

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée.

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie et Biothérapie

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Encapsulation de molécules biologiquement
actives dans des systèmes complexes à base
de biopolymères**

Présenté par : ZEGHOUANI Nouha Nardjes
BENTAZIR Djihad

Le 16/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : BOUDOUKHANI Meriem (MAB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 1 : BOULAHBAL Bilel (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 2 : KHELILI Kaouther (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

ملخص :

كان الهدف من هذا العمل هو تطوير نظام تغليف فيتامين د₃ كجزيء نشط بيولوجيًا بواسطة مركب متعدد الإلكتروليت يعتمد على صمغ الكزانثان المعدل (GXM) وكابا كاراجينان (KC) بتركيزات مختلفة. جميع الأنظمة التي تم الحصول عليها خضعت لاختبارات الخصائص الفيزيائية والكيميائية ، و ستنج نتائج التركيبات التي تم الحصول عليها إظهار أهمية تركيز البوليمرات في تقييم معدل التضخم وحجم الجسيمات الذي تحققه طريقة الاستحلاب و التغليف، كما اظهرت النتائج المحصل عليها من خلال تشكيل الجسيمات الدقيقة معدل تغليف 71.4٪ للصيغة 4 التي تحتوي على (25/75٪) في . (KG / GXM)

الكلمات المفتاحية :

صمغ الكزانثان (GXM) ، كابا كاراجينان (KC) ، مستحلب ، نظام تغليف – فيتامين D₃

Résumé :

L'objectif du présent travail était d'élaborer un système d'encapsulation de la vitamine D3 en tant que molécule biologiquement active par un complexe polyélectrolytes à base de la gomme xanthane modifié (GXM) et le kappa-carraghénane (KC) à différentes concentrations.

Les différents systèmes formulés ont été soumis à des tests de caractérisation physico-chimiques, et les résultats obtenus permettent de montrer l'importance de la concentration des polymères sur l'évaluation du taux de gonflement et la taille des particules réalisées par le procédé d'émulsification, de plus, les résultats des microparticules préparées présentent un taux d'encapsulation de 71,4% pour la formulation 4 composée de (75/25%) en (KC/GXM).

Mots clés:

VitD3, Encapsulation, kappa-carraghénane (KC), Gomme Xanthane (GXM), Emulsification

Abstract:

The aim of the present work was to elaborate an encapsulation system of D3-vitamin as a biologically active molecule coated by a polyelectrolyte complex based on modified xanthan gum (XGM) and kappa-carrageenan (KC) at different concentrations.

The all formulated systems are submitted to physicochemical characterization, and the results of the obtained formulations show the importance of the concentration of polymers in the evaluation of the swelling rate and the size of the particles realized by emulsification process. Moreover, the prepared microparticles present an encapsulation rate of 71,4 % for the formulation 4 contained (75/25%) in (KC/XGM) .

Key words:

D3-Vitamin, Encapsulation , Xanthan Gum (XGM) , Kappa-Carrageenan (KC) , Emulsification

Remerciements

Après cinq ans d'études riches en savoir, en découvertes et en sensations fortes, le voilà le jour ou nous avons pu aboutir à l'élaboration et l'achèvement de notre mémoire de fin d'étude qui sera le fruit de tant d'années de travail et de détermination.

*Nous tenons à remercier en premier lieu **ALLAH** le tout puissant de nous avoir accordé santé, force, courage et patience afin d'accomplir ce mémoire qui ne pouvait guère voir le jour sans sa grâce et sa bénédiction.*

*Nous tenons à témoigner notre reconnaissance à notre encadreur du travail **Dr BOUDOUKHANI Meriem**, docteur à l'université des frères mentouri « Constantine 1 » pour tous vos précieux conseils, d'avoir partagé leurs expériences et leurs connaissances dans le domaine.*

*Nos vifs remerciements vont spécialement au membre de jury pour l'honneur qu'ils ont fait en acceptant de juger ce modeste travail : à **Dr. BOULAHBAL Bilel**, maître conférence **B « MCB »** et **Dr. KHELILI Kaoutar**, maître conférence **A « MCA »** à l'université des frères mentouri « Constantine 1 »*

*Notre vifs remerciements vont au responsable du Laboratoire **BIOCHIMIE** **Nabil Bouderssa**, qui ont bien voulu expertiser le travail et, pour la pertinence de leurs remarques et commentaires.*

Merci à tous les responsables de Laboratoire du Biochimie, enseignants, ingénieurs et techniciens pour leur aimable contribution, leur aide et leur soutien.

*Enfin nous exprimons notre immense gratitude à nos **chères familles** sans exception du plus vieux au plus jeune ainsi qu'à tous nos amis et à toute personne qui ont pu nous apporter de l'encouragement ou du réconfort durant notre parcours estudiantines.*

Dédicaces

Tout d'abord, je remercie le bon dieu de m'avoir donné la vie , la santé et d'avoir fait de moi ce qui je suis aujourd'hui .

*Je dédie ce travail à la lumière de ma vie, la flamme de mon chemin à celle qui m'a encouragé tout au long du parcours de mes études, à celle qui fait de moi une bonne personne dans ce monde, que dieu te protège et te procure la bonne santé , **ma mère** .*

*Tu es l'homme le plus pur , tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux , honnête , grace à toi j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité . Merci pour tout l'amour que tu m'as donné durant mon enfance et que tu continues de m'apporter chaque jour, **mon père** .*

*A **ma grand mère** tu es la personne la plus idéale, la plus douce dans ce monde je vous remercie d'être avec moi depuis ma naissance, à mes côtés, pour ta peur de moi, pour ton esprit bienveillant que j'aime tant et que j'aimerai encore, merci pour tes conseils et pour tout ce que tu m'a donné et m'a aidé ,merci pour vos prières Merci pour tout et que Dieu vous donne bonne santé et longue .*

*Ma tante **Karima** Tu es une partie si spéciale de notre famille. Et le plus important de tout, tu es merveilleuse de l'intérieur et de l'extérieur pour moi Merci pour tout ce que tu as fait pour moi. Surtout, merci de toujours répondre présent. Je t'aime et je te souhaite tous le bonheur et la joie toi et ma tante **Meriem** .*

*Aux deux personnes que j'aime le plus, aux personnes les plus douces et les plus gentilles que j'ai jamais connues. Je vous aime du fond du cœur. Merci pour chaque mot gentil que vous m'avez donné **Mrs Belkhamza Tawes , Mr Djamel** et Vous êtes comme un deuxième père pour moi .*

*Je suis fière de dire que vous êtes mes frères et que vous êtes du même sang que celui qui coule dans mes veines. J'espère que vos prochaine vie sera meilleure et que vous réaliserez tout ce que vous souhaitez **Anouar et Djalel***

*A mes soeur qui ne m'a pas mis au monde par ma mère Merci pour chaque minute et chaque seconde que nous avons partagées ensemble. Merci d'avoir été à mes côtés dans mes joies et mes peines. J'espère que tous nos rêves se réaliseront un jour. **Zahra et zahia***

