'oesophage, de l'estomac, de l'intestin, du colon, du poumon, du foie ont été stoppées par la curcumine. (Aggarwal et al., 2006). L'inhibition des intermédiaires réactifs de l'oxygène., La suppression de l'inflammation., L'inhibition de la prolifération cellulaire., L'inhibition des isoenzymes du cytochrome P450.,L'induction du GSH.,L'inhibition de protéines du cycle cellulaire (cycline E) ,L'inhibition de l'oxydation des bases de l'ADN ,L'inhibition de l'implantation des tumeurs, L'inhibition de la biotransformation des carcinogènes et l'induction de L'activité de la glutathion-S-transférase...

I.2.3.4 Propriétés antimicrobiennes

Les résultats prometteurs pour l'activité antimicrobienne de la curcumine en font un bon candidat pour améliorer l'effet inhibiteur des agents antimicrobiens existants par synergisme. (Tidjini A et al., 2014). Agent antibactérien, agent antiviral : le VIH, le virus de la grippe, l'herpès simplex virus, agent antifongique : les espèces de Candida, les espèces Trichophyton

La curcumine et ses composés connexes empêchent l'activité des gènes qui aident à la multiplication du VIH. Il inhibe également l'activité de l'enzyme protéase et l'intégrase qui est libérée par le virus. Le prétraitement des cellules génitales, des muqueuses avec la curcumine sous forme de pommade protège contre l'infection associée au VIH

Chapitre I Généralités

I.2.4 Le potentiel antioxydant

Au milieu des années 1950, Gerschman a démontré que l'oxygène, molécule pourtant indispensable à la vie, présente également une toxicité pour l'organisme (Gerschman et al., 2001). En effet elle est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées réactives (EOR) (Haleng et al., 2007).

I.2.4.1 Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule chimique hyper active et instable qui possède un électron non apparié dans une orbitale externe. Afin de se stabiliser, il réagit avec d'autres atomes ou molécules et se comporte, selon les cas, comme un oxydant ou un réducteur, afin d'apparier son électron libre (figure 7 annexe 2). Il aura donc tendance soit à donner son électron, soit à créer une liaison pour combler son orbitale. (Cheeseman, 1993).

Les radicaux libres entraînent un stress oxydatif contribuant à plus d'une centaine de troubles chez l'homme, tels que l'arthrose, l'arthrite, la gastrite, le cancer, le diabète (Wadkar, 2010).

I.2.4.2 Le stress oxydatif

Correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées actives (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières (Haleng et al., 2007). Le stress oxydant est impliqué dans le vieillissement ou de pathologies associées telles que les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, cancer, diabète... etc. (Pincemail et al., 2009).

I.2.4.3 Les antioxydants

sont définis comme des substances qui retardent, empêchent ou éliminent les dommages oxydatifs d'une molécule cible (Halliwell ,2007) soit en stabilisant ou en désactivant les radicaux libres avant d'interagir avec les cellules.

A/ Les antioxydants endogènes : constitués d'enzymes ou d'agents réducteurs (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase) dont l'action est de neutraliser les EOR par leur transformation en molécules stables (Percival, 1998 ; Kulikowska et al., 2004).

B/ Les antioxydants exogènes :sont des composés antioxydants, pour la plupart apportés par l'alimentation tel que la vitamine E, la vitamine C et les caroténoïdes dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des EOR, (Koechlin, 2006).

Chapitre I Généralités

I.2.4.4 Cibles des radicaux libres

Lors d'un stress oxydant, les (EOR) endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'ADN (Koechlin, 2006).

A/ La membrane : L'attaque par les radicaux libres des doubles liaisons lipidiques membranaires induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (Davies, 2000).

B/ L'ADN : Les EOR et spécifiquement le radical hydroxyle, peuvent provoquer des dommages des acides nucléiques en provoquant des cassures, des mutations ou endommager le processus de réparation de l'ADN. De plus, ils peuvent induire des modifications au niveau de la transcription ou de la traduction de l'ADN et ainsi la formation de protéines altérées. (Valko et al., 2006).

C/ Les protéines : Les effets des EOR sur les protéines sont complexes, allant du clivage des chaînes latérales des différents acides aminés jusqu'au squelette protéique. Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydriles (SH) qui sont ainsi oxydées et inactivées. En outre, les protéines oxydées peuvent aussi devenir très hydrophobes soit par suppression de groupements amines ionisables, soit par extériorisation de zones hydrophobes centrales, ce qui conduit à la formation d'amas anormaux dans ou autour des cellules. (Favier, 2003).

Chapitre II La microencapsulation

II.1 la microencapsulation

II.1.1 Utilité de la microencapsulation

L'encapsulation permet de transformer un liquide en solide, de masquer une odeur ou un goût désagréable, de protéger des substances sensibles des effets délétères de l'environnement extérieur, ainsi que d'obtenir une libération contrôlée et ciblée des principes actifs (Gouin 2004). C'est une technique qui permet d'obtenir des produits à haute valeur ajoutée. On peut parler de nanoencapsulation pour les particules submicroniques (1 à 1000 nm) et de microencapsulation pour les particules micrométriques (1 à 1000 µm). Les microcapsules peuvent contenir des composés d'origines variées : principes actifs pharmaceutiques (Jizomoto *et al.* 1993), actifs cosmétiques (Junyaprasert *et al.* 2001, Ammala 2013), additifs alimentaires (Wang *et al.* 2014), produits phytosanitaires (Gu *et al.* 2010), arômes (Leclercq *et al.* 2009), cellules, microorganismes, ou des catalyseurs de réactions chimiques (Richard et Benoît 2013).

La microencapsulation est notamment utilisée dans le domaine alimentaire afin d'enrichir des aliments en arômes, vitamines, minéraux, probiotiques, acides gras et antioxydants (Champagne et Fustier, 2007). Par exemple, les bactéries probiotiques sont encapsulées afin d'améliorer leur viabilité au cours des procédés de fabrication des produits alimentaires et permettre une libération ciblée au niveau du tractus gastro-intestinal (Anal et Singh 2007, Annan *et al.* 2008). Les caroténoïdes (lutéine et licopène) sont encapsulés afin d'améliorer leur stabilité vis à vis de la lumière, de l'humidité et de la température (Qv *et al.* 2011, Rocha *et al.* 2012).

II.1.2 Définition

Selon Richard et Benoît (2013) ; « la microencapsulation regroupe l'ensemble des technologies permettant la préparation de microparticules individualisées, constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active. Les microparticules présentent une taille comprise entre 1 µm et 1 mm et contiennent typiquement entre 5 et 90% (en masse) de matière active ».

II.1.3 Classification des microcapsules

Les microparticules sont des particules solides distinguées sur la base de leur structure interne en deux micromorphologies comme le montre la figure (8) : - les microsphères : qui sont des réseaux matriciels de matériau enrobant dans lequel se trouve dispersé ou dissout le principe

actif. - les microcapsules : qui sont des systèmes dits « réservoirs » constitués d'un cœur de principe actif entouré d'une membrane de matériau enrobant.

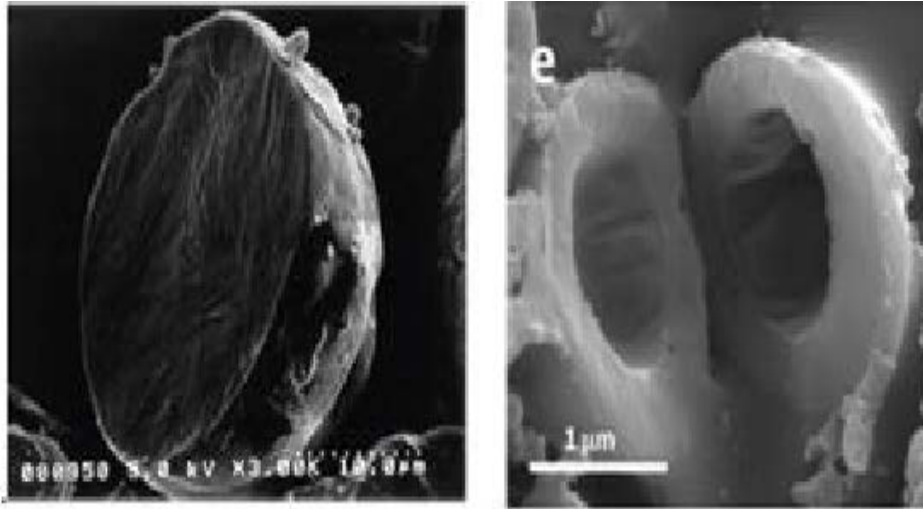


Figure 8 : Photographies obtenues par microscopie électronique à balayage représentant des coupes de microsphère (à gauche) (Jeong., 2003) et de microcapsule (à droite) (Sanna., 2015).

II.1.4 Intérêt et matériaux utilisés dans la microencapsulation

De nombreux principes actifs ont été microencapsulés dans le but d'obtenir non seulement une libération plus lente mais aussi une protection vis-à-vis de différents agents chimiques ou physiques et augmenter la biodisponibilité des principes actifs en modifiant leur absorption ou leur vitesse de mise à disposition. Ces formes permettent aussi de protéger des principes actifs contre la dégradation provoquée par les enzymes intestinales et de prolonger leur durée d'action. La microencapsulation permet aussi de masquer la saveur et l'odeur de certaines substances actives et permet également de réduire l'irritation du tractus gastro-intestinal lors d'une administration par voie orale (Poncelet D., 2000)

. Les matériaux utilisés pour obtenir les microparticules sont nombreux et variés. Ils peuvent être de nature hydrophile, hydrophobe ou une combinaison des deux, et doivent être capables de former un film stable et compatible avec la molécule à encapsuler (Patel et *al*, 2011).

On distingue les polymères d'origine naturelle animale ou végétale (la gélatine, le chitosane, l'alginate de sodium, l'amidon...), les polymères synthétiques (le polycaprolactone, les polymères d'acides lactiques et glycoliques...), les polymères semi-synthétiques (dérivés cellulose tels que l'éthylcellulose, la carboxyméthylcellulose,...), les lipides et les cires minérales (corps gras solides, glycérides, cires d'abeilles ,les cires minérales ...) (Richard et Benoit, 2000, Agnihotri. et *al*, 2012).

II.1.5 la microencapsulation en industrie alimentaire

Shahidi et Hans (1993) ont proposé six raisons pour l'application de la microencapsulation en industrie alimentaire à savoir :

- La réduction de la réactivité des composants avec les facteurs du milieu environnant ; elle permet la séparation des différents agents réactifs dans les formulations de catalyseurs, d'enzymes, d'oxydants ;
- Diminuer le pourcentage de transfert des composants vers l'environnement extérieur tel que les huiles essentielles, les arômes, ce qui participe à prolonger leur durée de conservation ;
- Ciblage de l'activité ou de la libération des composés bioactifs ;
- Contrôler la libération prolongée du principe actif et /ou de principes actifs (un des objectifs de notre travail) ;
- Masquer et préserver le goût ou la saveur des composés bioactifs incorporés dans les aliments (un des objectifs de notre travail) ;
- Diluer les composés bioactifs lorsqu'ils doivent être utilisés en faibles quantités.

Le tableau (II) résume les applications de la microencapsulation dans le domaine alimentaire

Tableau II : Exemples d'application de la microencapsulation dans le domaine alimentaire

Matériaux d'encapsulation	Matière active	Technique d'encapsulation	Référence
Gomme d'acacia/maltodextrine	Arome	Lyophilisation coacervation	Atmane Madene., 2006
Protéine de soja	Hydrolysate de caséine Riboflavine Huile de poisson	Atomisation Gélification coacervation	Ortiz et al., 2009 ; Favaro-Trindade et al., 2008 Chen et al., 2008
Pectine	Huile de poisson	atomisation	Drusch et al., 2007
Amidon	Aromes	Gélification Atomisation	Jeon et al., 2003 Murua-Pagola et al., 2009 /Shaikh et al., 2006

II.1.6 Procédés de microencapsulation

La sélection du processus d'encapsulation dépend des propriétés physiques et chimiques du noyau et de la coquille des microcapsules (Mishra, 2016), une grande variété de méthodes d'encapsulation a été développée pour diverses fonctions. Le processus d'encapsulation peut être réalisé physiquement ou chimiquement selon les besoins. Le tableau (III) regroupe quelques méthodes utilisées pour le processus d'encapsulation.

Tableau III : Méthodes d'encapsulation (Richard et Benoit (2000) ; Finch et Bodmeier , (2000)

Type de procédé	Mode d'encapsulation	Taille des microcapsules	Types de produits obtenus
Procédés physicochimiques	-Séparation de phases ou Coacervation (simple ou complexe)	2 – 1200 μm	Microcapsules Microsphères
	-Evaporation – extraction de solvant	0,5 – 200 μm	Microsphères
	-Gélification thermique d'émulsions (hot melt)		Microsphères
Procédés chimiques	-Polycondensation Interfaciale	2 – 2000 μm	Microcapsules
	-Polymérisation Interfaciale -Polymérisation en milieu dispersé par voie radicalaire ou anionique	2 – 2000 μm	Microcapsules Microsphères
Procédés mécaniques	-Nébulisation/séchage (spray drying)	1 – 200 μm	Microsphères
	- Gélification ou congélation de gouttes (priling)	200 – 800 μm	Microsphères
	- Enrobage en lit fluidisé (spray-coating)	35 – 5000 μm	Microcapsules
		$\geq 200 \mu\text{m}$	Microsphères
	-Extrusion/ sphéronisation		

II.2 Le phénomène de coacervation

Les processus de coacervation s'opèrent dans des conditions douces (pas de solvant agressif); par conséquent, ces méthodes sont un bon potentiel pour la microencapsulation de cellules vivantes et de molécules labiles, lesquelles ne peuvent pas résister aux conditions dures (chaleur, solvants organiques) qui accompagnent les autres procédés de microencapsulation (Onesippe., 2005).

II.2.1 La coacervation simple

Elle consiste à abaisser la solubilité d'un polymère (coacervation simple) initialement solubilisé en milieu aqueux, en variant la température ou par ajout d'un électrolyte, d'un non-solvant ou d'un deuxième polymère (agent de coacervation). Il se formera 2 phases liquides : l'une riche en polymère (coacervat) et l'autre pauvre en polymère (Richard et Benoit, 2007).

II.2.2 La coacervation complexe

II.2.2.1 Définition

Le phénomène de séparation de phase dans une solution contenant des polymères de charges opposées a été décrit pour la première fois en 1911 par Tiebackx, puis, Bungenberg de Jong (1949) a introduit le terme de coacervation complexe et a posé les bases théoriques et expérimentales du phénomène avec le système gélatine/gomme d'acacia.

La coacervation complexe est définie comme une séparation de phases dans un Système colloïdal, induite par des interactions électrostatiques entre deux polymères de charges opposées (IUPAC, 1997). La phase la plus concentrée représente le coacervat et l'autre phase représente la solution d'équilibre. La désolvation simultanée des deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées est le plus souvent provoquée par une modification de pH du milieu aqueux (Richard et Benoît, 2013). Le coacervat complexe est ainsi formé par précipitation de deux polymères de charges électriques opposées en interaction électrostatique.

Les protéines et les polysaccharides sont des polymères d'origine naturelle largement utilisés dans l'industrie alimentaire, notamment pour les émulsions et l'encapsulation (Matalanis et al. 2011 ; Bouyer et al. 2011), (Jones et al. 2010). Ces polymères peuvent interagir par des interactions attractives ou répulsives, Dans l'eau, le mélange de protéines et de polysaccharides

peut conduire à quatre situations (figure 9): la formation de complexes solubles, la coacervation ou précipitation, l'incompatibilité thermodynamique et la cosolubilité.

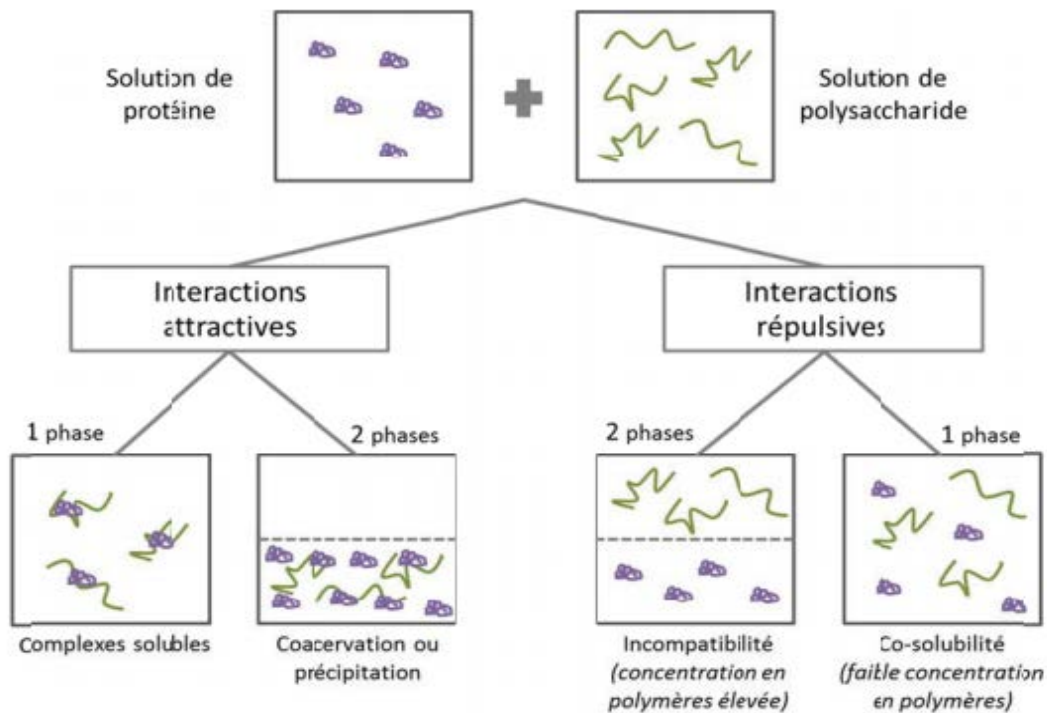


Figure 9: Représentation schématique des différentes situations de mélanges protéine-polysaccharides en milieu aqueux (d'après Clemment 2006)

II.2.2.2 Formation et propriétés du coacervat

La coacervation complexe est un phénomène de séparation de phase associative induit par des interactions électrostatiques entre au moins deux polymères généralement une protéine et un Polysaccharide portant des charges opposées (Cooper et *al.* 2005), mais, d'autres interactions faibles (les liaisons hydrogènes et les interactions hydrophobes), peuvent contribuer à la formation de coacervats complexe (Turgeon et *al.*, 2007).

La coacervation complexe se produit lorsqu'un déplacement du pH vers le point isoélectrique de l'un des deux polymères leur conférant des charges opposées. Il se crée alors des interactions électrostatiques qui conduisent à la formation de complexes solubles neutres, montrant une interaction attractive comme le montre la figure (10)

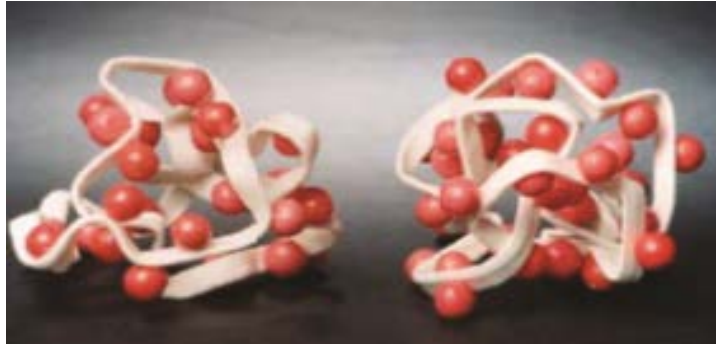


Figure10 : Schéma représentant des complexes de gomme d'acacia (ruban blanc) et de Béta-lactoglobuline (sphères rouges): complexe sous forme d'entité colloïdale d'après De Kruif, 2004)

L'association de ces polymères conduit à la formation de complexes insolubles qui forment alors des gouttes liquides composées des polymères et de molécules de solvant ; le coacervat (De Kruif et *al*, 2004), (Doublie et *al*, 2000), ces gouttelettes apparaissent tout d'abord sous forme de petites gouttes puis grossissent par la modification du pH

II.2.2.3 Paramètres influençant la formation des coacervats

Plusieurs facteurs physicochimiques interviennent dans la formation du coacervat, les principaux sont :

A/ Le pH, principal paramètre influençant le phénomène de coacervation complexe, en effet, les interactions entre protéine/polysaccharide sont observées lorsque les deux polymères portent des charges électriques opposées, c'est-à-dire lorsque le pH de la solution est inférieur au point isoélectrique de la protéine (Burgess et Carless, 1984).

Le pH influence sur le volume de coacervat ; le volume maximal de coacervat est observé sur une gamme de pH limité (entre 2.5 et 5.5) comme décrit par (Burgess et Carless, 1984), aussi le pH influence sur la mobilité électrophorétique des mélanges de polymères (la mobilité est nulle au pH où les deux polymères portent des charges égales mais de signes opposées (De Kruif et *al*, 2004).

B/ La force ionique joue un rôle important dans la formation du coacervat, car elle affecte la charge des polymères. Une force ionique très faible ou très élevée entraîne une suppression des interactions électrostatiques entre protéine et polysaccharide (De Kruif et *al*. 2004). L'addition de sels entraîne la diffusion des charges à la surface des polymères, ce qui réduit l'attraction entre les deux polymères et ainsi la coacervation (Burgess et Carless 1984). (Figure 11).

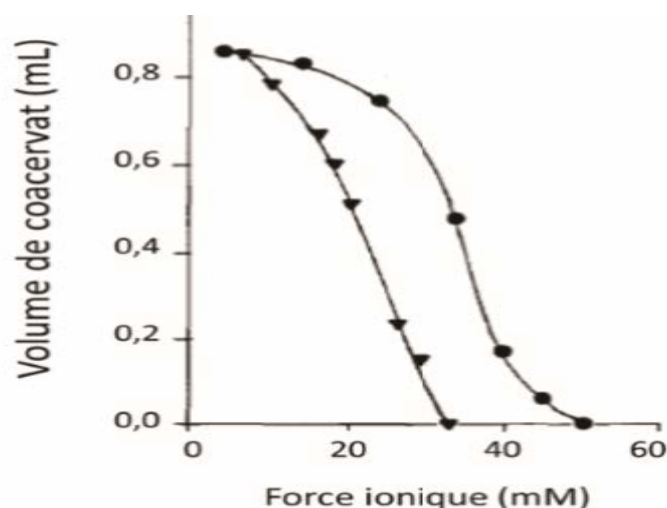


Figure 11 : influence de la force ionique sur le rendement de la coacervation complexe dans des mélanges gélatine/gomme d'acacia à un ratio (1 :1) d'après Burgess et Carless (1984).