C'est le hasard qui fait les amis et les amis sont la deuxième famille que l'on choisit A ma moitié **Ghofran** et mes chères amis **Rana** , **Anfel** , **Djihane** , **Wahid** et **Ramzi** Je ne peux plus trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection , vous êtes pour moi des sœurs et frères sur qui je peux compter, Je me souviendrai toujours tous les beaux moments que nous avons passés ensemble Nous sommes restés amis dans les hauts et les bas de nos vies. *Merci d'être dans ma vie, merci pour un jour vous êtes la raison de mon sourire je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

Nardjes

Dédicaces

*DIEU merci pour m'avoir donné la force d'accomplir ce travail. Un chaleureux merci à **ma mère (assia)** la prunelle de mes yeux, mon inspiration et mon guide lumineux. A **mon père** ma consolation, mon refuge et mon épaule solide qui ne s'incline jamais.*

*A **mes frères** « Oussama » « Imad » et bien aimés, dont la présence à mes côtés m'a été d'un soutien solide durant mon parcours .*

*J'exprime mon immense gratitude à **l'épouse de mon oncle** « Aissaoui Zitoune ouarda » , Les mots ne sauraient exprimer l'entendu de l'affection que j'ai pour vous et ma gratitude. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de prospérité. Qu'ALLAH vous bénisse et vous protège.*

*a toutes ma famille sans exception du plus vieux au plus jeune ainsi qu'à tous **mes amis** spécialement : «Kheiro» «Djad» « Zaid » «Narimane » « reda.» , mes collègues au laboratoire «Nour» «Racha» .*

Djihad

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS	
INTRODUCTION GENERALE	1

CHAPITRE I : Généralité & Synthèse Bibliographique

Introduction.....	3
I.1. Généralités sur les bio-polymères et les polysaccharides.....	5
I.1.1. Les Polymères.....	5
I.1.2. Les Biopolymères.....	6
I.1.3 Domaine d'application des polymères.....	7
I.2. Généralités Sur Les Polysaccharides.....	7
I.2.1. Définition.....	7
I.2.2. Classification des polysaccharides.....	8
I.2.3. Propriétés des polysaccharides.....	11
I.2.4. Applications des polysaccharides.....	13
I.2.5. Les Polysaccharides D'origine microbienne.....	13
a. Gomme Xanthane.....	13
b. Définition.....	13
c. Structure moléculaire de la GX.....	14
d. Caractéristique physicochimique et rhéologique de la GX.....	15
e. Applications de la Gomme Xanthane	16
f. Xanthane modifie.....	16

TABLE DES MATIERES

i. Kappa Carraghénane.....	17
▶ Définition.....	17
g. Structure des Carraghénanes.....	17
k. Propriétés des Carraghénanes.....	18
▶ Solubilité.....	18
▶ Effets des électrolytes.....	18
▶ Viscosité.....	19
l. Application de la Carraghénanes.....	19
m. Les Complexes Polyelectrolytes (PEC).....	19
I.2. Généralités sur la substance bioactive et les molécules biologiquement actives	
20	
I.2.1. La substance bioactive.....	20
a. Définition.....	20
b. Sources.....	20
c. Nature.....	20
d. Types d'interaction substance bioactive – matière biologique.....	20
e. Applications.....	21
I.2.2. Molécules biologiquement actives.....	21
b. Synthèse des molécules biologiquement actives.....	22
▶ Une synthèse chimique.....	22
▶ Une hémisynthèse.....	22
I.3. Généralités sur les vitamines.....	23
I.3.1. La vitamine C.....	23
a. Définition.....	23
b. Structure.....	24
c. Propriétés physico-chimiques.....	24
d. Les effets de l'acide ascorbique.....	25

TABLE DES MATIERES

I.3.2. La vitamine E.....	25
a. Définition.....	25
b. Structure.....	25
c. Propriétés physico-chimiques.....	26
d. Les effets de vitamine E.....	26
I.3.3. La vitamine D.....	26
a. Définition.....	26
c. Source naturelle de vitamine D.....	27
d. Rôle physiologique de la vitamine D.....	28
e. Les effets de vitamine D.....	28
Conclusion.....	29

CHAPITRE II : PROCEDE D'ENCAPSULATION

Introduction.....	26
II.1. Généralités sur l'encapsulation.....	27
II.1.1. Histoire de l'encapsulation.....	27
II.1.2. Intérêt de l'encapsulation.....	28
II.1.3. Définition de l'encapsulation.....	29
II.1.4. Procédés d'encapsulation.....	29
a. Méthode de préparation.....	31
b. Les différents procédés d'encapsulation.....	31
b.1. Procédés physico-chimiques.....	33
Procédé basé sur la séparation de phase.....	33
Microencapsulation par coacervation complexe.....	34
Microencapsulation par coacervation simple.....	35
Procédés d'évaporation et d'extraction de solvant :.....	35

TABLE DES MATIERES

Microencapsulation par gélification thermique.....	36
Procédé d'enrobage en lit fluidisé.....	37
b.2. Procédés mécaniques :.....	38
Procédé de nébulisation/séchage.....	38
b.3. Procédés chimiques.....	39
Polycondensation interraciaie.....	39
b.4. Autres procédés chimiques.....	39
II.1.5. Aperçu sur d'autres méthodes d'encapsulation.....	40
II.1.6. Efficacité d'encapsulation :.....	41
II.1.7. Procédés d'encapsulation.....	42
II.1.8. Le couple principe actif/polymère.....	42
II.1.9. La Fraction de phase organique/aqueuse.....	43
Conclusion.....	44

CHAPITRE III : Partie Expérimentale, Résultat et Discussions

Partie Expérimentale :.....	44
Partie I :.....	44
Introduction :.....	44
III.2. Matériel :.....	44
III.2.1. Expient.....	44
III.3. Réactifs.....	45
III.2.3. Appareillage :.....	46
III.3.1. Préparation des microparticules par encapsulation et gélification externe	
48	
1. Détermination Taux de Gonflement.....	52
2. Infrarouge a Transformée de Fourier (FTIR).....	53

TABLE DES MATIERES

3. Détermination de la quantité d'agent actif encapsulé.....	53
4. Détermination de la taille des microparticules :.....	54
Partie II :.....	55
Introduction.....	55
Caractérisation des émulsions :.....	55
Caractérisation des microparticules.....	58
▶ Taux de Gonflement :.....	58
▶ Identification de l'agent encapsulé par Spectroscopie FTIR :.....	59
▶ Taux D'encapsulation :.....	61
▶ Taille des particules.....	62
Conclusion:.....	62

Liste des Illustrations graphiques

Titre	Page
Chapitre I	
Figure I.1. Structure générale des polysaccharides	06
Figure I. 2 : Différentes classes de polysaccharides suivant leur origine	07
Figure I.3 : Structure de la gomme de xanthane	11
Figure I.4: Structure chimique du xanthane.	12
Figure I.5 : Chondrus crispus	14
Figure I.6 : Structure des carraghénanes	15
Figure I.7 : Synthèse d'espèce chimique	19
Figure I.8: Synthèse et hémisynthèse de molécules biologiquement actives	20
Figure I.9 : Formule d'Acide ascorbique	21
Figure I.10 : Structure de la vitamine E ou tocophérols	22
Figure I.11 : Structure des vitamines D2 et D3	23
Chapitre II	
Figure (II.1): Représentation schématique de la répartition de l'utilisation de l'encapsulation dans les différents domaines d'application	27
Figure II.2 : Méthode de préparation	29
Figure II.3 : Les différents procédés d'encapsulation	30
Figure II.4 : Comportement d'un coacervat (3) vis-à-vis d'une phase liquide	32
Figure II.5 : Schéma de principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe	33
Figure II.6 : Schéma de principe du procédé de micro encapsulation par évaporation de solvant	35

Liste des Illustrations Graphiques

Figure II.7 : Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique	36
Figure II.8 : Formation d'un film d'enrobage par spraycoating sur des particules solides	37
Figure II.9: Mécanisme de la polycondensation interfaciale	38

Chapitre III

Figure III.1 : Poudre de la Gomme Xanthane	44
Figure III.2 : Poudre Kappa-Carraghénane	45
Figure III.3 : Vitamine D3 ou cholécalciférol	47
Figure III.4 : Balance analytique	47
Figure III.5 : Agitateur magnétique	47
Figure III.6 : pH-mètre	47
Figure III.7 : Microscope optique	47
Figure III.8 : Spectrophotomètre d'absorption à transformée de fourrier	47
Figure III.9 : Spectrophotomètre UV	48
Figure III.10 : Représentation schématique du protocole étudié	50
Figure III.11 : KC100%	50
Figure III.12 : Aspect macroscopique de la formulation 2	51
Figure III.13 : Aspect macroscopique de la formulation 3	51
Figure III.14 : Formulation des particules	52
Figure III.15 : Vues microscopiques des émulsions primaires	57
Figure III.16 : Microparticules obtenus	58
Figure III.17 : Aspect des particules	59
Figure III.18 : spectres IR du xanthane modifié	60
Figure III.19 : spectres IR de Kappa-Carraghénane	60
Figure III.20 : spectres IR de la VitD3	61
Figure III.21 : Taille des particules	62

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1 : Grandes classes de bio-polymères issus du monde végétal

Tableau I.2 : Groupes caractéristiques des molécules biologiquement actives

Tableau I.3 : Aliments contenant naturellement de la vitamine D

Chapitre II

Tableau II.1 : Les techniques des différents Procédés de la microencapsulation.

Tableau II.2 : Classification des procédés de micro encapsulation

Tableau II.3 : impact des conditions chimiques sur les propriétés des
Microsphères

Chapitre III

Tableau III.1 : Réactifs, solvants et produits chimiques

Liste des Symboles & Abréviations

Liste des Symboles & Abréviations

GX : Gomme Xanthane

GXM : Gomme Xanthane modifié

KC : Kappa-Carragennane

PEC : Complexes Polyelectrolytes

H/E : Emulsion huile dans l'eau

d_n : Diamètre moyen en nombre

m_i : Masse des particules à l'état initial (au temps t=0)

m_g : Masse des capsules à l'état gonflé (au temps t)

T₀ : Quantité de P.A initiale placé dans la phase interne.

T₁ : Quantité de P.A présente dans la phase externe après formulation de microparticules



INTRODUCTION
GENERALE

Introduction Générale

Une molécule biologiquement active est une molécule ayant une action biologique, c'est-à-dire que son introduction dans le vivant va entraîner une réaction qui peut être bénéfique ou néfaste. Les vitamines sont des composés organiques nécessaires à une croissance prospère et à la santé. Elles ne sont souvent pas synthétisées par l'homme ou l'animal et doivent être apportées par l'alimentation. Bien que les vitamines puissent être classées selon plusieurs critères, en fonction de leur solubilité, elles peuvent être divisées en hydrosolubles et liposolubles. Les vitamines liposolubles comprennent les vitamines A (rétinol, bêta-carotène), D (cholécalférol), E (α -tocophérol) et K (phylloquinone).

Aujourd'hui, la population mondiale est confrontée à une carence en vitamine D (Vit D) même dans les pays les plus ensoleillés. En effet, sa biodisponibilité est affectée par les conditions de stress environnemental telles que la température, le pH, le sel, l'oxygène et la lumière. En plus de son rôle traditionnel dans le métabolisme osseux, la VitD est essentiellement nécessaire à la prévention de troubles tels que les maladies neuro-dégénératives, les maladies cardiovasculaires, le cancer, etc.

D'autre part, l'encapsulation des micronutriments semble un moyen efficace de préservation de ces molécules contre les différents types de stress précités [1]. L'encapsulation est un processus visant à piéger une substance (un agent actif) dans une autre substance (matériau de la paroi). La substance encapsulée, à l'exception de l'agent actif, peut être appelée le noyau, le fil, la phase active, interne ou la charge utile. La substance qui encapsule est souvent appelée le revêtement, la membrane, l'enveloppe, la capsule, le matériau de support, la phase externe ou la matrice [2]. C'est une technologie spécifiquement adaptée à fournir des composés à haute valeur ajoutée, capable de stabiliser et de contrôler la libération de composés bioactifs sensibles (antioxydants, des vitamines, des acidulants, des parfums, des arômes, des enzymes, des cellules microbiennes et autres).

L'encapsulation est une technique basée sur l'utilisation des polymères dont les biopolymères, d'origine végétale ou microbienne, qui est de nouveaux matériaux, prometteurs pour les applications pharmaceutiques ou autre en raison de leurs excellentes propriétés fonctionnelles et de leur acceptabilité en tant que composants naturels, qui sont dégradables par les enzymes digestives [3]. Ces molécules sont prometteuses pour l'encapsulation des biomolécules comme les vitamines dont la vitamine D atteint le but de ce travail.

Introduction Générale

Le présent travail est une approche bibliographique et expérimentale sur l'encapsulation la vitamine D en tant qu'une molécule biologiquement active par des biopolémeres. Le manuscrit s'articule en trois chapitres :

- Le premier chapitre est une synthèse bibliographique sur les biopolymères, les complexes polyélectrolytes dont principalement les polysaccharides, ainsi généralité sur la substance bioactive et les molécules biologiquement actives:
- Alors que le deuxième chapitre décrit les différentes techniques d'encapsulation des biomolécules ainsi les méthodes de préparation.
- En revanche, le troisième chapitre est consacré à la partie expérimentale ou on décrit les différents protocoles expérimentaux réalisés suivi par la discussion des différents résultats obtenus.
- Le travail s'achèvera par une conclusion générale.