L'étude de Chai *et al.* (2014) sur la coacervation complexe de l'albumine de sérum bovin et des carraghenanes a montré que l'addition de sel nécessite d'abaisser davantage le pH pour observer les interactions entre les biopolymères, conduisant à la coacervation. La force ionique influence par conséquent la formation des microcapsules (JunTxia *et al.* 2011, Tsung et Burgess 1997).

C/ Le ratio protéine/polysaccharide : est aussi un paramètre important dans ce phénomène. En effet, il existe un ration protéine/polysaccharide optimal qui correspond à un équilibre des charges entre les deux polymères (Liu *et al.*,2009) ; inférieur ou supérieur au ratio optimal, une diminution de la formation du coacervat est observée (Kaibara *et al.* 2000). Enfin la concentration en polymères peut être un paramètre important de la coacervation complexe car une concentration optimale existe où la coacervation complexe est maximale (Weinbreck *et al.* 2003).

Dans le cas du système bêta-lactoglobuline/gomme d'acacia, Schmit *et al.* (2001) ont observé la formation de précipités plus gros et plus nombreux lorsque la protéine est en excès, alors que Siow et Ong (2013) ont observé la formation de plus de complexes solubles que de coacervat due à la présence de charges non neutralisées lorsqu'un des polymères est en excès

II.2.2.4 Caractéristiques du coacervat

Le coacervat est une phase liquide où les protéines et polysaccharides diffusent indépendamment (Weinbreck *et al.* 2004). La structure des coacervats est dynamique, les interactions augmentent avec la densité de charge et diminuent par l'augmentation de la force ionique (de Kruif *et al.* 2004). D'un point de vue rhéologique, le coacervat se comporte plus

comme une dispersion visqueuse de particules que comme une solution de polymères viscoélastiques concentrée (De Kruif et *al.* 2004).

La composition des coacervats est principalement déterminée par la densité de charge des deux polymères. La neutralité des charges est quasiment atteinte à un pH spécifique pour chaque ratio protéine/polysaccharide. De plus, même lorsqu'il y a un large excès de l'un des deux polymères, les complexes restent faiblement chargés (De Kruif et *al.* 2004).

II.2.2.5 Procédé de microencapsulation par coacervation complexe

Le procédé de microencapsulation par coacervation complexe se déroule comme suit (figure 12) :- dans un premier temps, le produit à encapsuler est dispersé dans une solution aqueuse contenant les deux polymères (phase a) ; – dans un deuxième temps, la coacervation est induite par un ajustement du pH de la solution, de façon que les charges positives du premier polymère équilibrent les charges négatives du second (phase b). L'attraction électrostatique des deux polyélectrolytes provoque l'apparition d'un coacervat mixte ;

– dans un troisième temps, les gouttelettes de coacervat formé viennent s'adsorber (phase c) à la surface de la matière active à encapsuler et former un enrobage continu (phase d) ;

– finalement, cet enrobage est consolidé par réticulation (phase e) des macromolécules constitutives du coacervat. (Richard et Benoit, 2007)

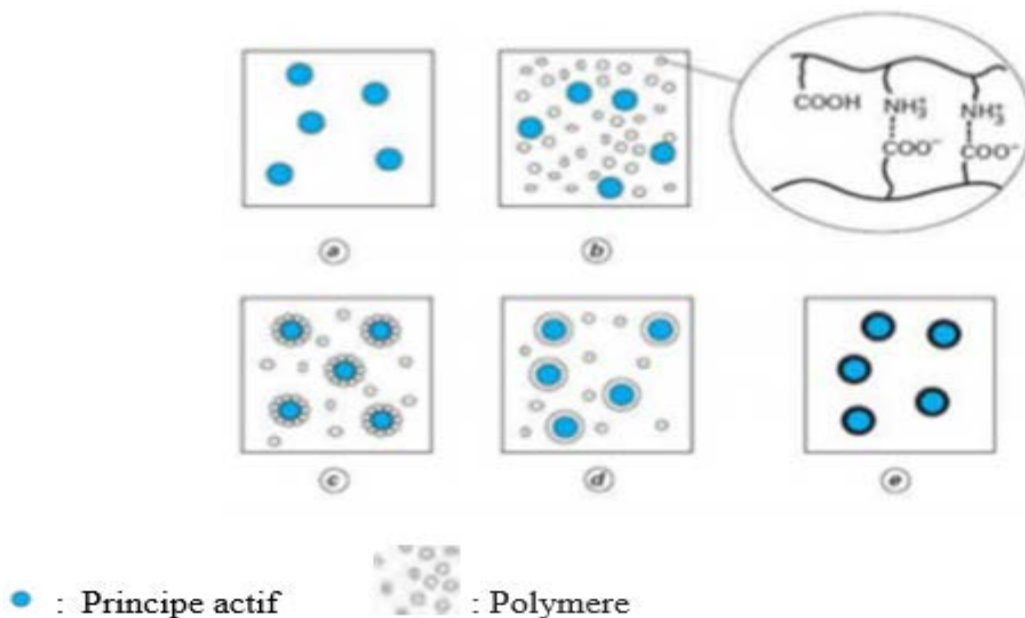


Figure 12 : Procédé de microencapsulation par coacervation complexe (Richard et Benoit, 2013).

II.2.2.6 Avantages du procédé de l'encapsulation par coacervation complexe

Le procédé de coacervation complexe comporte plusieurs avantages. En effet, les rendements d'encapsulation peuvent atteindre jusqu'à 90 % (Kerdudo et *al.*, 2015). De plus, cette méthode ne nécessite pas l'utilisation de solvants organiques et se déroule à température ambiante. Cependant, en raison de la complexité du procédé et de son coût de production, la technologie de coacervation est surtout réservée à des applications spéciales comme l'encapsulation de composés actifs coûteux ou pour masquer les fortes odeurs ou les arômes d'ingrédients nutritionnels. En général, les deux polyélectrolytes les plus souvent utilisés sont la gomme arabique (chargée négativement) et la gélatine (chargé positivement) et l'agent réticulent souvent mis en œuvre est le

glutaraldehyde (Lemetter et *al.*, 2009). Cet agent réticulent est efficace et peu onéreux, mais présente une toxicité non négligeable tant pour le manipulateur que pour l'utilisateur et doit être utilisé à des doses élevées (environ 100 à 500g/kg de gélatine) (Lemetter et *al.*, 2009).

II.2.2.7 les matières premières utilisées dans notre travail

A- Le carraghénane

Les carraghénanes sont des polysaccharides naturels obtenus à partir d'algues rouges, peuvent agir comme épaississant, gélifiant, et stabilisateur dans de nombreux aliments, produits pharmaceutiques et produits cosmétiques. Utilisés pour conférer une grande variété de textures, les carraghénanes apportent une image de produit naturel et sûr. D'un point de vue chimique, le carraghénane présente des niveaux de sulfatation variables, qui conduisent à des fonctionnalités différentes allant du non gélifié à très visqueux, en passant par une forte gélification et une faible viscosité.

De nombreuses études affirment la sécurité du carraghénane et, plus important encore, la capacité de ce produit à être utilisé pour prévenir la transmission de plusieurs virus.

B- La gélatine

La gélatine est un ingrédient traditionnel et un polymère multifonctionnel unique dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique. Ses multiples fonctionnalités la rendent encore aujourd'hui irremplaçable (voir annexe 3) (<https://www.gelatine.org>, visité le 19 juin 2019).

II.3 La libération contrôlée

La libération contrôlée peut être définie comme une méthode par laquelle un ou plusieurs principes actifs ou ingrédients se rendent disponibles sur un site à un moment désiré avec une teneur spécifique (Pothakamury et Barbosa-Canonas, 1995).

La physico-chimie de la libération des molécules aromatiques a été étudiée par Taylor (1998). Ces techniques de libération contrôlée sont surtout utilisées en pharmacie, en cosmétique et en industrie alimentaire.

Au niveau de la capsule, le principe actif ou l'ingrédient est libéré soit brutalement : libération déclenchée, soit progressivement : libération prolongée (Figure 13).

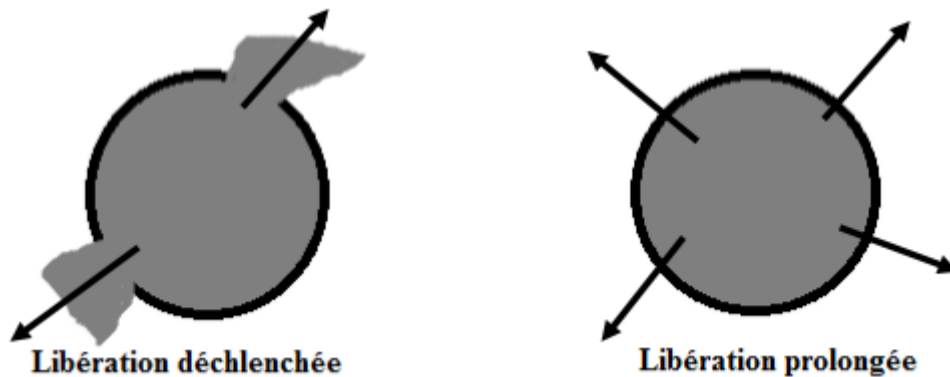


Figure 13 : Modes de libération des principes actifs des microcapsules. Taylor (1998)

1. Les systèmes à libération déclenchée sont constitués d'une membrane imperméable qui peut subir une rupture sous l'effet d'une pression (osmotique ou mécanique) ou par fusion sous l'effet d'une modification de pH ou de température.
2. Les systèmes à libération prolongée se distinguent les uns des autres par les mécanismes de libération mis en jeu (diffusion passive, dégradation/dissolution du matériau enrobant) et par leur structure (microcapsules ou microsphère) qui influence directement la cinétique de libération résultante. Les microparticules à libération prolongée sont très largement utilisées dans les domaines alimentaires et pharmaceutiques.

La cinétique de libération dépend principalement de l'épaisseur de la membrane, de sa porosité, de sa composition chimique et des propriétés de la substance active (Gharsallaoui, A. et al, 2007).

Pour des matériaux d'enrobage, la libération de la matière active dépend de plusieurs paramètres tels que la diffusion de la molécule à travers la matrice, sa nature et sa géométrie et la dégradation/dissolution de la matrice (Pitaksuteepong, T. *et al*, 2002).

Le mécanisme de libération contrôlée du principe actif peut être basé sur la fonte, la diffusion, la dégradation ou sur l'érosion du système. Dans le cas de la microencapsulation par coacervation mixte, on peut observer une libération prolongée (diffusion) et/ou une libération déclenchée (pH, déshydratation, action mécanique ou enzymatique, dissolution) (Richard et Benoit, 2002).

III.1 Aliment fonctionnel

III.1.1 Généralités sur les aliments fonctionnels

La science nutritionnelle a évolué d'une approche préventive des déficiences alimentaires, vers la promotion du rôle de l'alimentation, dans le maintien d'un état de bien être et de santé ou la réduction du risque de maladies. Ce contexte est très favorable au développement de la demande en aliments fonctionnels, dont le rôle est plus préventif que curatif (Weststrate *et al.*, 2002). Autant que de procurer du plaisir, nous attendons maintenant de la nourriture qu'elle puisse améliorer notre santé et notre bien-être. Les aliments dits « fonctionnels » ont fait leur apparition dans l'offre alimentaire mondiale. Ils constituent à ce titre une réponse du secteur agroalimentaire aux nouvelles préoccupations des consommateurs en matière d'alimentation, notamment en ce qui a trait à l'importance grandissante accordée à l'aspect santé. Ces produits présentent une nouvelle promesse santé pour leurs effets précis et étudiés (Saher *et al.*, 2004). Les aliments fonctionnels représentent à cet égard une nouvelle voix dans l'expression de cette conscience santé de plus en plus présente chez le consommateur occidental (Saher *et al.*, 2004).

III.1.2 Définition

« L'aliment fonctionnel » est une expression dont les définitions varient selon les auteurs s'y référant. Ces définitions sont soit simple comme : - « aliment qui fournit des bénéfices santé au-delà de la nutrition de base » (IFIC, 1995) ; - « aliment ou produit alimentaire commercialisé avec un message de bénéfice pour la santé » (Riemersma, 1996) ; - « aliment de tous les jours transformés en saveur de vie potentiel par l'addition d'un ingrédient magique » (Coghlan, 1996) ; Soit plus élaborées : - « aliment ou boisson dérivée de substances naturelles et consommée comme partie de la nourriture quotidienne et qui, s'il est ingéré, a des effets physiologiques » ; - « aliment ressemblant en apparence à un aliment traditionnel et qui est consommé dans le cadre de la nourriture habituelle, mais qui est capable d'exercer des effets physiologiques démontrés ou de réduire le risque d'une maladie chronique au-delà de la fonction nutritionnelle de base » (Federal Register, 1994) ; - « aliment semblable en apparence à un aliment traditionnel et qui est destiné à être consommé dans le cadre de la nourriture habituelle mais qui a été modifié de façon à exercer un rôle physiologique au-delà de ce qui est attendu des nutriments usuels » ;

III.1.3 Les fonctions des aliments fonctionnels

Plusieurs des produits actuellement développés ont un rôle de renforcement sur le système immunitaire, les capacités intellectuelles et physiques. De l'étude de la situation de la santé publique et épidémiologique actuelle, il ressort que la gestion des maladies du système cardio-vasculaire et le cancer constitue un défi de taille pour les populations et les services de santé publique de plusieurs pays. Plusieurs des aliments fonctionnels présents sur le marché concernent donc ce risque. Ce sont des aliments fonctionnels contenant des probiotiques, des prébiotiques, des nutriments antioxydants (curcumine, caroténoïdes, licopène...) ou des folates. Des risques plus généraux comme ceux liés à la vieillesse sont également concernés. Les excès et les déficiences alimentaires constituent un des défis des chercheurs et de l'industrie des aliments fonctionnels. Pour Lajolo (2002), il existe un besoin et une opportunité pour des aliments fonctionnels traitant des déficiences cliniques classiques. Ainsi, des aliments riches en micronutriments doivent être disponibles afin de répondre aux besoins des consommateurs et des responsables de la santé publique. Les aliments fonctionnels peuvent faciliter le rétablissement de certaines maladies.

La santé aura un rôle grandissant sur l'alimentation et dans ce cadre, les aliments fonctionnels sont appelés à jouer un rôle prépondérant. Les antioxydants, les probiotiques et les prébiotiques, du fait de leurs multiples effets positifs, continueront de constituer un pôle de développement capital. La littérature indique également que les Omega-3 occuperont une place importante dans les années à venir en raison de l'importance du contrôle individuel et collectif de la prévalence des maladies cardio-vasculaires. Le défi pour les chercheurs et les responsables corporatifs de ce groupe de produits sera cependant d'affiner sa connaissance, afin de spécifier les bénéfices attendus de chaque type de produits. La croissance de ce type de produits sera favorisée par le vieillissement de la population, mais surtout la nécessité de cibler les carences du groupe formé par les enfants et adolescents (Doyon et *al.*, 2006).

III.1.4 Le concept d'aliment fonctionnel

Ces dernières décennies, le développement des aliments capables d'influencer positivement notre santé et notre bien être est en plein essor. Le Japon a été le berceau du terme aliment fonctionnel et à l'avant-garde de leur développement. Depuis les années 1990, une grande variété de termes plus ou moins inspirés de l'approche japonaise, ont vu le jour. En plus du terme « aliment fonctionnel » ces termes incluent les mots et les expressions plus exotiques tels que : « nutraceutique », « designer food », « medifood », « vitafood » auxquels il faut ajouter

des termes plus traditionnels comme « supplément alimentaire », « aliment diététique » et « aliment enrichi ou fortifié ». Ces expressions sont destinées à décrire des « substances alimentaires qui fournissent des bénéfices médicaux et/ou de santé incluant la prévention et le traitement d'une maladie ».

Les aliments fonctionnels sont des aliments et pas des médicaments. Leur rôle vis à vis de la maladie sera, dans la majorité des cas, d'en réduire des risques et non pas de la guérir. L'apparition des aliments fonctionnels a généré une révolution au sein de l'industrie agroalimentaire. Le développement des aliments fonctionnels a été réalisé selon trois principales stratégies soit : (a) le recyclage de certains produits auxquels le statut d'aliments fonctionnels est attribué; (b) la création de nouvelles catégories de produits sur de nouveaux marchés et; (c) la mise d'un accent particulier sur certaines des propriétés nutritionnelles des aliments fonctionnels (Lavoisier, 2002).

III.2 Le Kéfir <https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/encyclopedie>. Consulté le 12 Juin 2019)

Le kéfir est une boisson pétillante est rafraîchissante obtenue grâce à la fermentation de grains de kéfir, qui ont l'apparence de petits morceaux de chou-fleur pour le kéfir de lait et à des cristaux transparents pour le kéfir de fruits. Les granules de kéfir que l'on ajoute à du lait ou à de l'eau fermentent les boissons et les modifient afin d'en faire des boissons rafraîchissante dont les effets bénéfiques pour la santé sont déjà reconnu depuis la nuit des temps.

Ces grains sont composés de bactéries et levures actives qui sont ancrées dans une matrice de polysaccharides et de protéines de lait.

Les microbiologistes ont étudié les grains pour mieux comprendre ce qu'ils sont, comment ils se reproduisent et comment ils fermentent le lait. Plus de 20 types de bactéries ont été identifiées dans ces grains ; incluant : *Lactobacillus brevis*, *Lb. Kéfir*, *Lb. Kéfir anofaciens*, *Lactococcus lactis*, et *Leuconostoc spp*. Différents types de levures ont aussi été trouvées dans les grains de kéfir ; telles que : *kéfir candida*, *Kluveromyces marxianus* et *Saccharomyces cerevisiae*.

Il se pourrait que le goût unique du kéfir, sa texture et ses bénéfices sur la santé soient le résultat de l'interaction de toutes les bactéries et levures et des polysaccharides dans les grains de kéfir.

III.2.1 Bénéfices santé du Kéfir

L'histoire et la tradition du kéfir sont aussi ancestrales que sa réputation d'être un produit santé. Le kéfir est un produit à base de lait facilement digestible ainsi qu'une bonne source de protéines et de calcium qui peut être inclus dans la portion de la diète consacrée au groupe des produits laitiers. La réputation du kéfir fait de ce produit plus qu'un autre produit laitier. Les Russes croient que la consommation régulière du kéfir améliore l'état général de la santé, aide à vaincre les maladies et infections et accélère la guérison des maladies et blessures.

La littérature médicale et scientifique russe est dotée de plusieurs articles sur l'usage du kéfir pour une variété de maladies et infections. Dans les pays soviétiques, le kéfir est utilisé lors du traitement d'ulcères de l'estomac, de maladies du système biliaire, lors d'entérites chroniques et de pneumonies.

Il a été démontré que les grains de kéfir ont de grandes propriétés anti-tumorale, antibactérienne, antifongiques qui peuvent expliquer pourquoi ils ont été utilisés depuis si longtemps pour une longue liste de maladies. Un travail expérimental effectué sur des animaux au Japon a démontré que la consommation de kéfir ou de grains de kéfir peut prévenir les maladies cancéreuses

III.2.2 L'effet probiotique du kéfir

Les grains de kéfir contiennent des bactéries et levures actives. Après le processus de fermentation, le produit final contient assez de levures et bactéries vivantes pour être dénommé un "probiotique". Plusieurs consommateurs cherchent à ajouter des produits probiotiques à leur diète à cause des conclusions grandissantes sur les bénéfices santé reliés à la consommation de bactéries vivantes.

Le kéfir est une nourriture complexe contenant des bactéries, des levures et d'autres produits résultants de l'interaction de ces micro-organismes. L'origine des propriétés ayant des bienfaits sur la santé du kéfir ne sont pas claires. Sont-elles dues à une seule bactérie ou levure présente dans les grains ou dues à la présence de polysaccharides ? Le polysaccharide kéfiran est uniquement trouvé dans le kéfir et certains chercheurs croient que le kéfiran est l'ingrédient actif du kéfir. La plupart des bactéries trouvées dans le kéfir ne sont pas normalement présentes dans le système humain. Quand le kéfir est consommé, la population de bactéries dans l'intestin change pour inclure ces nouvelles bactéries.

III.2.3 Les facteurs intervenant dans le développement du kéfir

III.2.3.1 Le milieu

Tout développement bactérien a besoin d'un milieu de culture. Les bactéries sont présentes partout, dans l'air, le sol, les eaux, les aliments... Les expériences sur le kéfir ont démontré

qu'il lui fallait un milieu précis pour croître : l'eau, toutefois, cette solution peut présenter plusieurs caractéristiques, notamment le pH. Un milieu riche en sucre, en chaleur et en lumière était à privilégier.

III.2.3.2 Les éléments nutritifs : Comme l'ont montrées les expériences, le kéfir est très exigeant et ne se développe qu'en présence de sucre. Quand ce sucre vient à manquer, la quantité de kéfir n'évoluait plus. La présence d'une faible quantité de sel, permet une évolution plus facile au kéfir. La souche de kéfir est résistante car l'étude de l'évolution de la souche sans aucun apport nutritionnel a montré que la souche a persévéré. Ceci est dû à l'espèce même de la bactérie ; le kéfir est un bacille et comme certains bacilles, il peut se transformer en spore, véritable forme de survie pour cette bactérie.

Nous pouvons donc conclure en disant que le kéfir a besoin d'éléments spécifiques à sa propre espèce pour croître mais aussi en disant que cette bactérie, comme certaines autres, peut également inhiber son développement pour pouvoir survivre quand il n'y a plus d'éléments nutritifs

III.2.3.3. Le besoin hydrique Le kéfir a besoin d'eau libre pour se développer comme pour la plupart des bactéries, l'eau doit représenter 16% du milieu.

III.2.3.4 Le pH Pour le kéfir : que le milieu soit acide, basique ou neutre, l'évolution bactérienne n'est pas touchée ; du moins si le milieu n'est pas extrême. En réalité, la majorité des bactéries sont neutrophiles y compris le kéfir mais vu que le kéfir ne provient pas d'une seule souche, on conclut que ce complexe s'adapte à des pH différents

III.2.3.5 Le besoin en oxygène La souche de kéfir se développe aussi bien sans oxygène qu'avec oxygène, Nous pouvons donc conclure que le kéfir fait partie de la famille des aérobies anaérobies facultatives.

III.2.3.6 La température Les expériences réalisées sur le kéfir ont permis de dire que le kéfir est une bactérie mésophile; pour une production rapide, il vaut donc mieux la placer dans un endroit chaud.

Matériels et méthodes

IV.1 Démarche expérimentale

IV.1.1 Problématique

Notre travail a pour objectif principal l'extraction de la curcumine à partir de la poudre de curcuma longa L par macération et identification par chromatographie sur couche mince puis, valoriser ce principe actif en l'incorporant dans une boisson fermentée au kéfir au lait après l'avoir encapsulé par la méthode de coacervation complexe en utilisant comme matériaux d'encapsulation la gélatine comme protéine et le carraghenane comme polysaccharide dans le but de préserver ses effets thérapeutiques en permettant une libération contrôlée et retardée, augmenter sa biodisponibilité et diminuer l'intensité de son goût astringent, de son odeur ainsi que sa couleur.