CHAPITRE

I

Introduction

Les polysaccharides constituent une famille des bio-polymères dont la diversité de structures conduit à un large spectre de propriétés physico-chimiques, employés très souvent dans divers domaines et donc d'applications potentielles. L'utilité de ces polymères glucidiques hydrosolubles dans l'industrie pharmaceutique repose sans aucun doute sur la large gamme de leurs propriétés fonctionnelles

I.1. Généralités sur les bio-polymères et les polysaccharides**I.1.1. Les Polymères**

Le polymère est définie comme un système formé par un ensemble de macromolécules, c'est-à-dire d'entités moléculaires de grande taille issues de l'assemblage covalent d'un grand nombre d'unité répétitives plus communément appelées unités ou (motifs) monomère [4].

Les polymères sont des molécules très grandes, appelées macromolécules et construites à partir de molécules plus petites, les monomères.

Un polymère (ou homopolymère) est composé d'un unique type de monomères. Lorsqu'on est en présence de différents types de monomères, on parle alors de copolymère.

L'arrangement des différents monomères peut se faire de différentes manières, avec une incidence directe sur leurs propriétés. Ils peuvent être composés selon différentes proportions et disposés en différents blocs qui alternent dans la chaîne.

Le polymère linéaire est le plus simple des arrangements de monomères. Des chaînes linéaires peuvent également présenter des ramifications [5].

Les différentes chaînes de polymères peuvent être liées entre elles, par des liens chimiques (covalents) ou physiques (hydrogènes, ioniques, hydrophobiques). On parle de polymère réticulé [6].

I.1.2. Les Biopolymères

Les polymères issus des plantes ou biopolymères constituent la plupart du temps les parois cellulaires des végétaux comme la cellulose et la lignine. Ils servent également de réserve aux plantes en vue de leur croissance. On peut citer dans ce cas l'exemple de l'amidon. Ces polymères sont extraits directement des plantes.

Des monomères simples peuvent être également obtenus à partir des plantes après transformations chimiques et/ou enzymatiques de ces molécules. Par polymérisation de ces monomères, des polymères que l'on dit issus du végétal sont obtenus.

Les micro-organismes, par fermentation des molécules issues des plantes, produisent des polymères classés également comme biopolymères [7].

Les différentes classes de polymères issus des plantes sont reprises dans le tableau

Tableau I.1 : Grandes classes de bio-polymères issus du monde végétal [8]

Polysaccharides (plantes/algues)	Amidon, Cellulose, Agar, Alginate, Carraghénane, Pectine, Gommages, Konjac
Polysaccharides (par fermentation bactérienne)	Xanthane, Dextrane, Gellane, Curdlan Pullulane, Elsinane
Protéines	Zéine, Gluten, Polyacides aminés
Polyphénols	Lignines, Tannins, Acides humiques
Polyesters	Polymères d'acides lactiques (PLA) Polyhydroxyalcanoates (PHA)
Autres polymères	Polymères synthétisés à partir d'huile (nylon) Polyisoprènes : caoutchouc

I.1.3 Domaine d'application des polymères

Les polymères sont à la base de plusieurs matériaux et sont utilisés dans différents domaines, tels que : fibres textiles naturelles et synthétiques, mousses isolantes, colles, vêtements, vaisselle, emballage alimentaire (bouteille), et industrie (flacons de détergents, sachets,...) industrie chimique (tuyauteries, cuves,...) [9].

I.2. Généralités Sur Les Polysaccharides

Les glucides, encore appelés sucres ou hydrates de carbone, représentent avec les protéines, les lipides et les acides nucléiques, l'une des quatre grandes classes de constituant de la matière vivante [10]. On distingue les glucides simples (monosaccharides non hydrolysables) et des osides qui sont des polymères d'oses liés entre eux par des liaisons de type O-glucosidique. Ces derniers sont classés en deux grandes catégories selon leur degré de polymérisation : Les polyholosides, polyosides ou glucanes nommés polysaccharides ; sont des polymères biologiques présents chez tous les êtres vivants, notamment dans les végétaux comme l'amidon, la cellulose et les hémicelluloses ; dans les animaux comme le glycogène et dans les microorganismes (bactéries, champignons, algues) comme le xanthane [11].

I.2.1. Définition

Un polymère est une macromolécule qui se compose d'unités répétitives appelées monomères, lorsque les monomères sont identiques on parle d'homopolymères, au contraire, lorsqu'au moins deux unités monomériques sont différentes il s'agit plutôt de copolymères. Ces unités sont reliées entre elles par des liaisons covalentes. Il existe deux grandes classes de polymères: les naturels et les synthétiques.

Dans l'industrie pharmaceutique, le choix se porte le plus souvent sur les biopolymères et ce parce qu'ils présentent les avantages d'être économiques, disponibles, non-toxiques et souvent même biocompatibles et bio- résorbables [12] [13].

Les polysaccharides constituent une famille très importante de molécules polymériques appelés aussi glycanes, polyosides, polyholosides ou sucres complexes. Ils font partie de la famille des glucides « sucres ». Ce sont des sucres complexes, formés d'un grand nombre de molécules simples, soit de même nature chimique (homopolysaccharide), ou de plusieurs types de sucres simples liés ensemble (hétéropolysaccharides) [14].

La plupart de ces macromolécules naturelles sont hydrosolubles car portant un grand nombre de fonction hydroxyle, cependant certains polysaccharides sont très peu ou pas solubles dans l'eau en raison de structures particulières (ex: cristallinité de la cellulose) ou de fonction chimique spécifique [15].

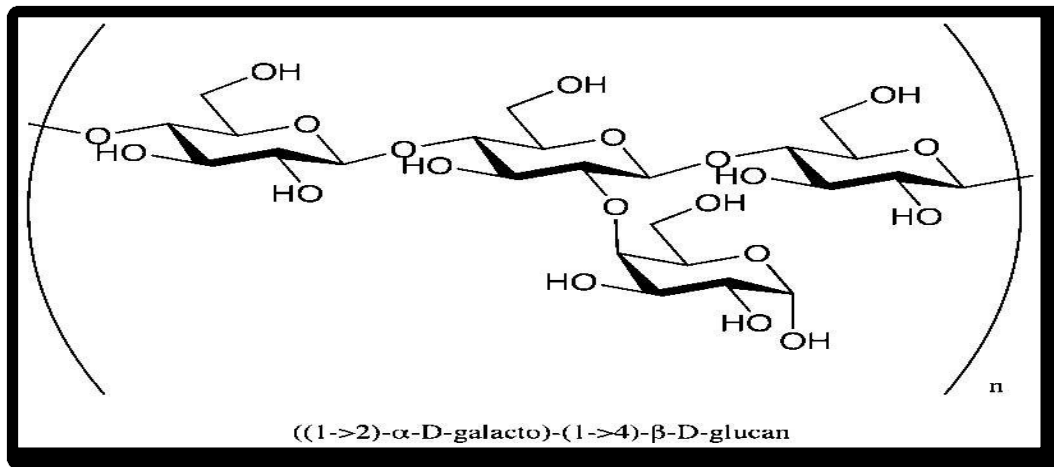


Figure I.1. Structure générale des polysaccharides [16]

I.2.2. Classification des polysaccharides

La très grande variété des systèmes polymères a amené les scientifiques et les industriels à les classer dans différentes catégories en fonction de leurs structures, de leurs natures, ou encore de leurs applications (Figure I.1): leur charge, leur structure ou encore leur origine

1. Selon leur charge on compte:

- ✓ Les polysaccharides anioniques : Gomme arabique et pectine.
- ✓ Les polysaccharides cationiques : Chitosane.
- ✓ Les polysaccharides non-ioniques : Cellulose.