IV.1.2 matériels utilisés

Le tableau IV (voir annexe 4) résume l'essentiel du matériel utilisé lors de notre pratique au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie appliquée de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

IV.1.3 Méthodes expérimentales

IV.1.3.1 Caractéristiques physico-chimiques de la poudre de curcuma

A/ Détermination de la teneur en eau :test d'humidité (NF V 05_105, 1974)

La teneur en eau est un paramètre déterminant dans la stabilité et la conservation des denrées alimentaires

Procédure

Peser 2 g de curcuma dans une boîte de pétri préalablement séchée, et pesée, puis, porter à l'étuve $105 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ jusqu'à obtention d'un poids constant, puis calculer le taux d'humidité selon la formule suivante : $\text{H}\% = (\text{M1}_-\text{M2}/\text{P}) * 100$

Soit M1 : le poids en g du curcuma et la boîte de pétri avant étuvage en g

M2 : le poids du curcuma et la boîte de pétri en g après étuvage en g

P : le poids de la prise d'essai en g.

Chapitre IV : matériels et méthodes

B/ Détermination du pH et de l'acidité titrable (NF V 05_101, 1974)

Le potentiel hydrogène permet d'évaluer la concentration de l'ion hydrogène dans une solution, cette grandeur chimique mesure le caractère acide ou basique d'une solution aqueuse par un pH-mètre. Plus la solution est acide, plus la valeur du pH est faible et inversement.

Procédure

Peser 3g de PCUMA, les mettre dans une fiole contenant 30ml d'eau distillée et porter sur une plaque agitatrice avec chauffage pendant 30min ;une fois refroidie, transvaser dans une fiole jaugée, puis compléter d'eau distillée jusqu'au trait jaugé, bien mélanger puis filtrer et mesurer le pH à l'aide d'un pH mètre.

Principe de l'acidité titrable

La mesure de l'acidité titrable est basée sur un dosage acido-basique d'un échantillon avec une solution de NaOH en présence d'un indicateur coloré adéquat.

Procédure

Mettre une quantité du filtrat dans un bêcher en ajoutant 2 à 3 gouttes de phénolphaléine et titrer avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à obtention d'une coloration rose qui persiste quelques secondes ;

L'acidité titrable, exprimée en milliéquivalent de NaOH par 100g de produit est déterminée comme suit : **Acidité = $(250 \cdot V1 \cdot 100 / M \cdot 10 \cdot V0) \cdot 0,06$**

Soit M : le poids de la prise d'essai en g ;

V0 : le volume en ml de la prise d'essai (50ml)

V1 : le volume en ml de la solution de NaOH 0,1N nécessaire pour le titrage

C/ Détermination de la teneur en cendres (NF V 79_101, 1979)

Procédure

Peser une quantité de la PCUMA qu'on met dans une capsule en porcelaine, peser le tout ; soit M1 puis porter dans un four à moufle réglé à 550°C pendant 8 heures jusqu'à obtention d'une masse de couleur grise claire ou blanchâtre ;la capsule est ensuite retirée du four et mise dans un dessiccateur jusqu'à refroidissement puis peser par une balance analytique ; soit M2

Le taux de matière organique(MO) du produit est calculé comme suit :

Chapitre IV : matériels et méthodes

$$\text{MO}\% = (\text{M1} - \text{M2} / \text{P}) * 100 ;$$

La teneur en cendres(CD) est exprimée en g/100g de matière fraîche et est calculée selon la formule suivante : $\text{CD}\% = 100\% - \text{MO}\%$

D/ Détermination du taux de solide soluble (TSS)

Procédure (NF V 05_109, 1970)

D'abord, il faut déterminer le °Brix : peser 1g de la PCUMA qu'on additionne à 25 ml d'eau distillée, puis chauffer cette solution au bain marie pendant 30 minutes et filtrer ; puis déposer une goutte de cette solution sur le prisme d'un réfractomètre préalablement étalonné avec de l'eau distillée et faire la lecture du °Brix ;

Selon la formule $^{\circ}\text{Brix} = \text{M} * \text{M1} / \text{E}$, déduire M1 qui représente la masse de résidu sec soluble pour 100 g de produit en g. soit E : la masse de la solution pesée contenue dans un bêcher

M : la masse de la prise d'essai.

IV.1.3.2 Extraction de la curcumine à partir de la PCUMA par macération

La macération est un procédé d'extraction conventionnel qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide à froid pour en extraire les composés solubles, ou bien pour qu'il absorbe ce liquide afin d'en obtenir le parfum ou la saveur, pour le conserver ou pour qu'il se décompose (**Dictionnaire de l'Académie Française, 2005**)

A/ Protocole d'extraction

L'extraction de la curcumine à partir de la poudre du curcuma par macération est réalisée selon le protocole décrit par (Romani et al, 2006) en y apportant quelques modifications :

Une quantité de poudre de curcuma sont pesés, puis macérés dans un erlenmeyer contenant 100ml de solvant sous agitation magnétique pendant 24 heures à température ambiante puis filtrer en utilisant du papier wattman et récupérer le filtrat ; les filtrats sont mis sur un évaporateur rotatif réglé à 65°C ; après évaporation du méthanol, nous avons obtenu une pâte marron orange que nous avons délipidé par décantation à l'Hexane comme le montre la figure (14) puis évaporer jusqu'à obtention d'une poudre marron orange.

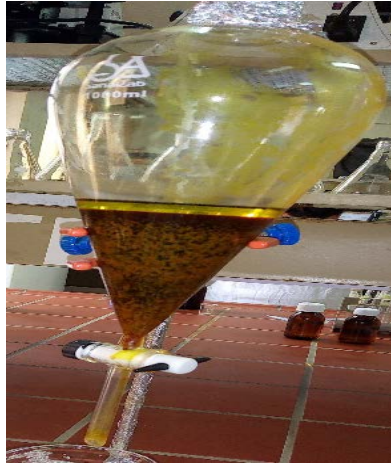


Figure 14 : délipidation à l'hexane

B/ Calcul du rendement de l'extraction (R%) : Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R (\%) = (Me / Mv) \times 100$$

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction

IV.1.3.3 Séparation des composés extraits à partir de la poudre de curcuma par chromatographie sur couche mince

Le principe de la chromatographie sur couche mince repose sur l'entraînement d'un échantillon dissous par une phase mobile à travers une phase stationnaire. Cette technique a été réalisée sur des plaques pré-étalées de gel de silice.

A/ Mode opératoire

A.1 : Préparation des échantillons

Faire dissoudre notre extrait de curcumine (obtenu après extraction par macération) dans du méthanol contre deux standards de curcumine, le premier d'une pureté 99% et le 2^{ème} d'une pureté de 45%

A.2 : Préparation de la plaque (phase stationnaire)

Nous traçons délicatement sur la plaque de gel de silice une ligne de dépôt à environ 1cm du bord inférieur de la plaque et une ligne de front à environ 1cm du bord supérieur.

Chapitre IV : matériels et méthodes

A.3 : Système solvant (phase mobile)

La phase mobile est constituée d'un mélange de solvants organiques généralement de faible, moyenne et forte polarité dans des proportions adéquates.

Pour se faire, nous avons utilisé un système solvants constitué d'un mélange de trois solvants, à savoir l'hexane, l'acétate d'éthyle et le méthanol aux proportions adéquates pour définir une meilleure séparation de notre extrait.

A.4 : Préparation de la cuve

L'éluant est introduit dans la cuve de manière à ce que son niveau atteigne une certaine hauteur, puis la couvrir avec un couvercle hermétique afin de créer une enceinte saturée.

A.5 : Dépôt :

A l'aide d'une micropipette, on dépose sur la ligne de dépôt des gouttes séparées de nos extraits à analyser (figure 15).

La plaque est ensuite placée dans la cuve, l'éluant remonte par capillarite le long de la plaque entraînant avec lui l'extrait,



Figure 15: Préparation de la plaque CCM

Une fois arrivé au trait préalablement tracé, on fait sortir la plaque et on la laisse sécher à l'étuve à 110°C pendant 2mn.

A.6 : Révélation physique :

Elle est réalisée à l'aide d'une lampe UV où nous procédons à la visualisation de spots potentiellement invisibles.

A.7 : Révélation chimique :

Elle est utilisée pour identifier certaines classes de métabolites secondaires qui donnent des colorations spécifiques avec le révélateur selon les fonctions chimiques qu'elles contiennent et leurs positions. Nous avons utilisé la vanilline sulfurique à 1% (voir annexe) comme révélateur spécifique aux polyphénols. Le révélateur est pulvérisé sur la plaque CCM, puis séché à l'étuve à 110°C.

Chapitre IV : matériels et méthodes

B/ Calcul du Rapport frontal (Rf)

Pour chaque spot nous avons calculé le rapport frontal qui est égal à la distance parcourue par le constituant divisé par la distance parcourue par le solvant : $Rf = d/D$

Où : d : Distance parcourue par le constituant : Distance parcourue par le front de l'éluant .

Ce facteur est caractéristique d'une substance tenant compte du solvant utilisé.

IV.1.3.4 Evaluation de deux activités biologiques de l'extrait de curcumine

A/ Evaluation de l'activité antioxydant

La méthode par le DPPH est choisie pour évaluer l'activité antioxydante de notre curcumine car elle est reconnue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical DPPH (Bozin . *et al*, 2008).

Le DPPH est un radical libre et stable, dont l'absorbance diminue lorsqu'il est réduit par un antioxydant (AH) : On résume la réaction sous forme de l'équation suivante :



- DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (forme oxydée)
- DPPH-H : 1,1-diphényl-picryl hydrazine (forme réduite) Où : (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH de couleur violette pour le transformer en diphényle-picryl Hydrazine de couleur jaune (Parejo *et al.*, 2002) (figure 16).

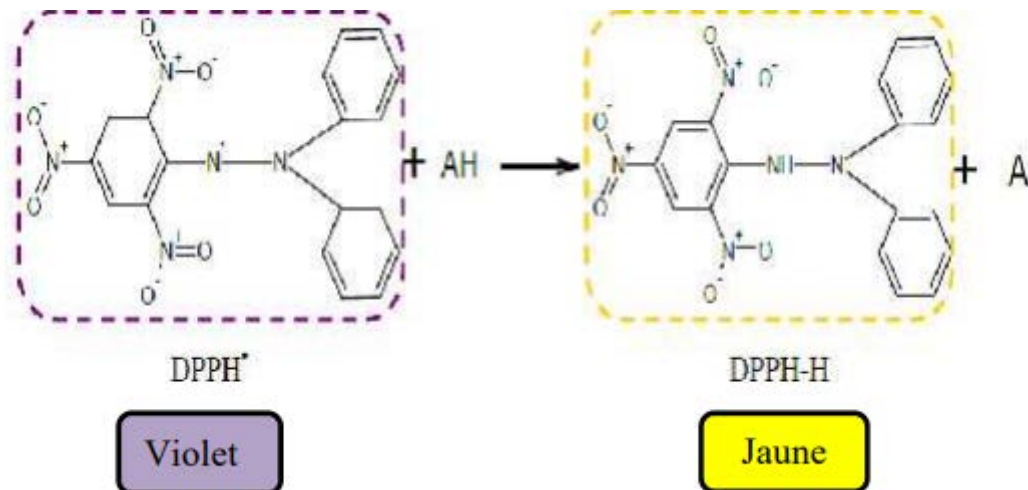


Figure 16 : Réduction du radical DPPH

Une quantité du radical DPPH est dissoute dans un volume de 100 ml de méthanol ;

Un volume des différentes concentrations de notre échantillon est déposé dans des tubes aux quels sont ajoutés une quantité de la solution méthanolique de DPPH

Chapitre IV : matériels et méthodes

On prépare un contrôle négatif avec uniquement la solution méthanolique de DPPH.

Après incubation à température ambiante pendant 30min à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm

Deux contrôles positifs sont réalisés sur deux standards antioxydants à savoir l' α tocophérol et le trolox en suivant les mêmes démarches précédentes.

➤ Expression des résultats

Le pourcentage de l'activité antiradicalaire de DPPH est calculé par la formule suivante :

$$I (\%) = ((A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{contrôle}}) * 100 \quad A : \text{absorbance.}$$

➤ Calcul des (IC50)

La capacité antioxydante de nos composés est déterminée à partir des IC₅₀, paramètres couramment utilisés pour mesurer l'activité antioxydante. L'IC₅₀ a été définis comme la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical DPPH initiale de 50% (IC₅₀). Une valeur faible d'IC₅₀ correspond à une activité antioxydante plus élevée d'un composé **Prakash D. et al (2007)**.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Figure 23).

B/ Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait de curcumine vis à vis des germes pathogènes (*E. Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa* et *Entérocooccus Faecalis*) a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques réalisée sur milieu gélosé Mueller Hinton.

B.1/ Préparation des dilutions

Nous avons établi une gamme de dilution partant d'une concentration de solution mère de 100mg/ml de la solution DMSO pure. Nous obtenons ainsi la gamme de dilution suivante : 1/100, 1/1000et 1/10000 à des concentrations de : [10, 1 et 0.1]mg/ml respectivement.

B.2/ Repiquage des espèces bactériennes

Les espèces bactériennes ont été repiquées par stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

Chapitre IV : matériels et méthodes

B.3/ Préparation de l'inoculum

Des colonies bien séparées des espèces bactériennes ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml de bouillon nutritif puis portées à l'incubation pendant 18 heures à 37°C.

B.3.1 Standardisation des inoculas bactériens

A partir d'une culture jeune de 18 heures, prélever un volume qu'on introduit dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile pour obtenir l'inoculum bactérien (Hazzit, 2008) ; ajuster l'inoculum à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,13 à l'aide d'un spectrophotomètre (λ 625nm) qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC /ml et mélanger vigoureusement la suspension avant usage à l'aide d'un vortex et employer l'inoculum dans les 15min qui suivent sa préparation (Oukil, 2013), (CA-SFM, 2018).

B.3.2 Mode opératoire : les tests sont réalisés en double

La méthode de diffusion sur disques, appelée aussi aromatogramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme, qui se réalise *in vitro* (Baser et Buchauer, 2009).

A l'aide d'un écouvillon, étaler 0,1ml de la suspension bactérienne standardisée sur gélose Mueller Hinton (voir préparation annexe 4) et laisser sécher ; des disques stériles en papier filtre sont imprégnés de 15 μ l des dilutions préparées, puis, déposés sur des boîtes de pétri, qui, ensuite, mises au réfrigérateur à 4°C pendant une demie heure, puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37°C mesurée en mm à l'aide d'une règle. (Garrabé et al, 1998) et (Gachkar et al, 2007)

Expression des résultats

Après 24 heures d'incubation, les zones d'inhibitions sont mesurées en mm avec une règle ou un pied de coulisse (CA- SFM, 2018). Selon (Ponce et al 2003), la sensibilité des bactéries a été classée selon le diamètre des halos d'inhibition, comme le résume le tableau V (voir annexe 6).

IV.1.3.5 Technique de la microencapsulation par coacervation complexe

La coacervation complexe est une séparation de phase associative qui peut être observée dans un mélange de protéine et polysaccharide en milieux aqueux. Elle donne lieu à la formation de complexes électrostatiques protéine/polysaccharide : le coacervat

Chapitre IV : matériels et méthodes

A/ Préparation des microcapsules : protocole cité par Baracat et al. (2012) modifié

Réalisation de trois essais de microcapsules selon les ratios mentionnés dans le tableau (VI)

Tableau VI : Formulation des microcapsules

	Ratio (carraghénane-gélatine)	Ratio (PCUR-polymère)
Cap v (0-1)	2-8	0-1
PCURE (0,5-1)	2-8	0,5-1
PCURE (0,8-1)	2-8	0,8-1

A.1/ Préparation de microcapsules vides

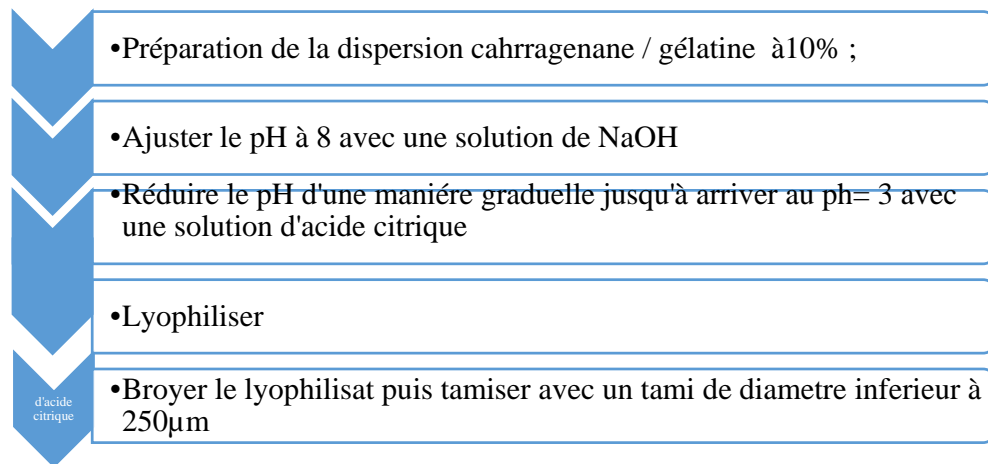


Figure 17 ; Protocole de préparation des microcapsules vides selon (Baracat et *al.* (2012) modifié.

A.2/ Préparation des microcapsules de curcumine

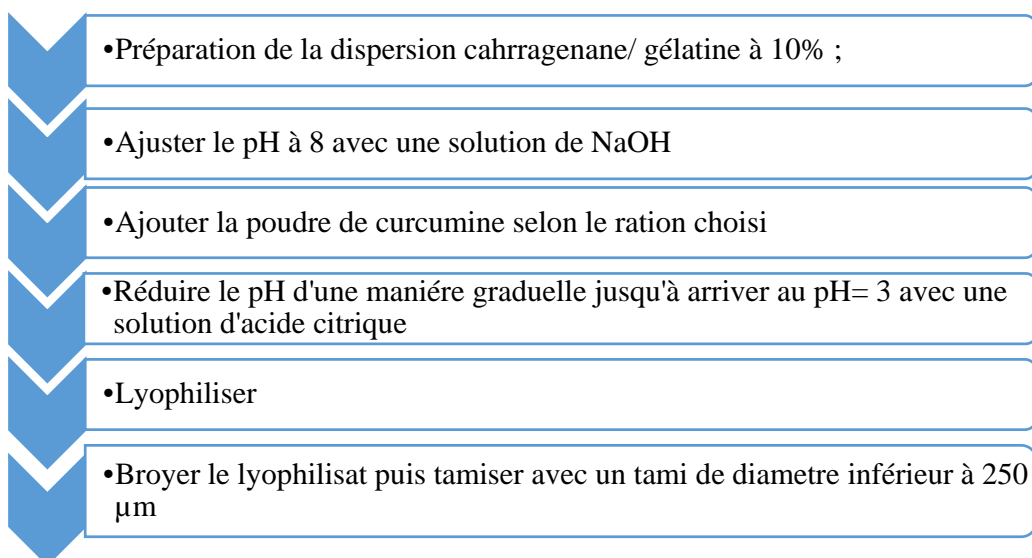


Figure 18 : Protocole de préparation des microcapsules de poudre de curcumine selon (Baracat et *al.* (2012) modifié.

Chapitre IV : matériels et méthodes

IV.1.3.6 Evaluation de la microencapsulation

A/ Test de solubilité (S%) des microcapsules vides

La solubilité est une caractéristique qualitative utilisée pour décrire le comportement d'une espèce chimique vis à vis d'un solvant. Elle désigne la capacité d'une espèce chimique à se dissoudre ou non dans un solvant, mais aussi une caractéristique quantitative : La solubilité est une grandeur correspondant à la masse maximale de soluté pouvant être dissout dans un litre de solution

Procédure

Disperser 0,5 g de microcapsules vides dans 50ml d'eau distillée, puis agiter pour une meilleure homogénéisation ; centrifuger la dispersion à 3000rpm, puis récupérer le surnageant dans une boîte de pétri préalablement pesée et tarée ; puis sécher le contenu dans une étuve à 105°C jusqu'à poids constant.

Expression des résultats

$$S\% = (\text{poids avant séchage} - \text{poids après séchage}) * 100$$

B/ Evaluation par microscope optique

Les microcapsules obtenues sont observées sous microscope optique doté d'un appareil photo et couplé à un microordinateur.

Une comparaison de structure et de morphologie des différentes poudres obtenues est faite par rapport aux images prise dans des grossissements appropriés.

C/ Détermination de l'efficacité de l'encapsulation (EE%)

D'abord, il faut déterminer la longueur d'onde maximale (λ_{\max}) pour laquelle notre PCUR absorbe au maximum ; pour cela trois échantillons sont préparés centrifuger à 6000 rpm/10min, filtrer le surnageant et faire le balayage par spectrophotomètre Visible ; λ_{\max} déterminée est de 425 nm.

L'efficacité de l'encapsulation est évaluée comme suit :

Faire l'analyse pour les deux ratios de la poudre de curcumine encapsulée avec trois répétitions pour chaque ratio à λ_{\max} de 425 nm ;

250mg de poudre sont dispersés dans 20ml d'eau distillée avec agitation et centrifuger à 4000g pendant 10min ; puis le filtre le surnageant à l'aide d'un filtre seringue en nylon 0.45 μm et analyser le filtrat par spectrophotomètre visible à λ de 425 nm.

Expression des résultats :

$$EE\% = (\text{DO de PCUR} - \text{DO de PCURE}) / \text{DO de PCUR}$$

III.1.3.7 Simulation in vitro de la dissolution des microcapsules

Prendre un volume d'une solution HCl 0.1N de pH =1.2 préalablement préparée, fixer la température à 37°C et garder sous agitation à 50 rpm (conditions du fluide gastrique) à laquelle on rajoute 2.25 g d'extrait ; après chaque demie heure, faire des prélèvements de 6 à 8ml de cette solution, centrifuger pendant 20min, filtrer avec des filtres seringues en nylon, puis réaliser des lectures spectrales à 425nm (Marcelo et al., 2012).

Après 2 heures, nous ajustons le pH de la solution à 6,8 avec un tampon phosphate 0.1N (condition du fluide intestinal) puis refaire les prélèvements et la lecture spectrale chaque demie heure.

Expression des résultats

Les résultats sont représentés sous forme de courbes de cinétiques des pourcentages de diffusion (D%). Le pourcentage de diffusion pour un temps tx est calculé comme suit :

$$D\% = (C_{\text{réelle}} / C_{\text{théorique}}) * 100$$

Soit $C_{\text{réelle}}$ la concentration de curcumine diffuse dans le milieu à un temps t

$C_{\text{théorique}}$ la concentration de curcumine théoriquement présente dans le milieu

IV.1.3.8 formulation d'une boisson fermentée au kéfir de lait et incorporation de la poudre de curcumine encapsulée**A/ Préparation de la boisson fermentée au kéfir de lait**

Dans un bocal propre et stérile, mettre un litre de lait de vache cru et 20g de grains de kéfir au lait montré dans la figure (19) et laisser fermenter pendant 24 à 48 heures à température ambiante. Une fois fermentée, le coagulum est filtré pour obtenir une boisson fermentée homogène et assez liquide



Figure 19 : aspect morphologique de grains de kéfir

Chapitre IV : matériels et méthodes

B/ Incorporation de la poudre de curcumine dans la boisson fermentée préparée

Peser la dose journalière admise à partir des deux échantillons de curcumine ; l'incorporer dans une petite quantité de cette boisson pour faciliter sa dissolution ; mélanger cette quantité avec le reste de la boisson fermentée ; ainsi, notre boisson fermentée supplémentée de curcumine est prête à l'utilisation.

IV.1.3.9 Analyse microbiologique de la boisson fermentée préparée

Au cours de la préparation de notre boisson fermentée au kéfir, nous avons utilisé à la base un lait de vache cru, pour cela, nous avons opté à une analyse microbiologique à la recherche de quelques germes de contamination fécale et hygiénique.

A/ Préparation des dilutions : (figure 20)

Travailler dans une zone aseptique

A partir de la solution mère (boisson fermentée), 1ml est introduit dans un tube stérile contenant 9ml d'eau physiologique stérile (dilution 1/10). La dilution 1/100 est préparée de la même façon à partir de la dilution 1/10. Procéder de la même manière pour obtenir la dilution 10^{-3} et 10^{-4} .

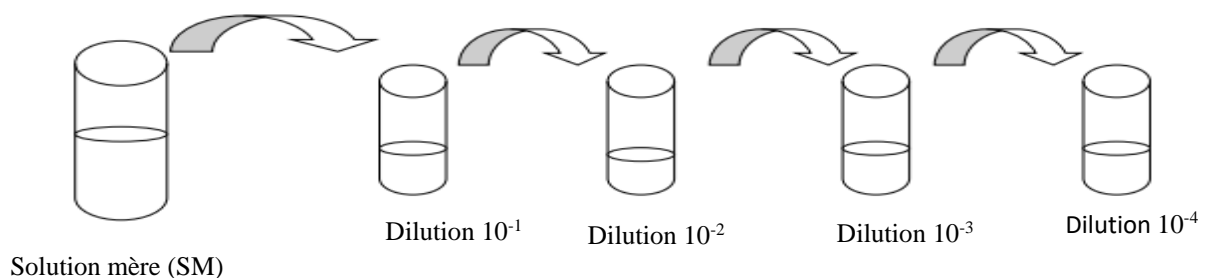


Figure 20 : Schéma récapitulatif de la préparation des dilutions

B/ Dénombrement de la flore totale mésophile aérobie

Le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile est un indicateur de qualité globale d'un lait ou produit laitier. Il est réalisé par dénombrement en masse en milieu de culture solide : la gélose nutritive ordinaire(GNO).

B.1/ Protocole de dénombrement

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale est réalisé selon la norme Française (NF V 08-011N et NF V 08-51).

Le comptage de colonies est effectué sur milieu solide après ensemencement par la SM et les dilutions décimales et incubation à 30°C.

Chapitre IV : matériels et méthodes

B.2/ Ensemencement et incubation.

1 ml de la solution mère et de chaque dilution sont déposés dans des boîtes de pétri stériles à raison de deux boîtes par dilution à l'aide d'une micro pipette avec embout stérile ; 15ml de milieu GNO sont coulés dans chaque boîte de Pétri ; l'inoculum est soigneusement mélangé au milieu de culture par des mouvements circulaires en forme de « 8 » sur une surface horizontale ; après solidification, les boîtes préparées sont incubées à 30°C pendant 72 heures.

B.3/ Lecture et interprétation

Selon la norme Française (XPV08-102), chaque boîte retenue devra contenir au plus 300 colonies et au moins 15 colonies. Le comptage est effectué à l'œil nu au terme de l'incubation. Le nombre de microorganismes par ml de produit est calculé à partir des boîtes retenues au niveau de deux dilutions successives.

B.4/ Expression des résultats $N = \text{Somme } C / (N_1 + 0.1N_2) * D * V$

C : la somme des colonies comptées sur les boîtes retenues ; N₁ : le nombre de boîtes retenues à la première dilution ; N₂ : le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution

D : le taux de dilution correspondant à la première dilution ; V : volume de l'inoculum (1ml).

C/ Recherche des coliformes totaux et fécaux

Les coliformes sont des Entérobactéries appartenant à différents genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *E. Coli*... que l'on retrouve fréquemment dans l'environnement, ainsi que dans l'intestin des mammifères dont l'Homme. Parmi ces différentes bactéries, *E. Coli* est très intéressante, car, elle est le seul coliforme totalement spécifique de l'intestin, c'est donc un témoin d'une contamination fécale, de plus, *E. Coli* est un germe relativement fragile, ne pouvant survivre longtemps dans l'environnement, d'où son intérêt ; sa présence dans un aliment, est un indice d'une contamination fécale récente et que d'autres pathogènes peuvent être présents.

C.1/ Protocole expérimental

La recherche et le dénombrement des coliformes fécaux sont réalisés selon la méthode décrite par ISO7251/2005, basée sur un test présomptif suivie d'un test confirmatif.

C.1.1/ Test présomptif : La recherche des coliformes fécaux s'effectue sur le milieu BCPL muni d'une cloche de Durham pour la mise en évidence du gaz produit.

A partir de chaque dilution préparée précédemment, un volume d'environ de 1ml est prélevé et ensemencé aseptiquement trois tubes de milieu BCPL. Les tubes sont alors incubés à 37°C

Chapitre IV : matériels et méthodes

pendant 48h. Les résultats positifs se traduisent par un virage du milieu au jaune et par production de gaz dans la cloche.

C.1.2/ Test confirmatif : test de Mackenzie

Les tubes de BCPL positifs (virage de couleur et gaz dans la cloche) feront l'objet d'un repiquage, sur un nouveau tube BCPL muni d'une cloche de Durham et sur un tube d'eau peptonée exempte d'indole, qui sont incubés à 44°C pendant 24h.

Après l'incubation, si les résultats sont positifs, quelques gouttes de réactif de Kovacs sont ajoutées au tube d'eau peptonée exempte d'indole qui se traduit par l'apparition d'un anneau rouge à la surface qu'on explique par la présence de *Escherichia coli*.

Ce test caractérise *Escherichia coli*.

D/ Recherche de *staphylococcus Aureus*

Staphylococcus Aureus est une bactérie Gram positif, aéro-anaérobie facultatif et doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies.

C'est une bactérie commensale de l'Homme, on la retrouve dans les cavités ORL à partir desquelles elle est disséminée en aérosols sur la peau, y compris les mains d'où l'intérêt de sa recherche en industrie alimentaire.

La présence de cette bactérie dans un aliment reflète sa contamination et est rendu impropre à la consommation. Pour s'y préserver, l'hygiène des opérateurs est irréprochable.

D.1/ Protocole expérimental

D.1.1/ L'enrichissement : Il se réalise sur le milieu liquide de Giolitti et Cantoni (GC) additionnée de quelques gouttes de tellurite de potassium ;

A partir de chaque dilution, ensemercer deux tubes de milieu Giolitti et Cantoni et ajouter une couche de l'huile de vaseline pour sélectionner les *Staphylococcus* par rapport au *Micrococcus* qui sont aérobies strictes, puis incuber à 37°C durant 48h ; Les résultats positifs se traduisent par le noircissement des tubes de Giolitti et Cantoni, qui sont dues à la réduction de tellurite en tellure noir qui révèle donc la croissance des staphylocoques.

D.1.2/ L'isolement :

A partir des tubes de bouillons GC positifs, ensemercer à l'aide d'une anse de platine stérile en stries de la gélose Chapman incubée à 37°C/ 24 h (Guiraud, 2003) ;

Expression des résultats ;

Chapitre IV : matériels et méthodes

Sur le milieu Chapman : Les colonies de staphylococcus aureus apparaissent jaune dorées, sont dues à la fermentation de mannitol et un virage de rouge ou jaune de l'indicateur coloré (rouge de phénol).

L'identification est effectuée en réalisant une coloration de Gram, des tests de recherche de la catalase et de la coagulase.

E/ Recherche de *Pseudomonas Aeruginosa*

E.1/ Protocole expérimental

A partir de chaque dilution, ensemercer deux boites de pétri coulées de gélose BCP et laissées refroidies par stries avec une anse de platine dans une zone stérile ; mettre à l'étuve pour incubation à 37°C pendant 24 heures ;

Les résultats positifs se traduisent par des colonies caractéristiques par leurs formes et leurs odeurs.

III.1.3.10 Evaluation sensorielle de la boisson fermentée additionnée de curcumine

L'objectif de notre travail à travers cette évaluation sensorielle est d'avoir un petit aperçu sur l'acceptabilité de notre produit par le consommateur et connaître l'échantillon qui présente les meilleurs caractéristiques organoleptiques (couleur, flaveur, saveur ...) par un jury de dégustation hédonique et expert et essayer de porter des corrections dans le futur.

L'évaluation sensorielle a été réalisée au niveau du laboratoire d'analyse sensorielle, de l'université de Bejaia (Mai 2019),

Le laboratoire est composé d'une salle de préparation et d'une salle d'évaluation. Cette dernière a été bien nettoyée et équipée de postes de dégustation qui sont mis à la disposition des dégustateurs. A cet effet Deux types d'analyses ont été effectuées :

A/ Une analyse sensorielle : étude qualitative et quantitative, son but est de décrire la nature des perceptions et de quantifier leur intensité, de manière à donner une carte d'identité précise du produit, reproductible et compréhensible par tous., elle est effectuée par à un jury qualifié et entraîné, afin d'évaluer les caractéristiques organoleptiques des échantillons, dont nous avons fait appel à un panel expert constitué de 11 jurys (enseignants et travailleurs), formés et entraînés à l'évaluation sensorielle au sein de l'Université d'Abderrahmane MIRA de Bejaia.

B/ Une analyse hédonique : a comme objectif de déterminer quelles sont les préférences des consommateurs naïfs des différents échantillons de lait fermenté dont nous avons fait appel à un panel de consommateurs constitué de 142 individus naïfs de différentes tranches d'âge.

Chapitre IV : matériels et méthodes

Quatre échantillons à savoir :

Produit A : boisson fermentée au kéfir au lait

Produit B : boisson fermentée au kéfir au lait supplémenté de poudre de curcumine

Produit C : boisson fermentée au kéfir au lait supplémenté de poudre de curcumine encapsulée

Produit D : lait fermenté de type Lben de marque Soummam au bifidus actif

Sont présentés pour chaque dégustateur avec un questionnaire à remplir (voir annexe).

C/ Expression des résultats

Les données rassemblées à partir des questionnaires distribués aux juges, ont été traitées en utilisant le logiciel XL STAT **version 2014.5.03**, qui est un outil complet d'analyse de données et de statistiques, impliqués dans les études de marketing et l'analyse du comportement des consommateurs. Ce logiciel utilise Microsoft Excel comme une interface de récupération des données et d'affichage des résultats. (**Addinsoft, 2013**).

Les principales fonctionnalités de ce logiciel sont : Caractérisation de produits, Analyse en composante principale (ACP), Classification ascendante hiérarchique (CAH) et Préférence MAPPING (PREFMAP).

Résultats et discussion

V.1 Caractéristiques physico-chimiques de la PCUMA

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau (IX)

Tableau IX : caractéristiques physico-chimiques de la poudre de curcuma

Paramètres	Valeurs obtenues
Teneur en eau (%)	11 ±1.76
pH	6,21
Acidité titrable(meq/100g)	0,3
Teneur en cendre(%)	7,27±0.04
Taux de solides solubles	19.29±0.12

V.1.1 La teneur en eau

La teneur en eau est un indice de qualité, utilisé essentiellement pour estimer le degrés d'humidité qui conditionne la conservation du produit.

Le taux d'humidité de la PCUMA étudiée est de 11%, une valeur très proche de celle enregistrée par Shahid (2016) qui est de 11.36%. Cette valeur est relativement faible, assurant ainsi à la poudre une plus grande stabilité et par conséquent un stockage assez long.

V.1.2 Le pH

Le potentiel hydrogène est l'un des critères physicochimiques les plus importants dans l'étude d'une matrice quelconque. Le pH influence sur les interactions intrinsèques et extrinsèques du produit, ainsi la prolifération des microorganismes.

Nos résultats montrent un pH de 6,21 qui est un pH proche de la neutralité, par conséquent, une concentration en ion H^+ relativement faible.

V.1.3 L'acidité titrable

L'acidité est la concentration totale en substances susceptibles de libérer des ions H^+ dans l'eau. L'acidité titrable calculée pour la PCUMA est de 0,3 meq/100g, cette valeur nous renseigne que notre poudre ne contient pas une quantité assez importante de substances susceptibles de libérer les ions H^+ , ce qui explique la valeur de pH enregistré (6.2)

L'acidité titrable est condition de plusieurs facteurs à titre d'exemple, la variété, le stade de maturation et la méthode de dosage de l'acidité.

Résultats et discussion

V.1.4 Teneur en cendres

La teneur en cendres représente la quantité globale en minéraux présents dans la PCUMA qui est de $7,27 \pm 0,04$ %, cette valeur se trouve dans l'intervalle rapporté par Tchiegang et Mbougoung (2005) qui ont trouvé des valeurs entre 2% et 9%. Cette richesse en cendres est fortement liée à la composition du sol de cultivation et à la richesse de l'eau d'irrigation en minéraux.

Cette richesse en cendres montre que notre épice (*curcuma longa*) étudiée pourrait être une source alimentaire potentielle de minéraux.

V.1.5 Taux de solides solubles

Le taux de solides solubles nous renseigne sur la qualité de la poudre obtenue après séchage, il reflète la concentration en composés solubles d'une solution aqueuse. La PCUMA étudiée dans notre travail présente un TSS de $19,27\% \pm 0,12$, une valeur qui explique la non richesse de la poudre de curcuma en solides solubles, par conséquent la non solubilité de la poudre de curcuma dans l'eau.

V.2 Rendement de l'extraction de la PCUR à partir de la PCUMA

La macération de la poudre de curcuma dans le méthanol pendant 24 heures nous a permis 28 g de poudre de curcumine, soit un rendement de 2.5%. Ce résultat reste tout de même proche à celui obtenu par Naz et al., (2010) qui ont extrait 2.68% de polyphénols par Soxhlet en utilisant l'éthanol comme solvant, en revanche, Cheikh Ali, (2012) a eu un meilleur rendement de l'ordre de 7.7% lors de son travail effectué sur *Aframomum sceptrum* (famille des zingibéracées) par Soxhlet en utilisant le méthanol comme solvant Cette différence pourrait être due, d'une part, à la méthode d'extraction utilisée, et d'autre part à certains paramètres qui peuvent influencer le taux d'extraction, à savoir : le solvant utilisé (l'éthanol, le méthanol, l'acétone et le tumerol sont les meilleurs extracteurs pour le Curcuma), le temps de contact, la granulométrie (la finesse de la poudre conditionne la qualité de l'extraction), le rapport extrait / solvant, la durée d'extraction et les conditions de stockage de la poudre végétale (Telli et al., 2010).

V. 3 Séparation des composés extraits à partir de la poudre de curcuma par chromatographie sur couche mince

La CCM (figure 21) révèle une seule zone sous la lumière du jour (figure A) et quatre zones différentes sous la lampe UV (Figure B) et après pulvérisation chimique avec de la vanilline sulfurique à 1% (Figure C). La première tâche présente un R_f d'environ 0.24 cm. Les trois autres taches ont un R_f d'environ 0.5cm, 0.61cm et 0.7cm.

Résultats et discussion



Figure A

Figure B

Figure C

Figure 21 : photographies représentatives des différents spots obtenus par CCM

L'identification de notre extrait brut de curcumine par CCM est faite par comparaison à deux standards : Curcumine 99 PLUS qui est une curcumine naturelle utilisée comme complément alimentaire et une curcumine de pureté de 45% (flexofytol), qui ont enregistré un rapport frontal de 0.24 tous les deux.

D'après Still et al (1978), chaque substance est caractérisée par son rapport frontal tenant compte du solvant utilisé, les figures (A), (B) et (C) montrent une migration à la même hauteur du premier spot de l'extrait brut par rapport aux deux standards utilisés, ce qui confirme que le rapport frontal de 0.24 cm correspond à la curcumine qui est le composé majoritaire du *curcuma longa* L.

La présence d'autres rapports frontaux dans notre échantillon indique que notre extrait de curcumine n'est pas pur, mais nous n'avons pas pu identifier ces molécules par faute de disponibilité d'autres standards.

V.4 Evaluation de deux activités biologiques de l'extrait de curcumine

V.4.1 L'activité antioxydante

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. L'objectif de ce travail est d'apprécier et d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait de curcumine obtenu à partir d'une extraction par macération d'une poudre de curcuma longa L en choisissant la méthode de piégeage du radical DPPH par comparaison à deux standards, à savoir l' α tocophérol et le troloxe en calculant les pourcentages d'inhibition (voir tableau IX annexe 5) et les IC50 de chaque extrait.

L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH, à 517 nm, en fonction des concentrations de l'antioxydant ajouté comme le montre la figure (22), cette diminution est due à sa réduction à une forme non radicalaire (DPPH-H) par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présents dans notre extrait, plus la concentration en extrait augmente, moins est l'absorbance du radical DPPH dans le milieu.

Résultats et discussion

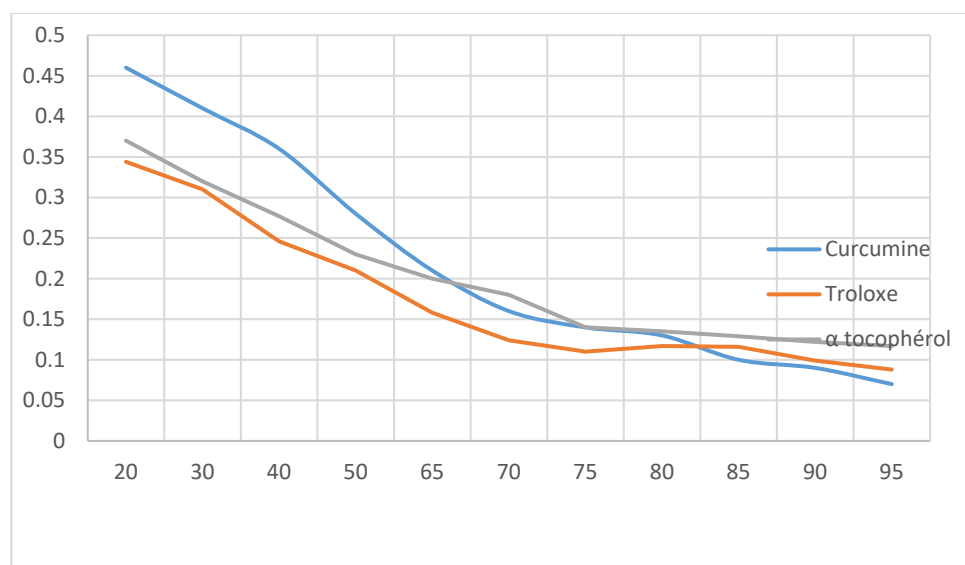


Figure 22 : Variation de l'absorbance de DPPH en fonction de la concentration de l'extrait de curcumine testé

Les résultats obtenus de l'absorbance en fonction des concentrations, nous ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition (I%) en fonction de la concentration (tableau VIII annexe 6).

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les trois extraits étudiés possèdent une activité antiradicalaire concentration dépendante jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'inhibition presque totale du DPPH• présent dans le milieu réactionnel. La curcumine a montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH le plus important par rapport aux deux standard avec un pourcentage d'inhibition de 87% contre un pourcentage d'inhibition de 84% et de 78.85% pour le troloxe et le α tocophérol respectivement pour une même concentration de 0.11 g/ml.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire comme le montre la figure(23)

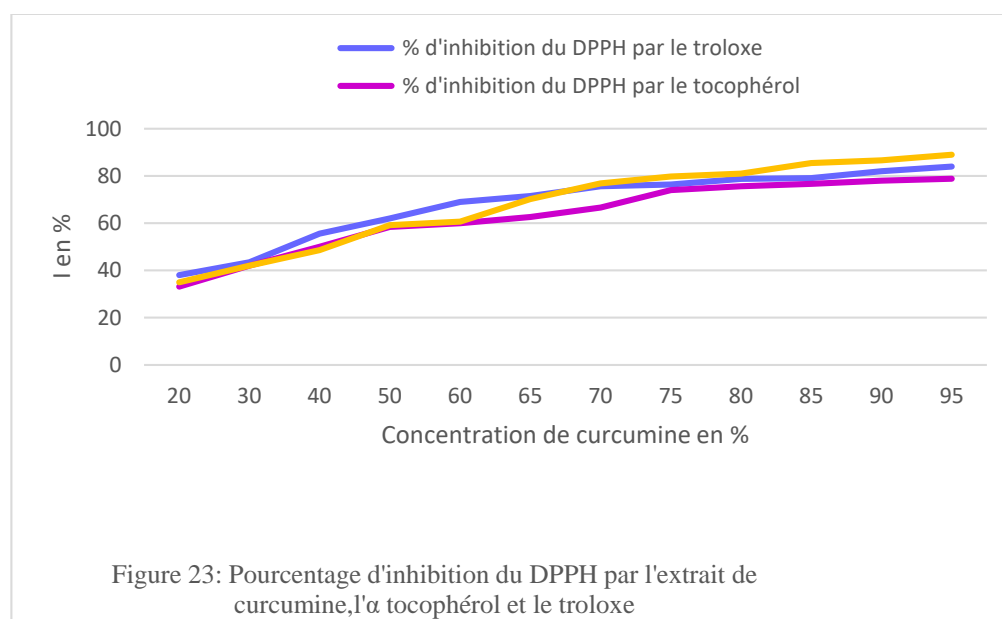
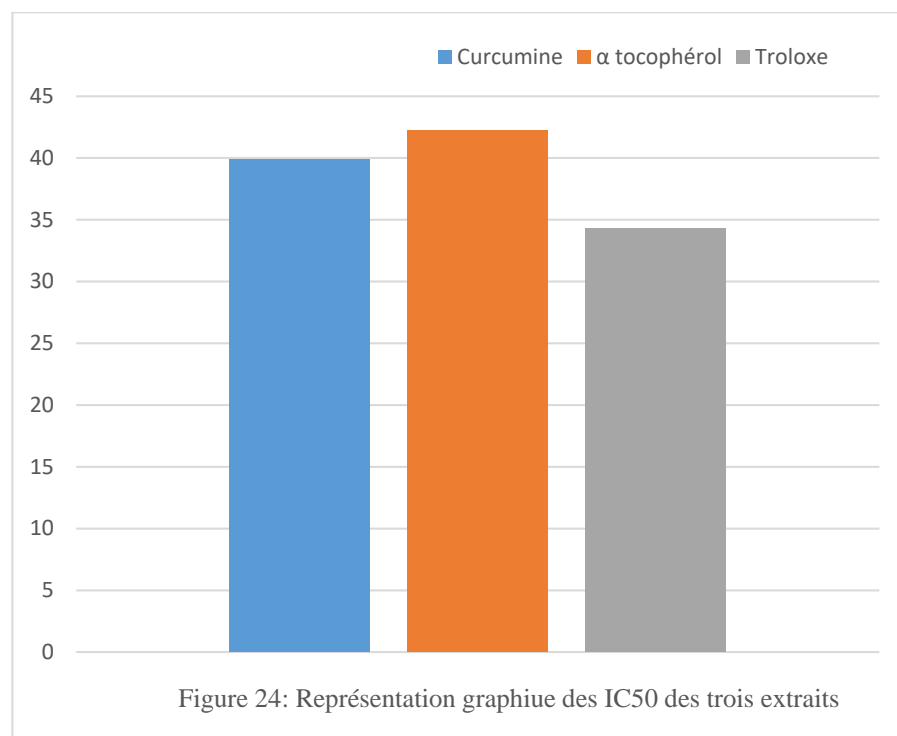


Figure 23: Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de curcumine, l'α-tocophérol et le troloxe

Résultats et discussion

A partir de ces courbes, nous pouvons déterminer les valeurs d'IC50 de chaque extrait qui sont inversement proportionnelles avec l'activité antioxydante d'un extrait quelconque ; plus l'IC50 est élevé, moins est l'activité antioxydante et inversement. Les valeurs des concentrations efficaces sont rapportées dans la figure(24)



Ainsi, l'examen des figures laisse constater que l'extrait de curcumine possède une activité antioxydante très importante avec une IC50 de 39.87% contre une IC50 de 42.25% et de 34.30% pour l'α tocophérol et le troloxe respectivement.