2. Selon leur structure :

- ✓ Linéaire : Amylase, pectine...
- ✓ Ramifiées, à courte chaîne (Gomme guar...), et à longue chaîne (Gomme karaya...)

3. Selon leur origine :

- ✓ Marine (Extrait d'algues): Alginates, agar, carragheénans.
- ✓ Animale: chitine et chitosane.
- ✓ Végétale: Amidon et cellulose.
- ✓ Microbienne (Bactéries ou champignons): Glycane, pullulane, dextrane, xanthane. [17].

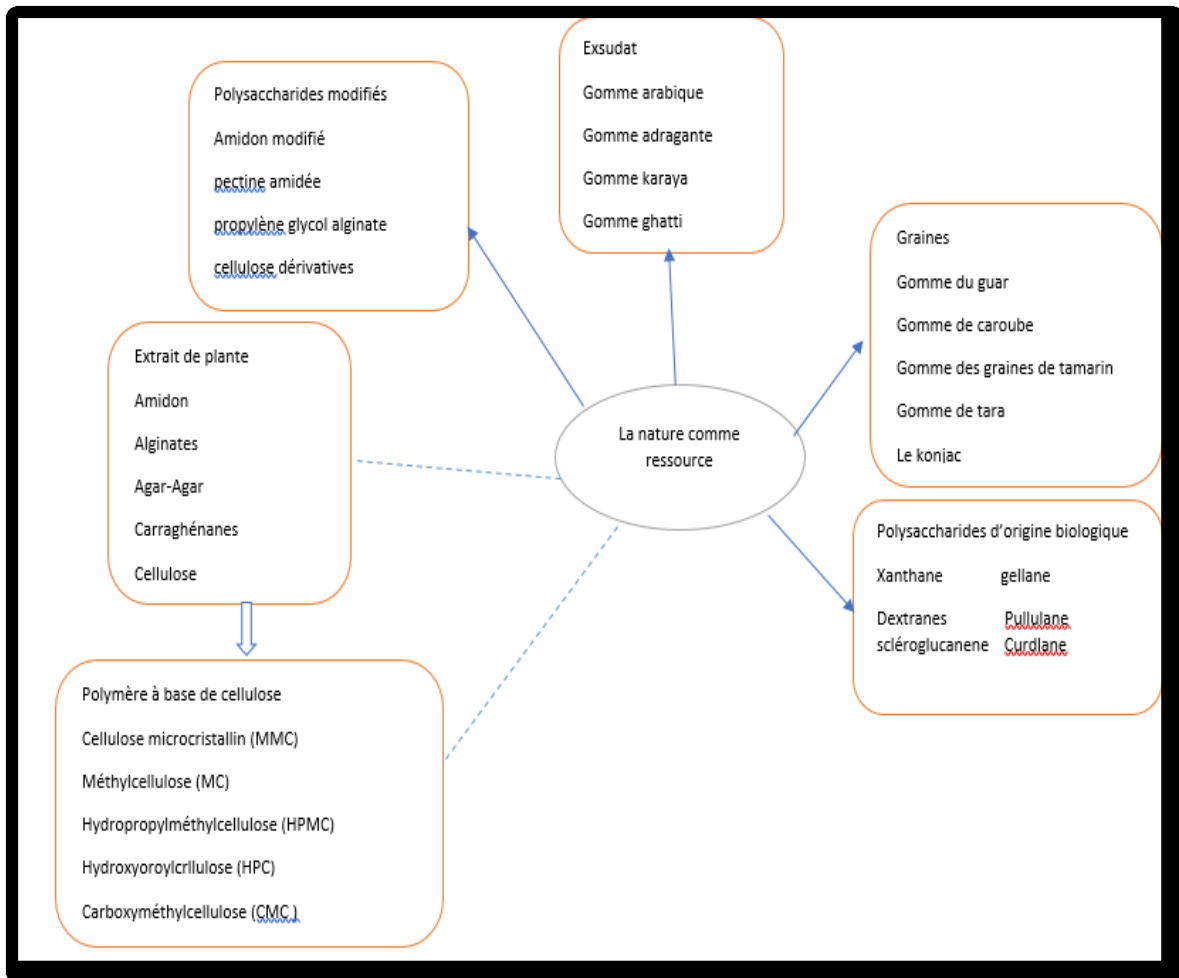


Figure I.2 : Différentes classes de polysaccharides suivant leur origine [17]

De même, leur complexité structurale induit à plusieurs types de Classification des polysaccharides fondées soit sur la composition en monomères, soit sur la structure, soit encore sur la fonction biologique assurée, et pour cela, les polysaccharides peuvent être classés selon trois catégories :

1. Selon la composition en monomères : on distingue les homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides, selon ce qui présentent dans leurs structures, un ou plusieurs types d'unités monosaccharidiques.
 - a) Les homopolysaccharides peuvent être linéaires (amylose, cellulose, chitine) ou ramifiés (amylopectine, glycogène). Ils sont classés selon la nature de l'unité osidique qui les compose. Les glucanes sont des polymères de D-glucose (dextranes), de l'ancien nom du glucose le dextrose, les galactanes sont des polymères de D-galactose et les xylanes

des polymères de D-xylose ; certains noms sont moins évocateurs : les chitosanes sont des polymères de D-glucosamine.

- b) Les hétéropolysaccharides sont classés selon la nature des principales unités osidiques qui les composent, les araboxylanes sont des polymères mixtes d'arabinose et de xylose. Les hétéropolysaccharides ne sont généralement formés que de quelques types de monosaccharides qui se suivent en séquence selon un schéma répétitif. Les ramifications sont assez communes chez les hétéropolysaccharides, mais elles suivent des schémas simples.
2. Selon leurs degrés de ramification, on peut constater des polysaccharides linéaires (amylose, cellulose, chitine), ou ramifiés (amylopectine, glycogène).
 3. Selon leurs fonctions biologiques : Les principaux polysaccharides de réserve sont présents dans : les bactéries, les champignons, les cellules animales (le glycogène) et dans les végétaux (l'amidon)... Ces macromolécules sont des $\alpha 1 \rightarrow 4 / \alpha 1 \rightarrow 6$ -homoglucanes, à l'exception de l'amylose qui n'est pas ou très peu ramifié.