L'activité antiradicalaire de la curcumine est nettement plus importante que celle de l'α tocophérol et est très proche de celle du troloxe, ceci se traduit par la valeur de son IC50.

La capacité antioxydante des extraits de plantes est largement dépendante de la composition de ces extraits ainsi que les conditions de manipulation des tests in vitro. (Wong et Koh, 2006). L'activité antioxydante de l'extrait de curcumine pourrait être liée à sa richesse en polyphénols, les travaux de Tacouri et al (2013) sur les extraits cannelle, fenouil, ail, curcuma et coriandre., ainsi que les travaux de Shiney et Ganesh, (2012) et ceux de Shamsuddeen (2009) sur le poivre noir, clou de girofle et gingembre soulignent la richesse des épices décrites en composés phénoliques. La complexité des extraits bruts en substances polyphénoliques et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydante a été signalée par Vermerris et Nicholson, (2006). Boland et Tenhave ont postulé en 1947, que les réactions selon lesquelles les composés phénoliques interfèrent avec l'oxydation des lipides en cédant leurs hydrogènes aux radicaux lipidiques, puis entrent en compétition avec les

Résultats et discussion

réactions de propagation (Shahidi et Naczk, 2004). Les études de Wong et *al.*, (2006) ; Tawaha et al., 2007 ; Perez et *al.*, 2007 sur le cumin ont montré que le coefficient de corrélation entre la teneur des extraits du cumin en polyphénols et l'activité anti-oxydante était fortement significative, indiquant que 81% de la capacité antioxydante d'extraits, soit due à la contribution des composés phénoliques. Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité antioxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas tous les antioxydants (Tawaha et al. 2007).

V.4.2 L'activité antibactérienne

Les résultats obtenus résumés sous forme d'histogramme (figure 25) ont montré que la meilleure activité antibactérienne de notre extrait de curcumine est enregistrée pour *E. Coli* ATCC 4157 où la zone d'inhibition est entre (8 à 16) mm de diamètre avec un maximum d'activité à une concentration de curcumine de 0.001g/ml, d'après (Zeghad., 2008), la zone d'inhibition d'*E- Coli* ATCC 2592 varie de (8 à 18) mm, ce qui rejoint nos résultats.

L'activité antibactérienne de la curcumine envers *Enterococcus Faecalis* est meilleure à la concentration 0.1 g/ml avec une zone d'inhibition de 14mm.

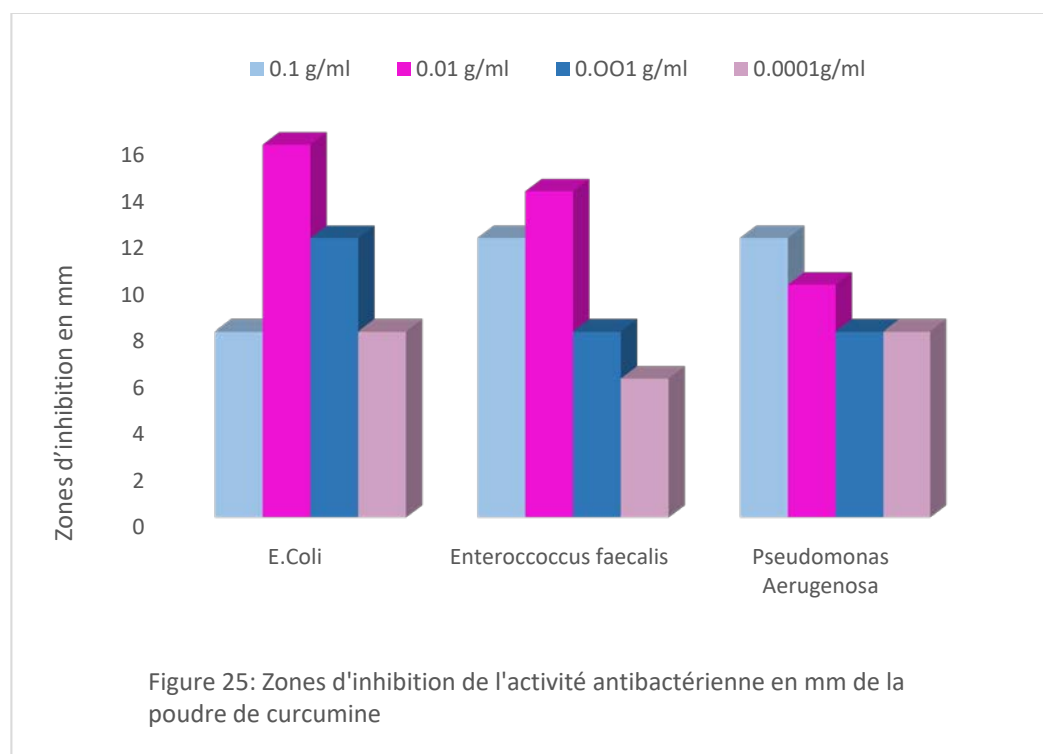
Pour *Pseudomonas Aerugenosa*, la zone d'inhibition la plus grande est obtenue à une concentration de 0.10001g/ml avec un diamètre de la zone d'inhibition de 12mm, ce qui démontre la sensibilité de ces souches à notre extrait, alors que la littérature parle de la forte résistance de *Pseudomonas*.

La comparaison entre l'effet antibactérien contre les trois souches montre une plus grande sensibilité de *E. Coli* ATCC 4157, puis vient *Enterococcus faecalis* et en dernier *Pseudomonas Aerugenosa* qui est connu pour sa résistance, ce qui confère un intérêt prometteux pour ce principe actif.

D'après le tableau (IV annexe 6) proposé par Ponce et al, (2003), nous pouvons conclure que *E.Coli* ATCC 4157 est très sensible (++) vis-à-vis de notre extrait de curcumine à une concentration de 0.001g/ml ;

Enterococcus Faecalis et *Pseudomonas Aerugenosa* présentent le même degré de sensibilité (sensible +) pour une concentration de 0.1g/ml.

Résultats et discussion



V.5 Evaluation de la microencapsulation de la poudre de curcumine

L'encapsulation par coacervation complexe réalisée au niveau de notre laboratoire nous a permis de voir de visu la formation des deux phases décrites dans la bibliographie (chapitre II) : la phase concentrée qui forme le coacervat et le surnageant qui forme la phase d'équilibre, qui se forment au fur et à mesure de l'abaissement du pH sont bien visualisé comme le montre les figures (26)



Ratio
(0.5 :1)
Ratio
(0.8 :1)

Figure 26 Image représentative de la séparation des deux phases lors de la coacervation complexe

Résultats et discussion

Les photographies qui suivent (Figure 27) montrent les trois poudres obtenues après lyophilisation à savoir les capsules vides (b), la PCURE avec le ratio (0.5 :1) pour la photo (c) et la poudre de curcumine encapsulée avec le ratio (0.8 :1) pour la photo (d).

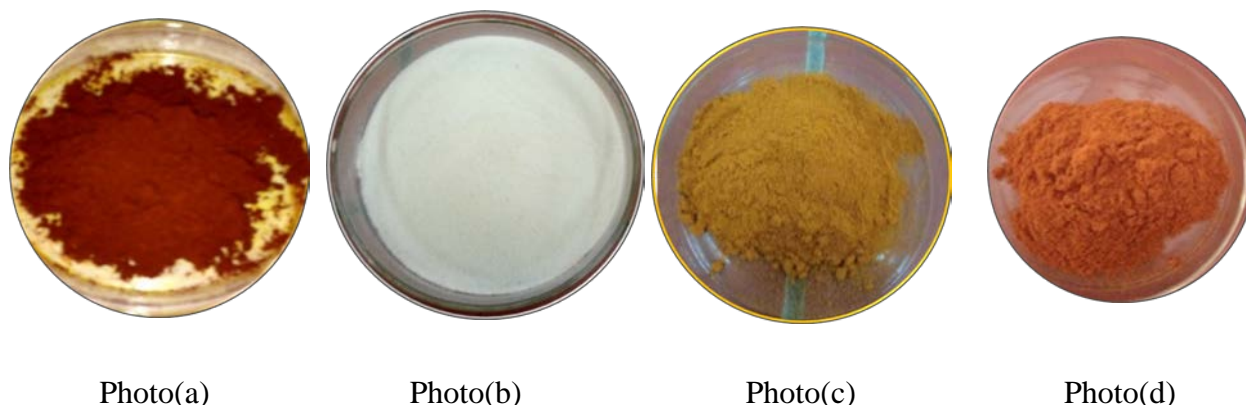


Figure 27: photographies originales des différentes microcapsules élaborées

Par comparaison à la photo(a) qui représente la poudre de curcumine brute extraite de la poudre de curcuma, nous observons une nette différence de couleur. La poudre(a) est de couleur marron rougeâtre foncé, cependant, l'encapsulation par coacervation complexe a contribué à la diminution de l'intensité de la couleur qui est un des objectifs principaux de l'encapsulation des principes actifs comme le montre les poudres(c) de couleur jaune et (d) de couleur jaune orange un peu plus intense. La différence d'intensité de couleur entre la poudre (c) et (d) pourrait être due au rapport matière active/matériau d'encapsulation et la concentration de curcumine incorporée au système. Le tableau (IX) résume l'ensemble des résultats obtenus effectués pour évaluer la réussite l'encapsulation

Tableau IX : Récapitulation des résultats de l'évaluation de la microencapsulation

Tests	Résultats
Test de solubilité des capsules vides	46,65%±0.21
Calcul du rendement de l'encapsulation de la curcumine	80%
Efficacité de l'encapsulation ratio(0 ,5 - 1)	90 ,19%
Efficacité de l'encapsulation ratio(0 ,8 - 1)	86,06%

Résultats et discussion

V.5.1 Test de solubilité (S%) des microcapsules vides

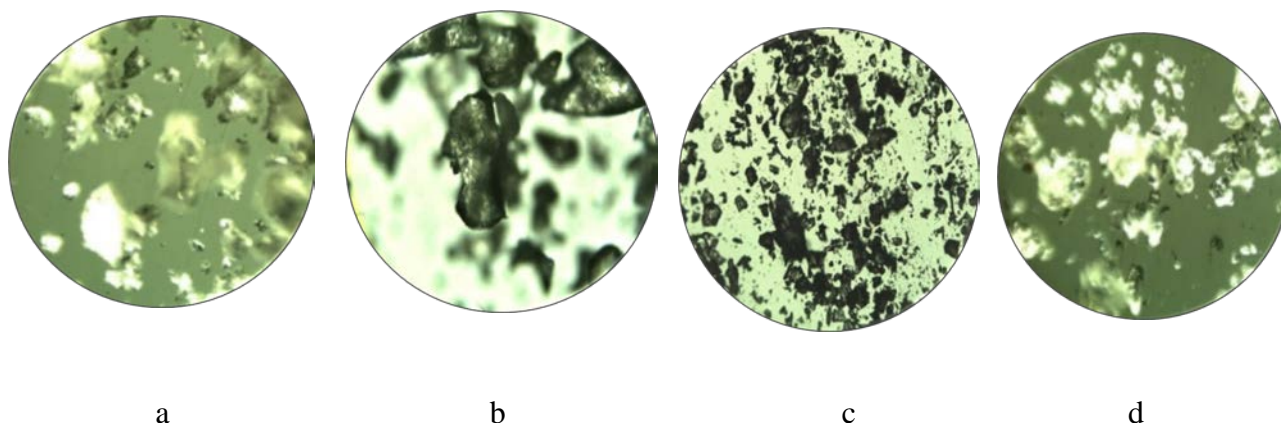
L'estimation de la solubilité des capsules vides nous renseigne sur leur stabilité en milieu aqueux, qui conditionne la diffusion du principe actif encapsulé dans le milieu. La solubilité des capsules préparées est estimée à $46,65\% \pm 0,21$.

Ce paramètre est influencé par la température et le pH qui affectent l'intégrité du complexe.

V.5.2 Evaluation par microscope optique

En théorie, il a été montré que l'augmentation du ratio matière active/matériaux enrobant affecte la morphologie des microcapsules, augmente leur taille et leur charge qui entraîne une diminution de l'épaisseur de la membrane, ce qui augmente la vitesse de libération de la matière encapsulée (Dong et al. 2011).

L'observation microscopique comme le montre la figure (28) montre que les capsules vides apparaissent sous forme de cristaux avec une morphologie irrégulière (figure a, b, c, d), alors que la PCURE montre un aspect d'agrégats de cristaux vitreux, ayant un cœur opaque (figure e, f, g, h), de contours plus ou moins épais pour les figures (e : grossissement X 4) et (f : grossissement X10) qui représente le ratio (0.5 :1) et moins épais pour les figures (g : grossissement 4) et (h :V) qui représentent le ratio (0.8 :1), mais les microparticules du ratio (0.8 :1) paraissent plus grosses que celles du ratio (0.5 :1).



Résultats et discussion

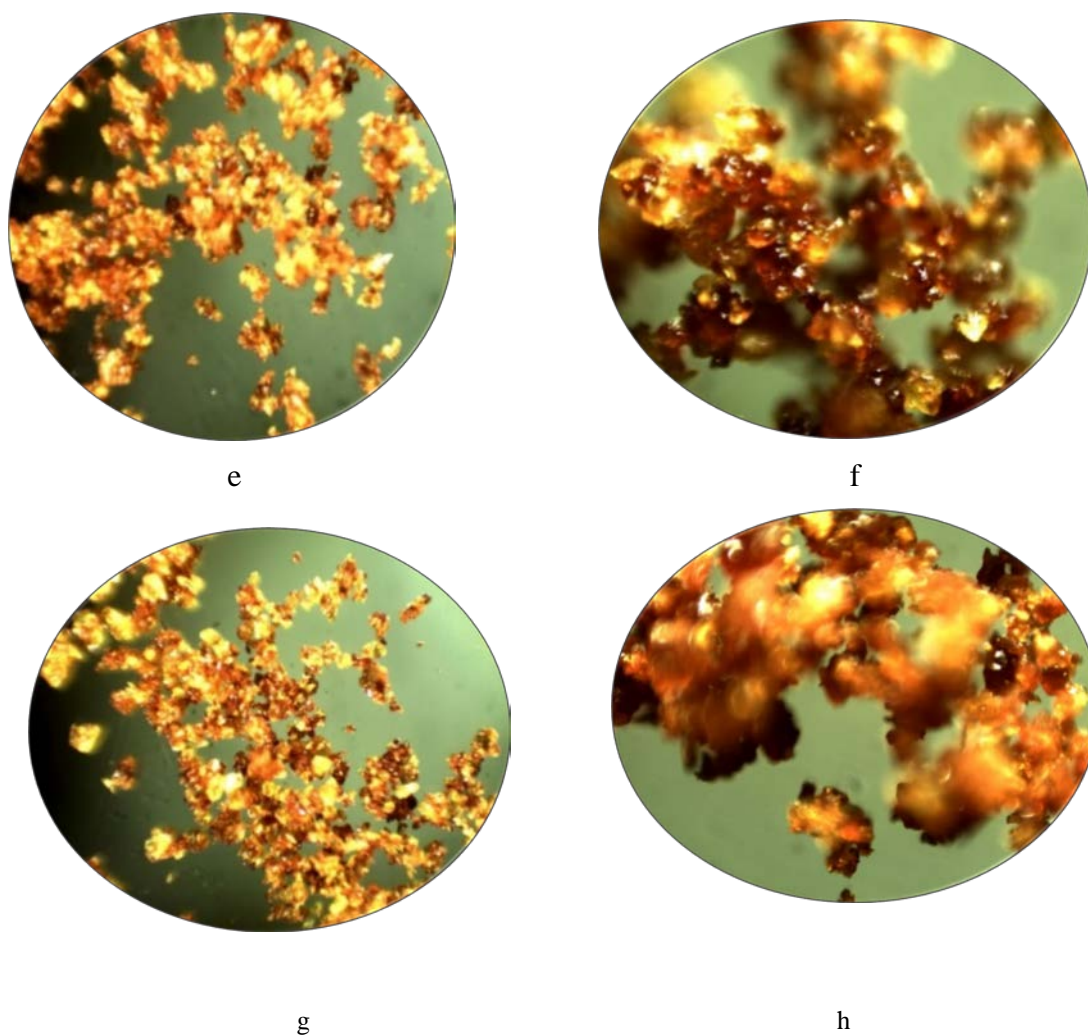
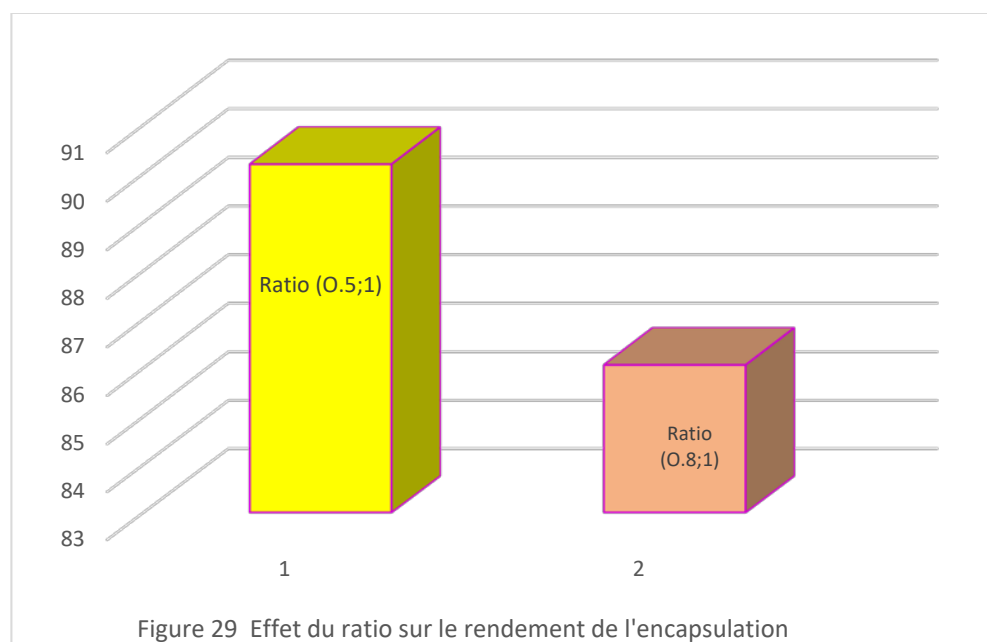


Figure 28 : Photographies originales d'expérimentation réalisées sur les microcapsules vides et la poudre de curcumine encapsulée avec les deux ratios : agrégats de capsules

V.5.3 Evaluation du rendement de l'encapsulation et détermination de son efficacité (EE%)

D'après Jun'xia et al. (2011), la quantité de matière active incorporée au système affecte l'efficacité d'encapsulation et son rendement. Lorsque le ratio matière active/matériaux enrobant est insuffisant, le rendement d'encapsulation est faible car les polymères en excès restent en solution [Siow et Ong 2013]. D'après Lamprecht et al. (2001), l'augmentation du ratio matière active/matériaux enrobant entraîne une diminution du taux d'encapsulation. Les rendements de l'encapsulation que nous avons obtenus enregistrés dans la figure (29), qui sont de 90.19% et 86.06% pour les ratio matière active/matériaux enrobant de (0,5 : 1) et (0,8 :1) respectivement, sont en parfaite adéquation avec ce qui est décrit dans les travaux de Lamprecht et al. (2001), nous remarquons que le ratio (0.5 :1) a donné une efficacité d'encapsulation meilleure que le ratio (0.8 :1), par conséquent, l'effet du rapport matière active/matériaux enrobant est un paramètre important à prendre en considération lors de la réalisation d'une encapsulation par coacervation complexe

Résultats et discussion



V.6 Simulation *in vitro* de la dissolution des microcapsules de curcumine

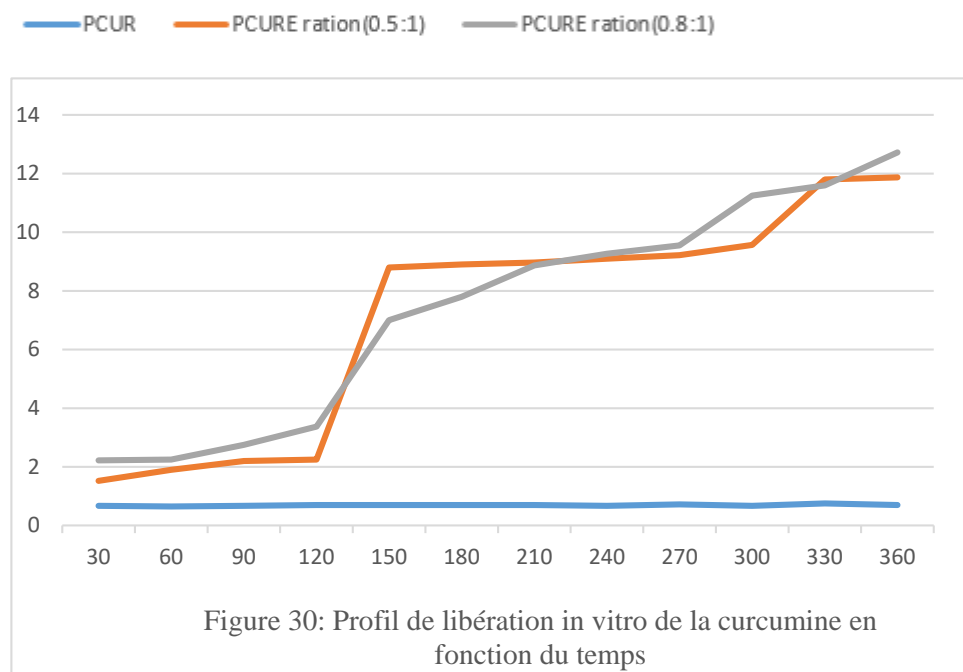
Le but de cette étude est d'évaluer la cinétique de libération *in vitro* du curcuma contenue dans les microcapsules de mélange de polymères gélatine/ carraghenane avec deux ratios (0.5 :1) et (0.8 :1) dans les milieux physiologiques (gastrique à pH =1.2 et intestinal à pH=6.8) simulés et d'étudier la dissolution de ces capsules dans ces milieux en fonction du temps pour pouvoir apprécier l'amélioration de la solubilité de la curcumine qui est un composé hydrophobe et l'effet retard de libération.

L'étude de la dissolution effectuée rapportée sous forme de courbes de cinétique de libération de la curcumine dans le milieu réactionnel (figure 30) montre que les microparticules du ratio (0.5 :1) dans le milieu gastrique à pH=1,2 libère des concentrations négligeables de l'ordre de $1.52 \cdot 10^{-5}$ mg/ml après 30 min à $2.25 \cdot 10^{-5}$ mg/ml après deux heures dans le milieu, mais, nous remarquons que la solubilité de la curcumine est améliorée par comparaison aux résultats de dissolution obtenue pour la curcumine non encapsulée avec une concentration d'environ $0.7 \cdot 10^{-5}$ mg/ml enregistrée à partir de la première demie heure, puis cette valeur stagne tout le long de l'analyse.

Les mêmes variations sont observées pour le ratio (0.8 :1), mais avec des concentrations plus élevées de $2.22 \cdot 10^{-5}$ mg/ml à $3.37 \cdot 10^{-5}$ mg/ml en fin de la phase gastrique par rapport au premier ratio.

Cette différence nous laisse conclure que le ratio (0.5 :1) est plus stable que le ratio (0.8 :1) en milieu acide.

Résultats et discussion



Lors du changement des conditions du milieu (conditions du fluide intestinal à pH = 6.8), la concentration libérée de curcumine est de $7 \cdot 10^{-5}$ mg/ml après la première demie heure pour le ratio (0.5 :1) et augmente jusqu'à atteindre une concentration de $11.87 \cdot 10^{-5}$ mg/ml V après 6 heures. Nous pouvons constater que la quantité de curcumine est libérée en plus grande quantité en milieu intestinal dès la première demie heure et la libération du principe actif continu même après 6 heures, ce qui confirme l'effet retard et prolongé de libération, par conséquent une amélioration de la biodisponibilité de la curcumine qui présente un des principaux objectifs de l'encapsulation.

En résumé on peut dire que les polymères jouent un rôle de protecteur du principe actif dans le milieu gastrique

Le comportement des microparticules de curcumine obtenues à partir des mélanges polymères gélatine/ carraghenane avec deux ratios étudié in vitro dans deux milieux physiologiques, nous permet de conclure que les microparticules avaient un profil de libération différents dans les mêmes mélanges de polymère pour les mêmes conditions opératoires, une remarque importante pour conclure que le rapport matière active/matériau d'enrobage et leur concentration dans le milieu affecte l'efficacité de la dissolution et de la libération du principe actif . Nous avons également observé qu'avec les deux ratios, nous avons pu améliorer la dissolution de la curcumine dans le milieu 16 fois.

V.7 Analyse microbiologique de la boisson fermentée au kéfir de lait

Le tableau X résume les résultats des analyses microbiologiques effectuées

Résultats et discussion

Tableau X : Résultats de l'analyse microbiologique de la boisson fermentée

Flore recherchée	Résultats	Norme JORA 2017
Flore totale mésophile aérobie	9*10 ² UFC/ml	10 ⁵
Coliformes totaux	11*10 ² UFC/ml	10 ³
<i>E. Coli</i>	Absence	Absence
<i>staphylococcus Aureus</i>	Absence	Absence
<i>Pseudomonas Aerugenosa</i>	Absence	Absence

Par comparaison des résultats obtenus sus-cités dans le tableau (X) aux normes décrites dans le journal officiel de 2017, nous pouvons juger notre produit comme propre sur le plan qualité hygiénique étant donné que notre étude a porté seulement sur les microorganismes indicateurs de contamination fécale et hygiénique.

V.8 Evaluation sensorielle

L'évaluation sensorielle est une technique scientifique qui permet non seulement de valider la conformité sensorielle des produits alimentaires, mais également de connaître la satisfaction du consommateur, c'est pour cette raison que les industries utilisent cette analyse pour répondre davantage à l'attente des consommateurs.

Avant d'effectuer les différents tests sur XL STAT, un plan d'expérience a été réalisé pour chacune des catégories (analyse sensorielle et analyse hédonique) une fois les données des jurys experts et des consommateurs naïfs sont rapportées sur le logiciel.

V.8.1 Caractérisation produit

Il s'agit d'identifier les descripteurs qui discriminent le mieux les produits et de déterminer leurs caractéristiques en fonction des résultats du panel expert.

La figure ci-dessous permet d'afficher les descripteurs ordonnés de celui qui a le plus fort pouvoir discriminant sur le produit à celui qui a le plus faible pouvoir (Figure 31).

Résultats et discussion

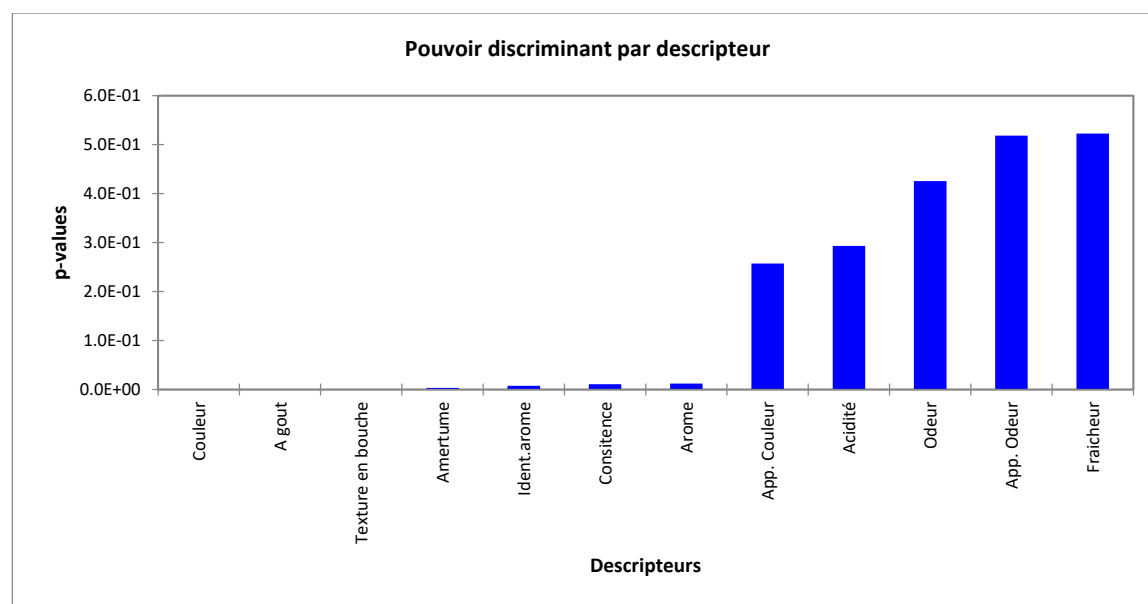


Figure 31 : Pouvoir discriminant par descripteur

Le graphe précédant rassemble les descripteurs ordonnés du plus discriminant au moins discriminant (de gauche à droite) sur les 4 échantillons de notre boisson fermentée. Il permet de visualiser que l'intensité de la couleur, du goût, de la texture en bouche, suivies de l'amertume, de la consistance et de l'intensité de l'arôme sont les descripteurs les plus discriminants donc ces caractéristiques sont différentes d'un échantillon à un autre. ; cela peut être expliqué par l'ajout de la curcumine dans certains de ces échantillons (B, C) et pas dans les échantillons A et D.

Cependant les caractéristiques (appréciation de la couleur, de l'acidité, de l'odeur et de la fraîcheur) sont les moins discriminantes, donc il n'y a pas une grande différence entre les échantillons concernant ces caractéristiques.

V.8.2 Coefficients des modèles

Dans la figure (32) sont affichés, pour chaque descripteur et pour chaque produit, les coefficients du modèle sélectionné :

Cette figure permet de voir en un coup d'œil ce qui définit les produits. En bleu, on voit les caractéristiques dont le coefficient est significativement positif et en rouge celles dont le coefficient est significativement négatif, en blanc les caractéristiques dont les coefficients ne sont pas significatifs

➤ **Produit A** : En blanc, sont affichées les caractéristiques du produit qui ont des notes proches de la moyenne que les juges ont données, ces caractéristiques sont : l'odeur, acidité, fraîcheur, texture en bouche et consistance.

Résultats et discussion

En rouge, sont affichées les caractéristiques ayant des notes inférieures à la moyenne, donc l'intensité de l'arôme, arrière-gout et amertume du produit A sont faibles.

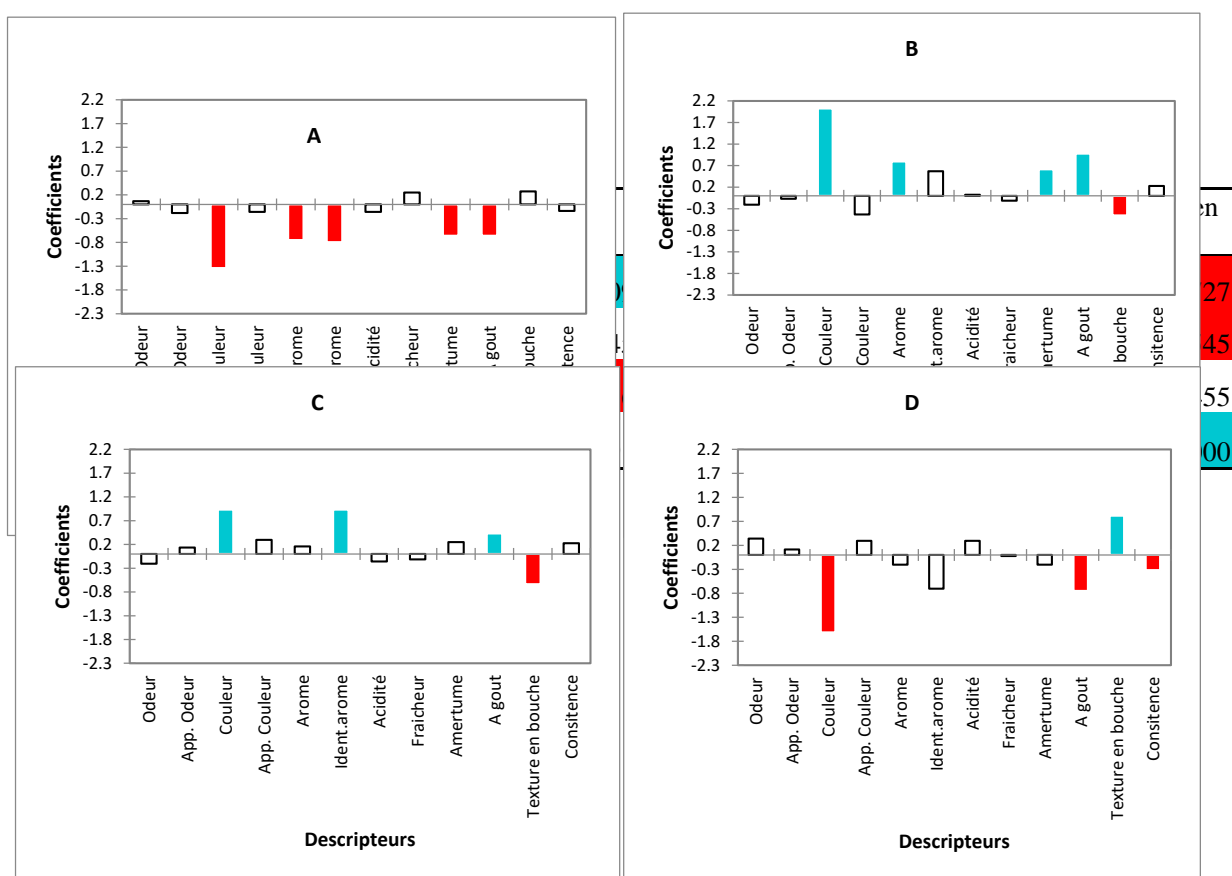
➤ **Produit B** : En bleu, sont affichées les caractéristiques dont le coefficient est significativement positif, donc la couleur, l'arôme, l'amertume et l'arrière-gout du produit B sont intenses. Les autres caractéristiques sont proches de la moyenne des notes que les juges ont données. Sauf pour la texture en bouche, ce produit a une texture ni lisse ni granuleuse.

➤ **Produit C** : Caractérisé par une couleur jaune clair et une intensité moyenne de l'arrière-gout et une texture en bouche granuleuse. Les autres caractéristiques sont proches de la moyenne des notes que les juges ont données.

➤ **Produit D** : D'après les moyennes des notes attribuées par les juges, ce produit est caractérisé par une couleur blanche, consistance liquide, texture en bouche lisse et absence de l'arrière-gout.

V.8.3 Moyennes ajustées par produit

Ce test permet de faire ressortir les moyennes lorsque l'on croise les différents produits et les caractéristiques. On voit donc en bleu les moyennes qui sont significativement plus grandes que la moyenne globale et en rouge celles qui sont significativement plus petites que la moyenne globale. En blanc, les moyennes qui ne sont pas significativement plus grandes ou plus petites que la moyenne globale (Tableau X)



Résultats et discussion

Figure 32 : Coefficient des modèles des quatre échantillons de boisson fermentée A, B, C et D.

V.8. Cartographie externe de préférence (PREFMAP) :

Cette méthode permet de relier les préférences exprimées par les consommateurs aux caractéristiques physico-chimiques des produits. Cette approche est essentielle car ce n'est que sur cette base que les équipes marketing pourront adapter les produits aux goûts des consommateurs. La préférence MAPPING permet de visualiser sur une même représentation graphique (en deux ou trois dimensions) d'une part des objets, et d'autre part des indications montrant le niveau de préférence de juges expert (ACP) en certains points de l'espace de représentation.

V.8.5 Analyse en composantes principales (ACP)

L'ACP (figure 33) peut être considérée comme une méthode de projection qui permet de projeter les observations, depuis l'espace à p dimensions des p variables vers un espace à k dimensions, ($k < p$) tel qu'un maximum d'information soit conservé (l'information est ici mesurée à travers la variance totale du nuage de points) sur les premières dimensions. On pourra représenter les observations sur un graphique à 2 ou 3 dimensions, facilitant ainsi grandement l'interprétation (JOLLIFFE, 2002).

La carte suivante permet de représenter les corrélations entre les variables et les facteurs par l'ACP :

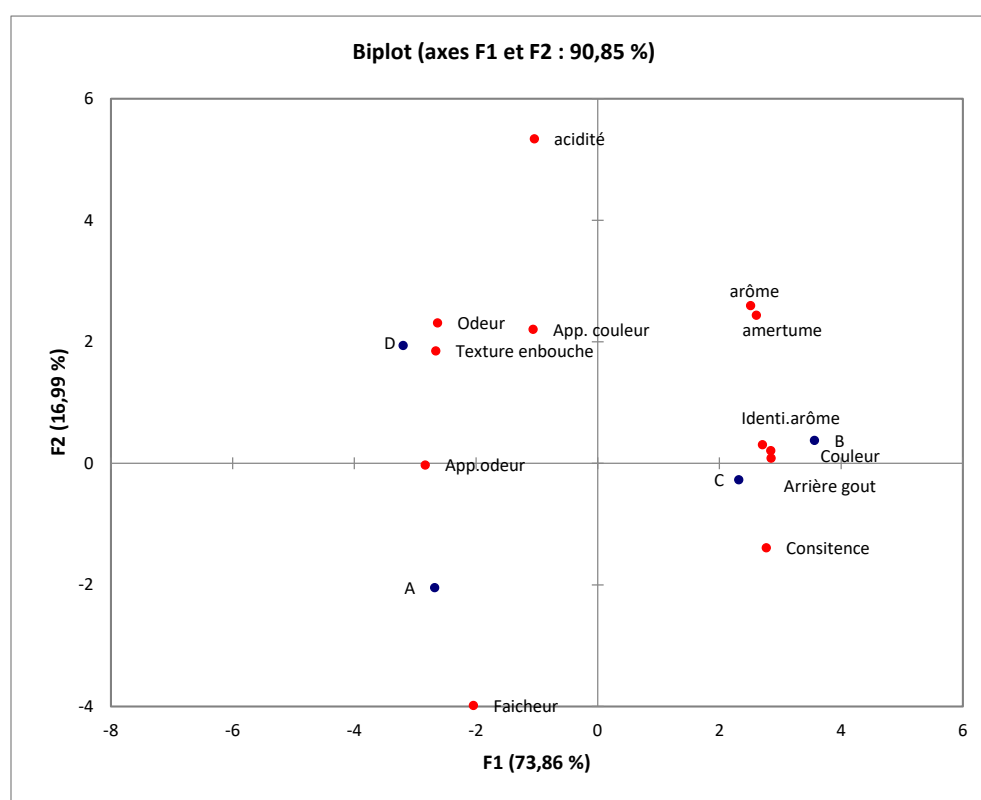


Figure 33: Corrélation entre les variables et les facteurs.

D'après cette figure, nous voyons clairement que les produits C et B ont des caractéristiques proches concernant l'intensité de la couleur, arrière-gout, consistance avec un arôme proche. Le produit D a une odeur intense et une texture lisse alors que le produit A est caractérisé par sa fraîcheur.

Résultats et discussion

V.8 .6 Classification ascendante hiérarchique (CAH)

L'application de l'analyse des données CAH génère plusieurs tableaux et graphes. Le graphe du profil des classes (figure 34) (réalisé à partir des données de préférences) permet de comparer visuellement les moyennes des différentes classes créées :

D'après la figure (34): trois classes de consommateurs ont été créés à partir des notes de préférence ;

Classe 1 : préfère d'abord les produits A et D suivi du produit C et enfin le produit B.

Classe 2 : préfère le produit D puis A et C, enfin le produit B.

Classe 3 : préfère l'échantillon C puis D et A, enfin le produit B

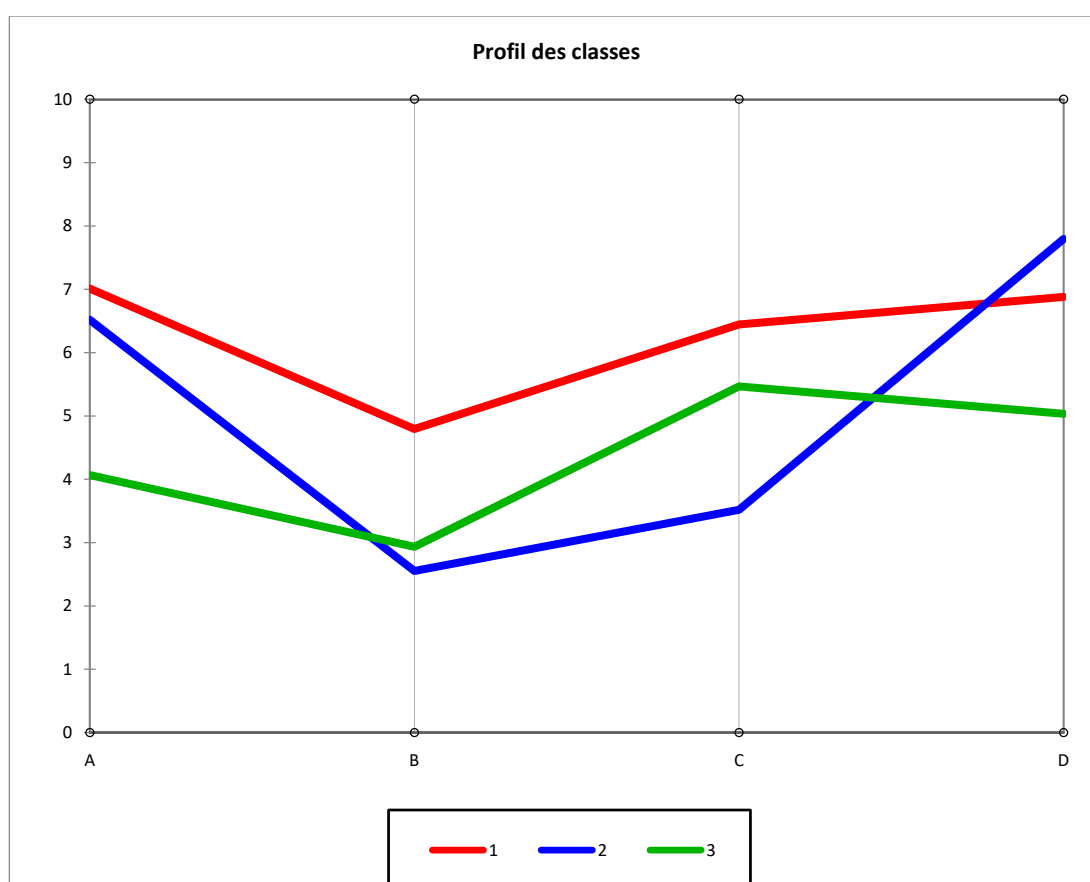


Figure 34 : Profil des classes créées.

IV.8.7 Cartographie de préférence PREFMAP

Ce test a été réalisé dans le but de connaître les préférences du consommateur vis-à-vis de nos produits.

Les figures de niveau et cartes de préférences sont superposées et on a obtenu un graphe représenté dans la figure (35). D'après cette figure, les produits A et D sont les plus préférés, ils ont le même degré de préférence entre 60% et 80%, vue leurs caractéristiques précédemment décrites. Le produit (C) vient en 2eme position avec un pourcentage de préférence entre 20% et 40%, puis vient en dernier, le produit (B) avec un pourcentage de préférence entre 0% et 20%.