D'autres polysaccharides de réserves, moins répandus que les précédents sont les fructanes (inuline, levanes), présents uniquement chez certains végétaux (artichaut, dahlia et quelques graminées). Des galactomannanes constituent des réserves chez les Champignons et les plantes, et les laminarines ($\beta 1 \rightarrow 3 / \beta 1 \rightarrow 6$ -homoglucanes) n'existent que chez les algues du genre *Laminaria*.

Les principaux polysaccharides de structure sont la cellulose des parois végétales ($\beta 1 \rightarrow 4$ -homoglucane), la chitine constitutive de la cuticule des arthropodes ($\beta 1 \rightarrow 4$ -chitosane), les hémicelluloses et les pectines (hétéropolysaccharides complexes).

D'autres polysaccharides de structure, moins répandus, sont l'agar-agar formé d'agarose et d'agaropectine et les carraghénates que l'on extrait des algues. Comme les pectines, ces molécules sont capables de former des gels utilisables dans la recherche scientifique et l'industrie (gels d'électrophorèse, agents accélérateurs de prise des confitures, gelées, lubrifiants etc...) [17].

I.2.3. Propriétés des polysaccharides

Les polysaccharides sont des macromolécules naturelles presque universelles qui existent dans les organismes vivants où ils effectuent une variété de fonction dont beaucoup ne sont pas entièrement comprises. Néanmoins, il est facilement reconnu qu'ils peuvent agir comme des substances squelettiques dans les parois cellulaires des plantes terrestres supérieures et des algues, qu'ils fournissent des réserves alimentaires dans les plantes, les micro-organismes et les animaux, et qu'ils peuvent fonctionner comme des substances protectrices dans les plantes sous forme de gomme d'exsudat obturant les sites de blessure, et dans les micro-organismes en tant que substance encapsulâtes. Ils fonctionnent également comme agent épaississants dans les fluides articulaires des animaux et aussi pour protéger les tissus de la dessiccation. Les polysaccharides peuvent également remplir des rôles plus spécifiques, par exemple en étant responsable de la spécificité de type de pneumocoques. Autres macromolécules naturelles, qui ne sont pas entièrement composés d'unités de sucre, contiennent des blocs de résidus de monosaccharides dans le cadre de la structure moléculaire. Les substances du groupe sanguin, par exemple, sont un groupe des glycoprotéines dans lesquelles la disposition des résidus de sucre dans les sous-unités glucides contribue aux spécificités des différents types [18-].

Les principales caractéristiques des polysaccharides sont leur capacité à modifier les propriétés ou environnements aqueux, c'est-à-dire leur capacité à épaissir, chélater, émulsionner, stabiliser, encapsuler, flocculer, gonfler et suspendre ou à former des gels, des films et des membranes. Des caractéristiques particulières telles que la biocompatibilité, la biodégradabilité, la bio adhésivité et la non-toxicité, associée à une large disponibilité et des coûts généralement faibles, expliquent leur exploitation croissante dans la formulation de produits pour applications alimentaires, biomédicales et cosmétiques, leurs dérivés sont classifiés comme des produits chimiques de spécialité [19].

De par leur structure chimique, les polysaccharides présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications spécifiques en industrie. La biodégradabilité est la plus importante.

* **Biodégradabilité** : La biodégradabilité de la plupart des polysaccharides est due à la présence de liaisons facilement clivables. La propriété de

biodégradabilité des polysaccharides est particulièrement intéressante pour des applications bien spécifiques.

* **Perméabilité à la vapeur d'eau** : La plupart des polysaccharides sont hydrophiles, ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau.

* **Biocompatibilité et biorésorbabilité** : Les polysaccharides sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse et libèrent des molécules assimilables et non toxiques [19].

I.2.4. Applications des polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères naturels provenant de sources renouvelables; par conséquent, leurs caractéristiques telles que la biocompatibilité, la biodégradabilité, la bio adhésivité et la non-toxicité ainsi leurs disponibilités à des coûts bas, expliquent leur grande utilisation dans la formulation des produits pour les applications alimentaires et cosmétiques.

Parmi les dérivés de polysaccharides, on s'est intéressé en particulier aux xanthane modifiés et au kappa-carragenane qui feront l'objet de cette étude [20].

I.2.5. Les Polysaccharides D'origine microbienne

a. Gomme Xanthane

Les bactéries produisent plusieurs types de polysaccharides classés selon leur localisation cellulaire. Certains ont un rôle de réserve et sont localisés dans le cytoplasme, d'autres sont des macromolécules constitutives de la paroi. La gomme xanthane est un hétéropolysaccharides ramifié, dont l'unité de répétition est un penta saccharide constitué d'une chaîne principale cellulosique avec une alternance au C-3 de chaque résidu glucose [21][22].

b. Définition

La gomme xanthane est un polysaccharide exo cellulaire hydrosoluble de masse moléculaire élevée. C'est un polysaccharide synthétisé par l'espèce bactérienne *Xanthomanas Campestris*. Le xanthane est complètement soluble dans l'eau chaude ou froide, s'hydrate rapidement une fois dispersé et facilite la rétention d'eau en produisant des solutions très visqueuses à faible concentration. De plus, ses solutions

ont des viscosités uniformes dans un intervalle de températures allant de la congélation à presque l'ébullition et une stabilité thermique excellente [23].

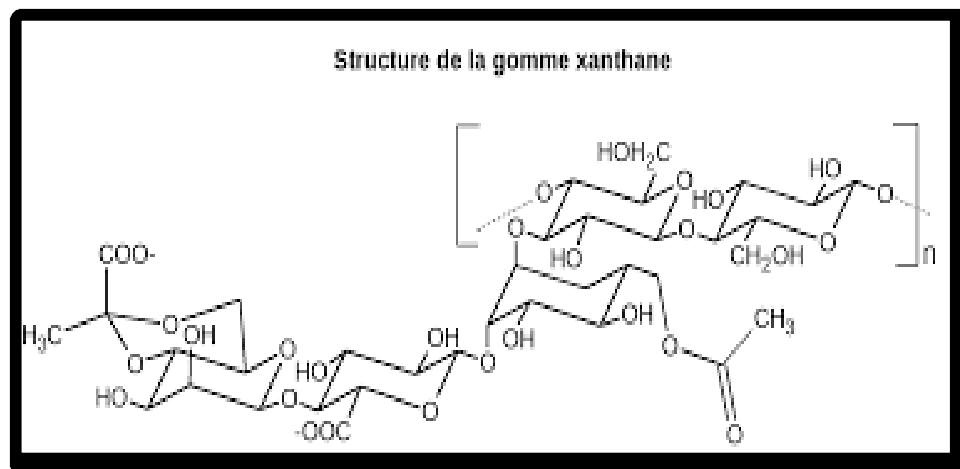


Figure I.3: Structure de la gomme de xanthane [23]

c. Structure moléculaire de la GX

Le xanthane est un hétéropolysaccharide anionique constitué d'un squelette cellulosique linéaire de β -(1 \rightarrow 4)-D-glucoses dont une unité sur deux est substituée en C3 par une chaîne latérale trisaccharidique. Cette dernière contient un résidu D-mannose lié en α -(1 \rightarrow 3), d'un acide D-glucuronique lié en β -(1 \rightarrow 2) et d'un D-mannose terminal lié en β -(1 \rightarrow 4). Près de la moitié des résidus D-mannose terminaux. [24][25].