Résultats et discussion

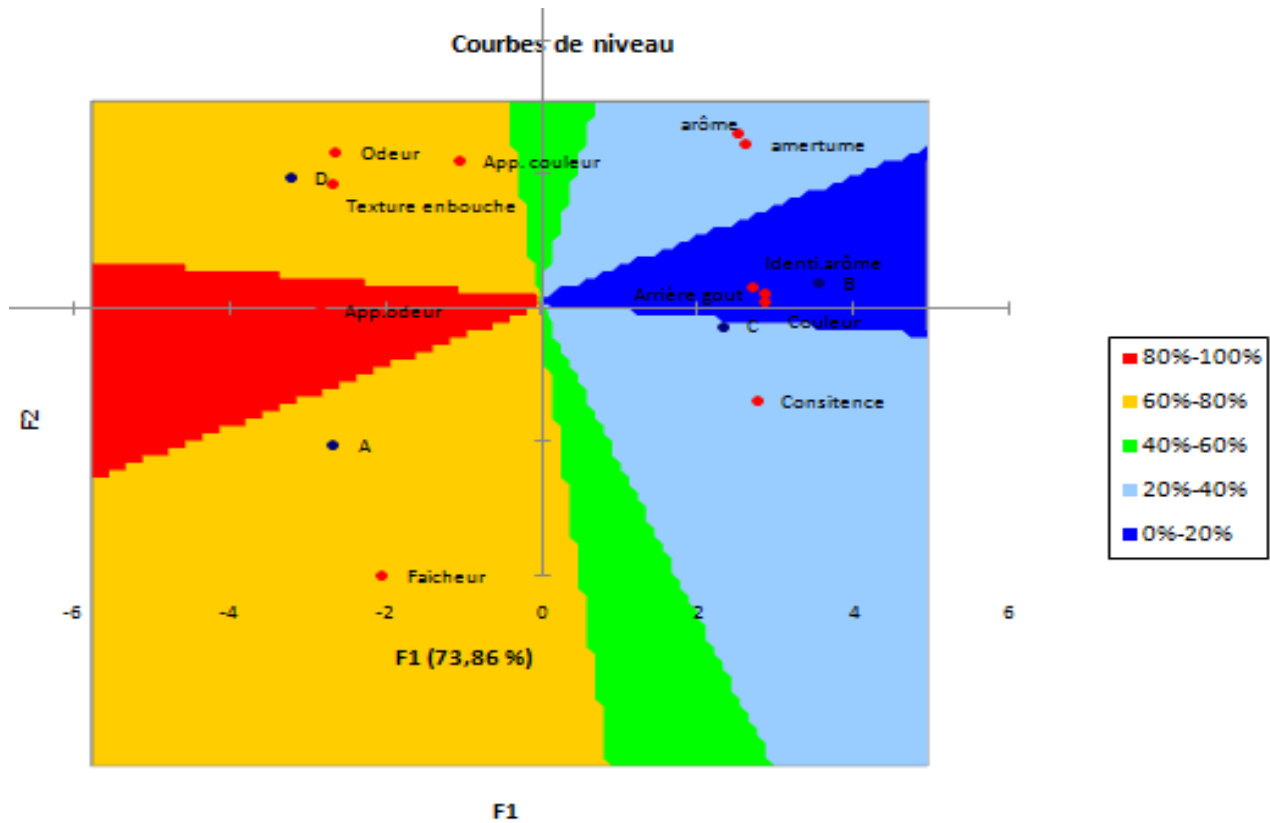


Figure 35 : Carte de préférence PREFMAP

En conclusion, de point de vue caractéristiques organoleptiques, parmi les trois échantillons préparés, l'échantillon « A » qui est une boisson fermentée à base de kéfir (sans addition de curcumine) est le plus préféré, avec un même degré de satisfaction du consommateur (entre 60% et 80%) que l'échantillon « D » acheté au commerce de marque Soummam au bifidus actif, suivi de l'échantillon « C » préparé à base de kéfir additionné de curcumine encapsulée avec une satisfaction du consommateur comprise entre 20% et 40%, en dernier, vient l'échantillon « B » préparé à base de kéfir additionné de curcumine non encapsulée avec un pourcentage de satisfaction compris entre 0% et 20%.

D'après les résultats obtenus, le consommateur n'a pas apprécié l'échantillon « B », vu son arrière-gout et sa couleur jaune foncée, cependant, l'échantillon « C » est plus apprécié que le « B » malgré l'utilisation d'une même concentration de curcumine. Cette différence d'appréciation est sûrement due à l'effet de l'encapsulation de cette curcumine qui a pu masquer son gout et sa couleur qui sont un des objectifs de l'encapsulation des substances bioactives.

Conclusion

Conclusion

L'encapsulation par coacervation complexe permet d'obtenir des microparticules adaptées à usage de complément alimentaire avec un bon rendement et une meilleure stabilité.

De plus, la formulation permet de moduler les propriétés des molécules d'intérêts encapsulées en améliorant leur biodisponibilité, en contrôlant leur libération, mais aussi leur activité.

L'objectif de ce travail était de préparer des microparticules par coacervation complexe de la curcumine extraite par macération à partir d'une poudre de curcuma longa disponible sur le marché en utilisant un mélange de deux polymères biodégradables, la gélatine et le carraghénane avec un rapport matière active/matériau enrobant de (0.5 :1) et (0.8 :1). Les taux d'encapsulations obtenus vis-à-vis des différents ratios sont compris entre 90.19% et 86.06%, dont le meilleur est obtenu avec le ratio (0.5 :1).

Nous avons étudié la cinétique de dissolution et de libération in vitro de la curcumine dans les milieux physiologiques (pH=1,2 et pH=6,8). Les résultats de cette étude ont montré que le premier ratio résiste mieux au suc gastrique que le ratio (0.8 :1), la dissolution, par conséquent la solubilité de la curcumine est aussi améliorée en utilisant le couple de polymère gélatine/carraghénane par comparaison au taux de dissolution de la curcumine non encapsulée qui a présenté un caractère hydrophobe dans les deux milieux physiologiques. Nous avons observé qu'avec les deux ratios, essentiellement le ratio (0.5 :1), la libération est prolongée et retardée.

Pour terminer, nous avons formulé une boisson fermentée au kéfir de lait à base d'un lait de vache cru, qui, après analyse microbiologique, s'est avéré propre à la consommation. Nous avons additionné cette boisson par de la curcumine afin de lui donner un aspect d'aliment fonctionnel. Ce dernier a subi une évaluation sensorielle dans le but d'apprécier son degré d'acceptabilité par le consommateur et porter des corrections dans le futur si nécessaire.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aggarwal B.B., Bhatt I.D., Ichikawa H., Ahn K.S., Sethi G., Sandur, SK., 2006. Curcumin–biological and medicinal properties. Turmeric. The genus Curcuma. Taylor and Francis Group. 297–368.
- Alvim, I.D., Grosso, C.R.F.(2010). Microparticules obtenues par la coacervation complexe : influence de type de réticulation et le processus de séchage sur la libération de matériel de cœur. Sciences et technologies des aliments ISSN 101-2061.
- Anal A.K. et Singh H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial Applications and targeted delivery. Food Science & Technology. p 240 251.
- Annan N.T., Borza A.D., Truelstrup Hansen L. (2008). Encapsulation in alginate coated gelatin Microspheres improves survival of the probiotic Bifidobacterium adolescentis 15703T during Exposure to simulated gastro intestinal conditions. Food Research International. p 184-193.
- Ammala A. (2013). Biodegradable polymers as encapsulation materials for cosmetics and personal Care markets. Internal Journal of Cosmetic Science, 35(2). P 113-124.
- Agnihotri N., Mishra R., Goda C., Arora M. (2012). Microencapsulation – A Novel Approach in Drug Delivery. A Review, Indo Glob. J. Pharm. Sci., 2(1),. p1-20
- Agnely F. (2011). Stabilization mechanism of oil in water emulsions by lactoglobulin and gum arabic. Journal Of Colloid and Interface Science. p 354, 467, 477.
- Baracat, A. Marcela, M. Nakagawa, R.C, Sandra, R., Geogetti, W.A., Verri Jr., and Osvaldo F. 2012. Préparation et caractérisation des microcapsules basées sur de polymères biodégradables : complexe pectine/caséine pour les systèmes de libérations contrôlées des médicaments. AAPS Pharm. Sci.Tech. Vol.13.N°2.
- Bungenberg de Jong H.G. (1949). Crystallisation coacervation flocculation. Complex colloid systems.H.R. Kruyt (Ed.), Colloid Science, Vol. II, Elsevier, Amsterdam.
- Barzegar A., et Ali A., 2011. Intracellular ROS Protection Efficiency and Free Radical-Scavenging Activity of Curcumin. Plos One. 6 (10); e26012.
- Burgess D.J. et Carless J.E. (1986). Microelectrophoretic Studies of Gelatin and Acacia for the Prediction of Complex Coacervation. Journal of Colloid and Interface Science, 98 (1) . p 1- 8.

Références bibliographiques

- Baser K.H.C., et Buchauer G, (2009). Handbook of Essential Oils Science, Technology, and Applications. Edition : CRC Press Boca Raton : p 991.
- Bozin B., Mimica-Dukic N., Bogavac M., Suvajdzic L.j., Simin N., Samojlik I., Couladis M. Chemical Abstracts, (2008).
- Bouyer E., Mekhloufi G., Le Potier I., du Fou de Kerdaniel T., Grossiord J L., Rosilio V.,
- Cooper C.L., Dublin P.L., Kayitmazer A.B, Turksen S. (2005). Polyelectrolyte protein Complexes. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. p52-78.
- Cheeseman KH, Slater TF. (1993). An introduction to free radicals chemistry. *Br Med Bull*, vol 49, p481–493.
- Cláudia and Alvaro. (2004). Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. *Rev Bras Med Esporte* ,vol:10, N° 4
- Christelle Koechlin-Ramonatxo. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et métabolisme*, vol 20,p 165–177
- Champagne C.P., Fustier P. (2007), Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*,18:184 190.
- Delaveau P., 1987. Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Paris. Albin Michel. 130-136.
- Dictionnaire de l'Académie Française, t 2, Paris, Imprimerie nationale /Fayard, 2005, 8^{ème} éd (ISBN 2-213-62143-8, lire en ligne)
- De Kruif C.G., einbreck F., de Vries R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*,9,340349.
- De Marco, R., Vieira, A.M.S. Ugri, M. C. A., Monteiro, A. R. G., Rita de C. Bergamasco. 2013. Microencapsulation de l'extrait des graines de rocou : stabilité et application. *Transactions de l'énergie chimique*, Vol. 32, 1777-1782 DOI : 10.3303/CET1332297
- Dutruc- Rosset, (2003), Office International de la vigne et du vin (OIV) résolution OENO 16/2003.p 16-21.
- Didou.O. (2012). Synthèse de nanocapsules polymères pour la détection de tumeurs solides par échographie et IRM du fluor : vers un outil thermostique , Thèse de Doctorat, Université Paris-Sud 11 (France).

Références bibliographiques

- Dong Z., Ma Y., Hayat K., Jia C., Xia S., Zhang X. (2011). Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, 104 : 455-460.
- Doublier J. L., Garnier C., Renard D., Sanchez C. (2000). Protein polysaccharide interactions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. p5, 202- 214.
- Esatbeyoglu, T.; Huebbe, P.; Ernst, I. M. a; Chin, D.; Wagner, A. E.; Rimbach, G. Curcumin-from Molecule to Biological Function. *Angewandte Chemie - International Edition* **2012**, 51 (22), 5308–5332.
- Favier A., 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. *L'actualité Chimique*, 108-115.
- Finch C.A, Bodmeier R.: (2000): Microencapsulation, in: Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Electronic Release, 6th ed, Wiley-VCH, Weinheim 7.
- Finch, C.A., Bodmeier, R. (2005). Microencapsulation, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 10.1002/14356007.a16_575.
- Garrabé, L, Cavallo, J. D, Fabre, R, et Hernandez, E,(1998). Antibiogramme par Diffusion en gélose essai de standardisation de l'inoculum par la méthode Presto APG. *Revue Française des laboratoires*, N° 307. p 65-69.
- Gachkar, I., Yadegari. D., Rezaci, M.B., Taghizadch, M., Astanch, S.A., Rasooti, I. (2007). Chemical And Biological Characteristics of cummun cyminum And Rosmarinus Officinalis essential oils food chem, , Vol 102, N° 3. p 898-904.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. and Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res Int*, 107-1121.
- Gu L., Zhu X., ong X ., Tan . (2010). Comparisons of simple and complex coacervations for preparation of sprayable insect ex pheromone microcapsules and release control of the encapsulated pheromone molecule. *Journal of Microencapsulation*, 27 (4). P 355- 364.
- Guiraud JP. (2003):. *Microbiologie Alimentaire*. Edition:Dunod. Paris. .p258- 358.
- Goel A., Kunnumakkara A.B., Aggarwal B.B., 2008. *Biochem. Pharmacol.* 75; 787–809.
- Gouin S. (2004), Microencapsulation:industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*. p330- 347.

Références bibliographiques

- Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 2007. Free Radicals in Biology and Medicine, 4 th ed. Oxford University Press. 20-31.
- Haleng, J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. fonc.(2007). Le stress oxydant. Rev Med Liege, vol 62(10) ,p 628-638
- Hazzit M. (2008). Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse de doctorat. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, faculté de chimie, Algérie. p 204.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., 2007. Le stress oxydant. Rev. Med. Liege. 62(10); 628-638.
- Itokawa H., Shi Q., Akiyama T., Morris-Natschke S., Lee K.H., 2008. Recent advances in the investigation of curcuminoids.
- IUPAC Compendium of Chemical Technology.(1997).
- Jansen P.C.M., Grubben G.J.H., Cardon D., 2005. Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3. Colorants et tanins. Wageningen, Pays-Bas, PROTA. 238 Wageningen , Pays-Bas : PROTA, 2005.-238p.
- Jean, C., et Dijon, C. 2003. Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3. Jeon, Y.J., Vasanthan, T., Temelli, F. and Song, B.K. (2003). The suitability of barley and corn starches in their native and chemically modified forms for volatile meat flavor encapsulation. Food Res Int, 6, 349-355.
- Jones O., Decker E.A., McClements J. (2010). Thermal analysis of lactoglobulin complexes with Pectins or carrageenan for production of stable biopolymer particles. Food Hydrocolloids, 24 (2 3). p 239 248.
- JunTxia X., HaiTyan Y., Jian Y. (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. Food Chemistry, 125 : 1267T1272.
- Jenkins G., 2002. Molecular mechanisms of skin ageing. Mechanisms of Ageing and Development 123. 7: 801-810.
- Jizomoto H., Kanaoka E., Sugita K., Hirano K. (1993). Gelatin Acacia microcapsules for trapping micro oil droplets containing lipophilic drugs and gastrointestinal tract. Pharmaceutical Research, 10 (8):1115 1122.
- Jeong J.C., Lee J., Cho K.(2003). Effects of crystalline microstructure on drug release behavior of poly(ϵ -caprolactone) microspheres, J. Controlled Release. p92 ,249– 258

Références bibliographiques

- Jurenka J.S., 2009. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*. A review of preclinical and clinical research, *Altern Med Rev*.
- Junyaprasert V.B., Mitrevej A., Sinchaipanid N., Boonme P., Wurster D.E. (2001). Effect of Process Variables on the Microencapsulation of Vitamin A Palmitate by Gelatin Acacia Coacervation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(6). p 561–566.
- Jourdan J.P ., 2015. Memoire du Diplome D'Etude Spécialisées Innovation Pharmaceutique et Recherche « Curcuma et curcumine, de l'histoire aux intérêts thérapeutiques ».
- Kaibara K., Okazaki T., Bohidar H.B., Dubin P.L. (2000). pH induced coacervation in complexes of Bovine serum albumin and cationic polyelectrolytes. *Biomacromolecules*, 1: p 100- 107.
- Kerdudo A., De O., Kerdudo A., Antipolis N.S. & Directeur C., 2015. Optimisation de la conservation des cosmétiques : impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation. Thèse.
- Lamprecht A. Schäfer U., Lehr CTM. (2001). Influences of process parameters on preparation of microparticle used as a carrier system for $\Omega 3$ unsaturated fatty acid ethyl esters used in supplementary nutrition. *Journal of Microencapsulation*, 18 (3) : 347T357.
- Lemetter C.Y.G., Meeuse F.M., Zuidam N.J. (2009). Control of the Morphology and the Size of Complex Coacervate Microcapsules using ScaleTup. *IChE Journal*, 55 (6) : 1487T1496.
- Liu S., Low N.H., Nickerson M.T. (2009). Effect of pH, Salt, Biopolymer Ratio on the Formation of Pea Protein Isolate–Gum Arabic Complexes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4357: 1521–1526.
- Leclercq S., Milo C., Reineccius G.A. (2009). Effects of cross linking, capsule wall thickness, and Compound hydrophobicity on aroma release from complex coacervate microcapsules. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 1426 1432.
- Li.M., Rouaud.O., Poncelet.D. (2008). Microencapsulation by solvent evaporation : State of the art for process engineering approaches. *Int. J. Pharma.*, 363. p26-39
- Lee, J. H.; Choung, M. G. Determination of Curcuminoid Colouring Principles in Commercial Foods by HPLC. *Food Chemistry* 2011, 124 (3), 1217–1222.

Références bibliographiques

- Liu L., Shang Y., Li M., Han X., Wang J., Wang J., 2015. Curcumin ameliorates asthmatic airway inflammation by activating nuclear factor-E2-related factor 2/haem oxygenase (HO)-1 signalling pathway. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 42; 520–529.
- Larpent. J P., 1997. Microbiologie alimentaire, Technique de laboratoire. Editions Lavoisier, p 860-870
- McClements D.J. (2006). Non covalent interactions between proteins and polysaccharides. *Biotechnology Advances*, p 24, 621–625.
- Matalanis A., Jones O.G., McClements J. (2011). Structured biopolymer based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food Hydrocolloids*, 25 (8), 1865–1880
- Mishra M. (2016). Handbook of Encapsulation and Controlled Release. *CRC Press Taylor & Francis Group*. New York. pp. 4-15.
- Oukil, N. (2013). Activité biologique des huiles essentielles, des polyphénols extraits de quelques espèces de La biaceae et l'étude du mécanisme de l'action bactéricide de l'huile essentielle de thymus algériensis. Thèse de doctorat en sciences alimentaires. Université Abderrahmane Mira, faculté des sciences de la nature et de la vie, Bejaia. p 120.
- Onesippe.C. (2005). Etude des systèmes polyelectrolyte/ Tensionsactif en phase aqueuse et à l'interface liquide /gaz. Mémoire de Doctorat, Université Montpellier II Sciences et techniques du Languedoc.
- Penso G., 1986. Les plantes médicinales dans l'art et l'histoire. Paris. Roger Da Costa.
- Patel K.R., Patel M. R., Mehta T. J., Patel A. D., Patel N. M: « Microencapsulation: Review on novel approaches», *Int. J. Pharm. Technol.*, 3 (1), 894-911.(2011).
- PERRY M.-C. Evaluation de la curcumine comme agent anti-cancéreux dans le traitement des tumeurs cérébrales. Mémoire : Chimie : Montréal : 2008
- Pitaksuteepong, T., Davies, N.M., Tucker, L.G. and Rades, T.(2002). Factors influencing the entrapment of hydrophilic compounds in nanocapsules prepared by interfacial polymerisation of water-in-oil microemulsions. *Eur J Pharm Biopharm*, p 53, 335-342.
- Péret-Almeida, L.; Cherubino, a. P. F.; Alves, R. J.; Dufossé, L.; Glória, M. B. a. Separation and Determination of the Physico-Chemical Characteristics of Curcumin,

Références bibliographiques

- Demethoxycurcumin and Bisdemethoxycurcumin. *Food Research International* 2005, 38 (8-9), 1039–1044
- Ponce, A. G., Fritz, R., Valle, C. Del . , et Roura, S.I. (2003). Antimicrobial Activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel Wissenschaft and technology*, Vol. 36, N°7. p.679-684.
 - Poncelet D., (2000) : Pourquoi s'intéresser à la micro- et nanoencapsulation, actes du séminaire Euroforum micro- et nanoencapsulation, 22 et 23 mars , Paris ; séminaire organisé par Euroforum, 35, Paris. <http://www.euroforum.fr>.
 - Pincemail J., Le Goff C., Charlier C., Gillion P., Cheramy-Bien.JP., EVan Honacker JP., Chapelle et Defraigne JO.(2009). Evaluation biologique du stress oxydant Application en routine clinique. *Nutrition et Endocrinologie - Université de Liège – CHU Sart Tilman (Liège, Belgique)* , p 31.
 - Percival M. (1998) Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*. NUT031 ; 1/96(10/98) :p 1-4.
 - Powers SK., Sen CK., Physiological antioxidants and exercise training. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O, editors. (2000). *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Amsterdam:Elsevier, p 221–241.
 - Patel K.R., Patel M. R., Mehta T. J., Patel A. D., Patel N. M. (2011) . Microencapsulation: Review on novel approcheI. *Int. J. Pharm. Technol.*, 3 (1), p 894-911.
 - Prakash D., Suri S., Upadhyay G., and Singh B.N. (2007)*J.ournal of Food Sciences and Nutrition* 58. p18-28
 - Philippe.L, Jean.P.B, (2007) «sphéroïdes et formes vectorielles pharmacie galénique formulation et technologie pharmaceutique », maloine,. p 221-250
 - Richard, J., Benoit, J.P. (2000). Microencapsulation. *Techniques de l'Ingénieur*, J 2210, p 1-20
 - Richard.J, Benoit.J.(2013).Microencapsulation. *Techniques de l'Ingénieur*, traité Génie des procédés.
 - Sanna V., Roggio A.M., Pala N., Marceddu S., Lubinu G., Mariani A., Sechi M., (2015). Effect of chitosan concentration on PLGA microcapsules for controlled release and stability of resveratrol. *Int. J. Biol. Macromol.* 72, 531–536.