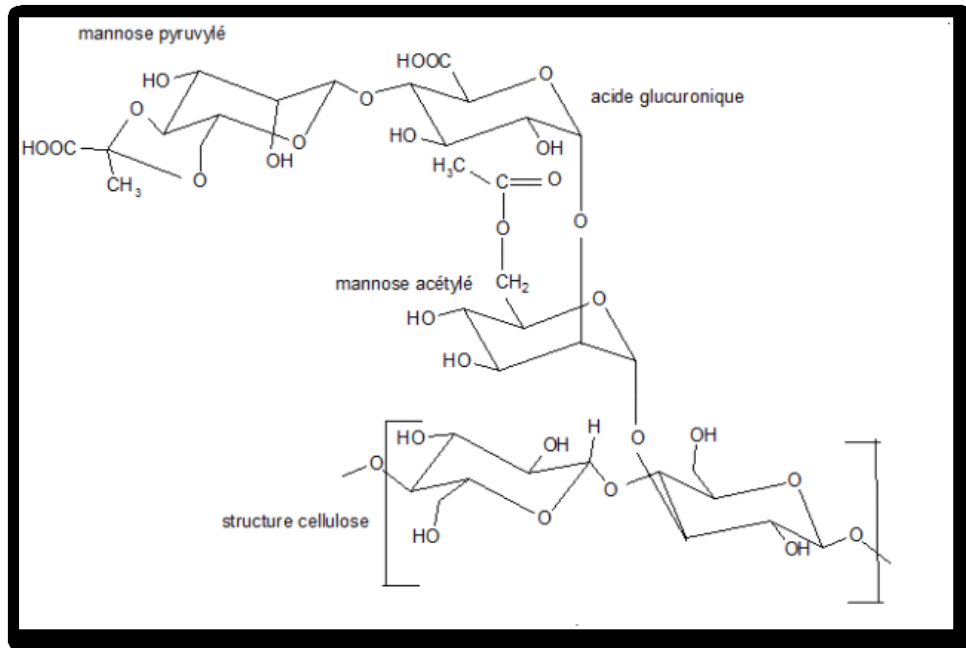


Figure I.4: Structure chimique du xanthane. [25]

Le xanthane comporte également des groupements acétate et pyruvate, situés respectivement sur le carbone 6 du mannose interne et sur les carbones 4 et 6 du mannose terminal. La proportion de ces groupements varie d'une gomme xanthane à une autre selon la nature de la souche bactérienne utilisée [26][27], les conditions de fermentation [28] [29].

d. Caractéristique physicochimique et rhéologique de la GX

La rigidité moléculaire structurelle de cette gomme lui donne des propriétés inhabituelles telles que la stabilité à la chaleur, la tolérance aux milieux acides et basiques ainsi elle lui donne une viscosité stable ce qui lui confère une résistance à la dégradation enzymatique.

- Solubilité : Le xanthane n'est pas soluble dans les solvants organiques. Il est facilement soluble dans les hautes et basses températures. Il se dissout dans des solvants inorganiques notamment l'eau ou il se dissout complètement et facilement.
- La viscosité: Les solutions aqueuses de GX sont très visqueuses. Cette viscosité n'est pas affectée par la température ni par le point de congélation et

point d'ébullition c'est pourquoi il est choisi par l'industrie agroalimentaire car les propriétés des produits finis dans lesquels ils sont utilisés restent inchangées, qu'ils soient en réfrigération, à la température ambiante ou même dans des zones chaudes.

- Propriétés rhéologiques: Les solutions de xanthane ont une importance dans la stabilisation des suspensions et des émulsions. Cette propriété pseudo-plastique améliore les caractéristiques sensorielles du produit final (sensation en bouche, libération d'arôme) [30].

e. Applications de la Gomme Xanthane

Les applications de la gomme du xanthane dans l'industrie sont nombreuses et variées.

En effet, grâce à sa nature et à ses propriétés, il est possible de utiliser comme agent texturant ou viscosifiant ou encore comme substituts de certains additifs, conservateurs

- Applications dans l'industrie alimentaire

- Boissons industrielles et emballées aromatisées: pour les boissons contenant de la pulpe de fruit, la gomme xanthane est utilisée pour maintenir les fruits en suspension, ce qui leur donne une meilleure apparence.

-Sirops : la gomme améliore la fluidité et l'adhésion des sirops aux fruits de la crème glacée ou des pancakes, contrôler le ruissellement et la pénétration.

- Applications pharmaceutiques et cosmétiques

La gomme xanthane est utilisée comme épaississant dans les sirops ou comme stabilisant dans les émulsions dans l'industrie. Pour les cosmétiques, il est utile pour la stabilité qu'il procure au pH, la température, les sels et les acides [31].

f. Xanthane modifié

La présence de groupements neutres ou chargés sur le squelette carboné des polysaccharides ouvre la voie à diverses modifications chimiques. L'objectif de ces dernières est d'obtenir des systèmes de polymères avec des propriétés nouvelles ou améliorées comparées à celles du polymère non modifié. Ces systèmes pourront être utilisés pour des applications variées.

Ces modifications peuvent consister à faire varier les taux d'acétate et/ou de pyruvate [32][33][34][35][36][37], ou encore greffer des composés sur les fonctions hydroxyle ou acide carboxylique du polymère.

i. Kappa Carraghénane

➤ Définition

Les algues sont des organismes eucaryotes photosynthétiques qui à des lignées phylogénétiques différentes. Les algues rouges (*Rhodophyta*) font partie, comme les algues vertes (*Chlorophyta*) et les plantes supérieures (*Streptophyta*) de la lignée des plantes, alors que les algues brunes (*Phaeophyta*) appartiennent à la lignée des hétérokontes. La paroi de certaines algues rouges est principalement composée de polysaccharides sulfatés : les carraghénanes. La première algue carraghénophyte découverte fut *Chondrus crispus* (*Irish Moss*) en 1862 par Stanford, qui donna le nom « *carrageenin* » au matériel gélatineux qu'il avait extrait de l'algue (Figure I.5) [38].