Références bibliographiques

- Schmitt C. *et al.* (2005). Effect of Time on the Interfacial and Foaming Properties of Lactoglobulin/Acacia Gum Electrostatic Complexes and Coacervates at pH 4.2. *Langmuir*, 21: 7786-7795.
- Shahide N., 2016. Valeurs thérapeutiques de curcuma. Laboratoire phytomisan France.
- Siow et Ong .2013 : Siow LTF. et Ong CTS. (2013). Effect of pH on Garlic Oil Encapsulation by Complex Coacervation. *Food Processing & Technology*, 4 (1).
- Shahidi, F. and Han, X.Q.. In Poshadri, A. and Aparna, K. (1993). Microencapsulation Technology : A Review. Nutriplus. International Crops Research institute for semi Arid Tropics, Hyderabad, Post Graduate & Research Centre, ANGR Agricultural University, Hyderabad. p 38, 89-102.
- Scotter, M. J. Synthesis and Chemical Characterisation of Curcuminoid Colouring Principles for Their Potential Use as HPLC Standards for the Determination of Curcumin Colour in Foods. *LWT - Food Science and Technology* 2009, 42 (8), 1345–1351.
- Tajini A., Taibi A., 2014. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de curcuma longa. université abou bekr belkaid – tlemcen.
- Turbide M., 2013. L'aromathérapie, huiles essentielles du Québec et du monde, application thérapeutique. Collection santé-arome. **Oukil, 2013** : Oukil, N. (2013). Activité biologique des huiles essentielles, des polyphénols extraits de quelques espèces de La biaceae et l'étude du mécanisme de l'action bactéricide de l'huile essentielle de thymus algériensis. Thèse de doctorat en sciences alimentaires. Université Abderrahmane Mira, faculté des sciences de la nature et de la vie, Bejaia. p 120.
- Turgeon S.L., Schmitt C., Sanchez C. (2007). Protein polysaccharide complexes and coacervates. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. p166-178
- Tsung M. et Burgess D.J. (1997). Preparation and Stabilization of Heparin/Gelatin Complex Coacervate Microcapsules. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86 (5): 603-607.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 39 ; 44-84.
- Vaughan M. Oxidative modification of macromolecules. *J Biol Chem* .(1997).Vol 272 ,p18513

Références bibliographiques

- Valko M., Rhodes CJ., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, vol 160(1), p 1-40.
- Weinbreck F. et al. (2003). Complex coacervation of whey proteins and gum Arabic. *Biomacromolecules*. p 293-303
- Weinbreck *et al.* (2004). Microencapsulation of oils using whey protein/gum Arabic coacervates. *Journal of Microencapsulation*, 21 (6): 667-679.
- Weinbreck F. et al. (2004). Composition and Structure of Whey Protein/Gum Arabic Coacervates. *Biomacromolecules*, 5: 1437-1445.
- Wun C., 2003. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin. *Component Med Res*. 131; 682-91.
- Young I.K. (1996). Mise au Point et évaluation de forme à libération modifiée de nifedipine, Thèse de Doctorat Université de Nancy I Mention pharmacologie.
- Yeo. Y., Baek. N., and Park. K. (2001). Microencapsulation methods for delivery of protein drug. *Biotechnol. Bioprocess. Eng.*, 6(4), p213-230

Annexes

Annexe 1

Quelques espèces de curcuma source de curcumine

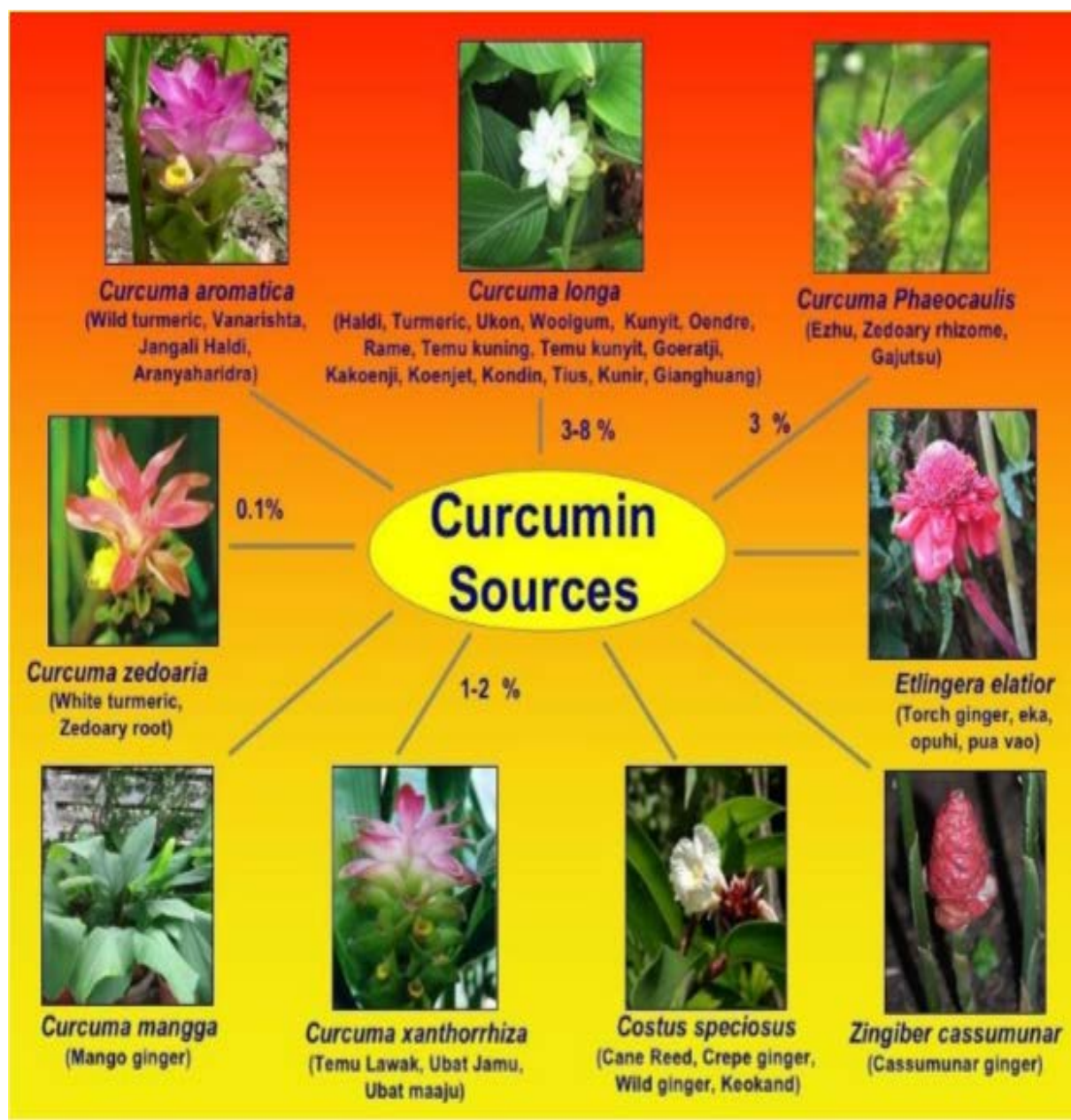


Figure3 : Quelques espèces de Curcuma source de curcumine (Shishodia et al., 2005)

Annexe 2

Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003)

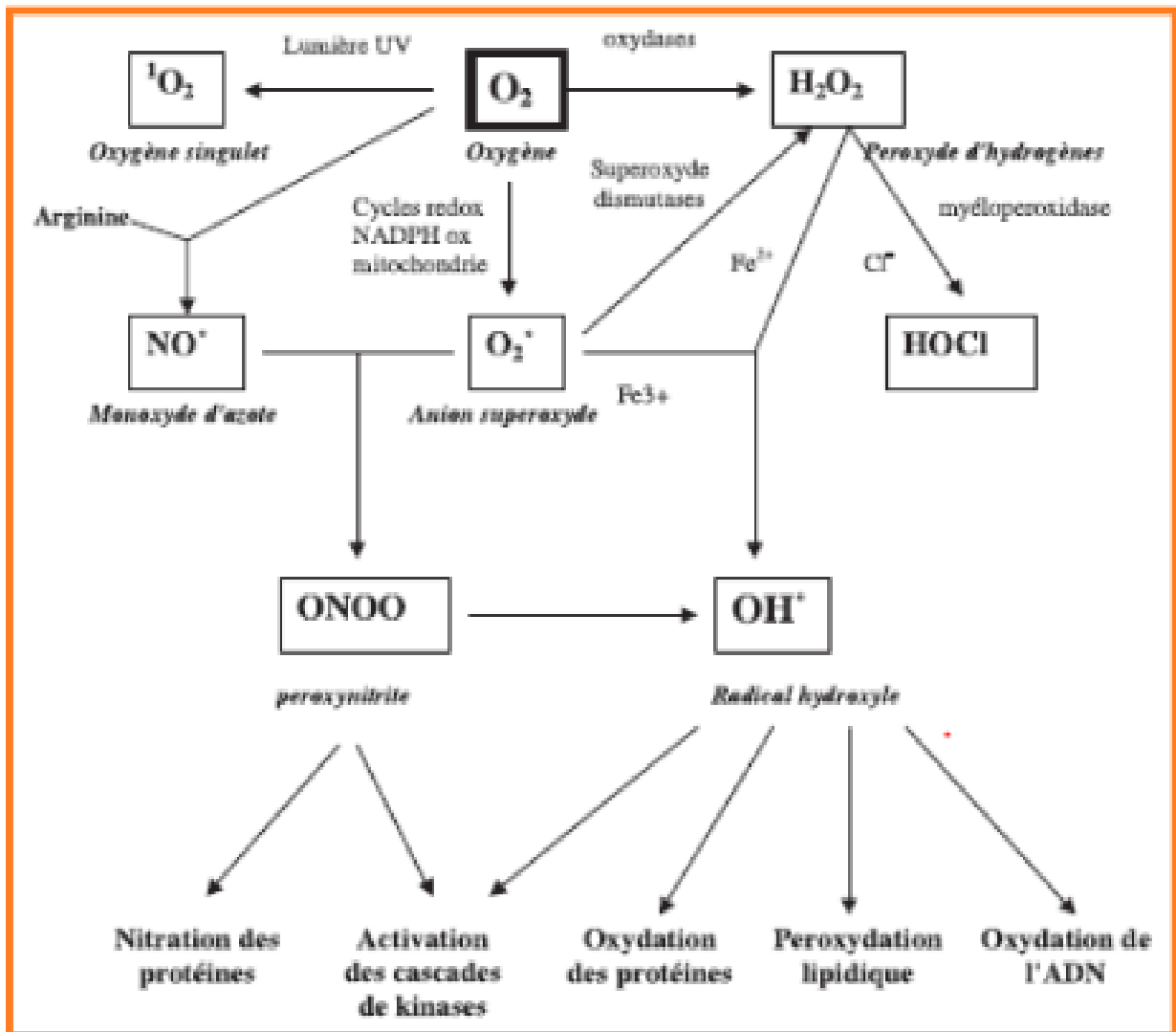


Figure 7 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

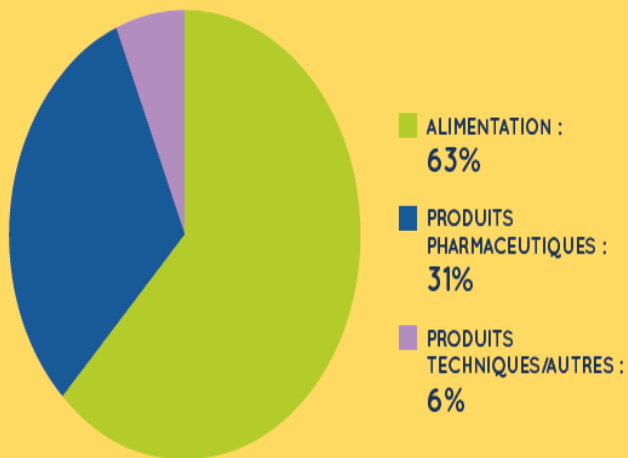
Annexe 3

Propriétés et utilisations de la gélatine

La singularité de la gélatine dans l'industrie agroalimentaire

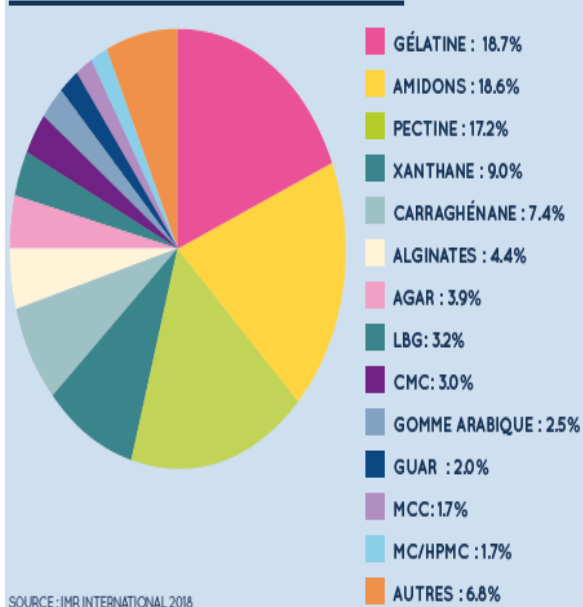
LA GÉLATINE EST UN PRODUIT POLYVALENT, UTILISÉE PAR DIFFÉRENTES INDUSTRIES. ON LA RETROUVE PRINCIPALEMENT DANS L'INDUSTRIE AGROALIMENTAIRE, OÙ ELLE CONSTITUE UN INGRÉDIENT UNIQUE EN SON GENRE. ELLE POSSEDE DE NOMBREUSES FONCTIONNALITES, ET SA POLYVALENCE OFFRE DE NOMBREUX AVANTAGES AUX FORMULATEURS

APPLICATIONS DE LA GÉLATINE
ESTIMATION POUR 2018



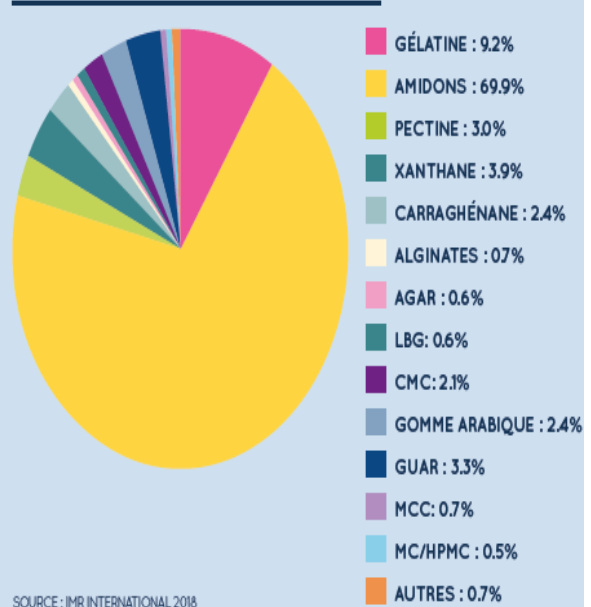
La gélatine est l'un des deux hydrocolloïdes les plus utilisés au monde

PART DE MARCHÉ DES HYDROCOLLOÏDES LES PLUS UTILISÉS DANS L'AGROALIMENTAIRE
VALEUR TOTALE (EN \$) = 7,4 MILLIARDS



SOURCE: IMR INTERNATIONAL 2018

VOLUME DES HYDROCOLLOÏDES LES PLUS UTILISÉS DANS L'AGROALIMENTAIRE
TOTAL (EN TONNES) = 2,3 MILLIONS



SOURCE: IMR INTERNATIONAL 2018

Annexe 3

Avantages de la gélatine

PRODUIT NATUREL	PROPRIÉTÉS ET CARACTÉRISTIQUES
<ul style="list-style-type: none">• SOURCE NATURELLE DE PROTÉINES ET D'ACIDES AMINÉS ESSENTIELS• INGRÉDIENT ALIMENTAIRE NATUREL (ISO/TS 19657: 2017)• SANS RISQUE POUR LA SANTÉ (STATUT GRAS)• SANS OGM, NON MODIFIÉE CHIMIQUEMENT, NE PORTE PAR CONSÉQUENT AUCUN NUMÉRO E• PRODUIT "CLEAN LABEL"• NE PROVOQUE AUCUNE ALLERGIE 	<ul style="list-style-type: none">• TEXTURE UNIQUE• PROTEINE PURE• PROCURE UNE EXCELLENTE SENSATION EN BOUCHE• FOND À LA TEMPÉRATURE DU CORPS, ET ENTIÈREMENT DIGESTIBLE• PRÉSENTE UNE HAUTE BIODISPONIBILITÉ  <ul style="list-style-type: none">• AIDE À CONSERVER LES PRODUITS PLUS LONGTEMPS• EST EXEMPTÉ DE CHOLESTÉROL, DE PURINE ET DE MATIÈRE GRASSE• PERMET DE GELIFIER, D'ÉPAISSIR, DE LIER, D'ÉMULSIONNER, DE FOISONNER ET DE FORMER DES FILMS• SA GRANULOMÉTRIE PEUT ÊTRE AJUSTÉE SELON LES BESOINS DE LA PRODUCTION, POUR UNE MEILLEURE SOLUBILITÉ

Annexe 4

Tableau IV : tableau récapitulatif du matériel utilisé au niveau du laboratoire

	Matériels	Références
Matériel végétal	Poudre de curcuma longa L	Poudre achetée chez un herboriste de la ville de Bejaia obtenue par broyage des rhizomes d'origine indienne
Solvants et produits	Méthanol	BIOCHEM. Chemopharma
	N-Hexane	BIOCHEM. Chemopharma
	DMSO	PROLABO
	DPPH	SIGMA ALDRICH
	Curcumine 99 Plus	CC99PLUS
	Flexofytol	Eureka santé par VIDAL
	α -tocophérol	SIGMA ALDRICH
	Trolox	SIGMA ALDRICH
	Carraghenane	SIGMA-ALDRICH
	Gélatine	BIOCHEM Chemopharma
	Vanilline	BIOCHEM Chemopharma
	Acétate d'éthyle	BIOCHEM Chemopharma
	Acide sulfurique	BIOCHEM Chemopharma
Matériels de laboratoire	Evaporateur rotatif	BÜCHI
	Spectrophotomètre UV-visible	RAY LEIGH
	pH mètre	BANTE Instrument
	Plaque chauffante agitatrice	VELP Scientifica
	Balance analytique	PS1200.R2
	Centrifugeuse	DT5-1C Benchtop Low speed
	Microscope optique	centrifuge
	Etuves à 37°C et 105°C	B-350 OPTIKA
		MEMMERT

Souches microbiennes	<p><i>Escherichia Coli</i>,</p> <p><i>Enterococcus Faecalis</i></p> <p><i>Pseudomonas Aerugenosa</i></p> <p>Les grains de Kéfir</p>	<p>ATCC 4157</p> <p>Souches isolées à partir d'une eau usée</p> <p>Souches isolées à partir d'une eau usée</p> <p>Les grains de kéfir sont obtenus à partir d'un site internet Oued Knis</p>
Milieux de cultures et réactifs	<p>Bouillon nutritif</p> <p>Gélose nutritive ordinaire</p> <p>BCPL</p> <p>Bouillon Giolitti Cantoni</p> <p>Tellurite de potassium</p> <p>Gélose Chapman</p> <p>Réactif de Kovacs</p>	<p>BIOKAR Diagnostic</p> <p>Institut Pasteur d'Algérie</p> <p>HIMEDIA</p> <p>Institut Pasteur d'Algérie</p> <p>Institut Pasteur d'Algérie</p> <p>Institut Pasteur d'Algérie</p> <p>HIMEDIA</p>

Annexe 5

Préparation des milieux de cultures

1- Préparation du bouillon nutritif

25 g de bouillon nutritif déshydraté + un volume d'eau distillée ;

Agitation jusqu'à dissolution complète ;

Ajuster le volume à 1L d'eau distillée ;

Mettre à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

2- Préparation de la gélose Mueller Hinton

38g de poudre MH déshydratée + 1 volume d'eau, agitation magnétique à 250°C ;

Ajuster le volume à 1L d'eau distillée ;

Autoclavage à 121°C pendant 15min.

3- Préparation de la vanilline sulfurique à 1%

Ajouter 2 ml d'acide sulfurique à 200 ml d'éthanol à (90%-96%) ;

Ajouter 800mg à 1000mg de vanilline ;

Agiter jusqu'à dissolution complète.

Annexes

Annexe 6

Tableau V: Degrés de sensibilité des bactéries selon le diamètre des zones d'inhibition (Ponce et al, 2003)

Diamètre en mm	Degrés de sensibilité
D < 8	Non sensible (-)
8 < D < 14	Sensible (+)
15 < D < 19	Très sensible(++)
D > 20	Extrêmement sensible(+++)

Tableau VIII : Résultats des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH par la curcumine, l'α-tocophérol et le Trolox

Concentration des extraits en %	95	90	85	80	75	70	65	60	50	40	30	20
Pourcentage d'inhibition	Extrait de curcumine											
	87	86.61	85.45	81	79.76	76.85	70.19	60.65	59.19	48.63	42	33.15
	α tocophérol											
	78.85	78.01	76.67	75.67	74.05	66.66	62.66	60	58.45	50	42	33.15
	Trolox											
	84	82	79.09	78.79	76.36	75.65	71.5	69	62	55.56	43.48	38.01

Résumé

Ce travail porte d'abord sur l'extraction de la curcumine à partir du curcuma longa L disponible sur le marché par macération. La chromatographie sur couche mince est employée afin de caractériser la curcumine extraite, puis vient la réalisation de la microencapsulation de la curcumine par coacervation complexe en milieu aqueux avec deux ratio différents (0.5 :1) et (0.8 :1).

Le couple de polymères le plus utilisé en coacervation complexe est le système gélatine/gomme d'acacia. Cependant, pour des raisons de non disponibilité de la gomme d'acacia au niveau de notre laboratoire et dans l'intention d'essayer d'autres polymères, un substituant intéressant qui est le carraghénane est utilisé. Une étude de l'efficacité de l'encapsulation et leur solubilité est aussi réalisée

La simulation in vitro de la dissolution des microcapsules est introduite en simulant deux milieux physiologiques : conditions du fluide gastrique (pH=1.2) et conditions du fluide intestinal (pH=6.8), afin d'évaluer la dissolution et la cinétique de libération du principe actif encapsulé

Dans le but d'étudier les activités biologiques de la curcumine, nous sommes contents d'étudier deux activités : l'activité antioxydant et l'activité antibactérienne.

Une formulation d'un aliment fonctionnel est obtenue avec la préparation d'une boisson fermentée au kéfir au lait additionnée de la curcumine, suivie d'une évaluation sensorielle faite au niveau du laboratoire d'analyse sensorielle, afin d'évaluer le degré de son acceptabilité et son appréciation par le consommateur.

Mots clés

Curcuma, curcumine, extraction par macération, coacervation complexe, gélatine, carraghénane, encapsulation, simulation in vitro, évaluation sensorielle.

Summary

This work first focuses on the extraction of curcumin from long-lasting turmeric L available on the market by maceration. Thin layer chromatography was used to characterize curcumin extracted, followed by the microencapsulation of curcumin by complex coacervation in aqueous media with two different ratios (0.5: 1) and (0.8: 1).

The most common pair of polymers in complex coacervation is the gelatin / acacia gum system. However, for reasons of non-availability of gum acacia in our laboratory and with the intention of trying other polymers, an interesting substituent which is carrageenan is used during this work. A study of the effectiveness of encapsulation and their solubility is also carried out.

The in vitro simulation of the microcapsule dissolution was introduced by simulating two physiological media: conditions of the gastric fluid (pH = 1.2) and conditions of the intestinal fluid (pH = 6.8), in order to evaluate the dissolution and kinetics of release of the encapsulated active ingredient

In order to study the biological activities of curcumin, we are content to study two activities: antioxidant activity and antibacterial activity.

A formulation of a functional food is obtained with the preparation of a fermented milk kefir drink with curcumin added, followed by a sensory evaluation made at the level of the sensory analysis laboratory, in order to evaluate the degree of its acceptability and appreciation by the consumer.

Keywords

Turmeric, curcumin, extraction by maceration, complex coacervation, gelatin, carrageenan, encapsulation, in vitro simulation, sensory evaluation.