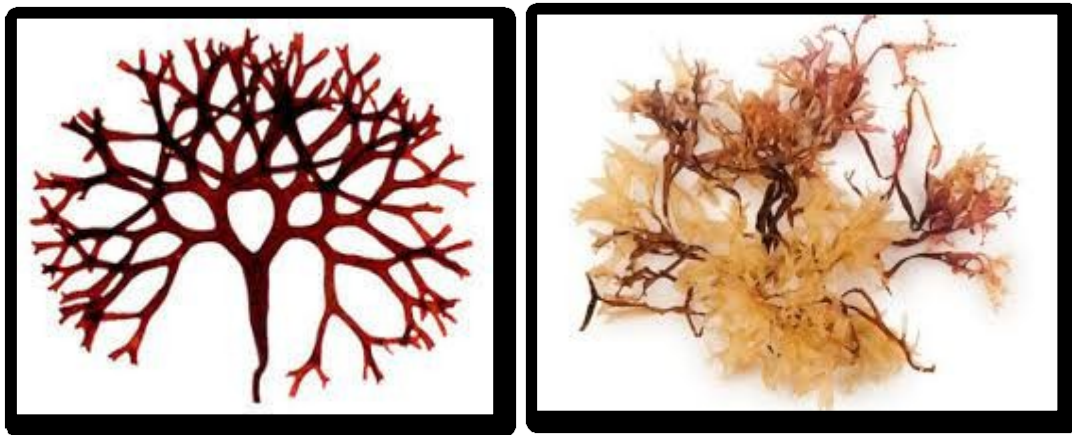


Figure I.5 : *Chondrus Crispus* [36]

g. Structure des Carraghénanes

Les carraghénanes sont composés alternativement d'unités (1→3) β-D-galactopyranoses (unités G) et (1→4)α-D-galactopyranoses (unités D). Les (1→4)α-D-galactopyranoses peuvent aussi exister sous la forme 3,6-anhydrogalactopyranoses (unités DA) . Les unités G et/ou D peuvent être substituées à différentes positions par des sulfates (S), des O-méthyles (M) ou des groupements d'acide pyruvique sous la forme de kétal cyclique (P), créant ainsi une grande

diversité de structures de carraghénanes (Figure 1.6). La position des substituant est indiquée par le numéro des carbones auxquels ils sont attachés sauf pour le groupement P toujours positionné sur les mêmes carbones 4 et 6 de l'unité D. [39]

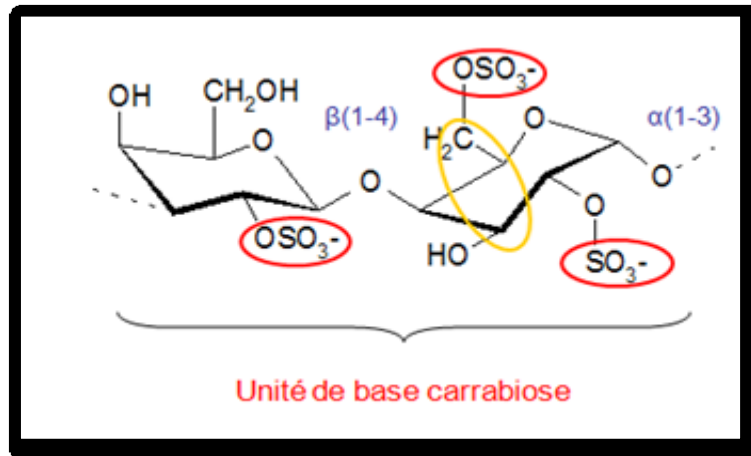


Figure I.6 : La structure des carraghénanes [39]

k. Propriétés des Carraghénanes

➤ **Solubilité**

Les carraghénanes sont solubles dans l'eau, mais la température de solubilisation dépend du type de copolymère et des cations associés à l'ester sulfatent. Plus il y a de groupements sulfate, plus la molécule est soluble.

Le Kappa carraghénane est le moins hydrophile des carraghénanes, sa solubilisation totale ne pourra être assurée que par élévation de la température.

Cette température de solubilisation dépendra en outre du cation associé, la forme sodique étant plus facilement soluble que la forme potassique. Cependant, tous les carraghénanes sont insolubles dans les solvants organiques apolaires et dans la plupart des solvants organiques polaires.

➤ **Effets des électrolytes**

Le pouvoir gélifiant des carraghénanes est grandement influencé par la présence d'électrolytes, qui sont nécessaires pour permettre cette gélification. Les sels de potassium (K^+) sont les plus réactifs et de ce fait les plus utilisés. La densité du gel de Kappa carraghénane augmente en fonction des concentrations de (K^+). Ainsi, plus la concentration en (K^+) est élevée plus le gel est dense.

Les ions calcium (Ca^{++}) ont également une influence sur le pouvoir gélifiant des carraghénanes, mais leur effet est plus marqué pour la fraction Iota avec laquelle ils forment un gel très élastique et cohérent.

➤ **Viscosité**

Les carraghénanes forment des solutions visqueuses dans l'eau dont les propriétés dépendront de la concentration, de la température, du type de carraghénanes et de la masse molaire. La viscosité augmente proportionnellement avec la concentration et la masse molaire alors que les sels, eux réduisent la viscosité [40]

l. Application de la Carraghénanes

Les carraghénanes sont utilisés dans les préparations alimentaires pour leur capacité à lier de grandes quantités d'eau en vue d'en modifier le comportement rhéologique : épaissement, gélification et stabilisation.

Cependant, les carraghénanes ne sont pas seulement utilisés dans le domaine alimentaire, mais aussi dans le domaine médical et dans les cosmétiques. Bien souvent, pour ce type d'applications, les carraghénanes sont volontairement dégradés afin de réduire leur viscosité.[38]

m. Les Complexes Polyelectrolytes (PEC)

Les Polyélectrolytes D'une manière générale, les polyélectrolytes sont des polymères portant des groupes ionisés, qui peuvent, dans un solvant polaire, se dissocier en chaînes polymères chargées (macro ions) et contre-ions de petite taille.

Contrairement aux polymères neutres, la compréhension du comportement de poly électrolytes en solution est encore loin d'être totale. La principale difficulté dans ces systèmes vient de la présence de forces de Coulomb, à longue portée. Il est également important de noter que l'influence des interactions à courte portée (volume exclu, condensation des contre-ions) induit des couplages extrêmement complexes au sein de ces systèmes.

Les contre-ions peuvent exister dans deux différents points : certains sont localisés sur le polymère par des liaisons ioniques (contre-ions condensés) et d'autres ne sont pas fixés par le polymère (contre-ions mobile). Mais ces ions restent autour du polymère dans une zone d'influence du macro-ion. Ces interactions électrostatiques

conduisent à des comportements en solution très différents de ceux des polymères neutres. Citons par exemple :

- Le passage du régime dilué au semi-dilué se fait à des concentrations en polymère très inférieures à celles de solutions de chaînes neutres.

- La pression osmotique des poly électrolytes en solution est très supérieure à celle des polymères neutres aux mêmes concentrations.

- La viscosité des solutions de poly électrolytes dans le régime dilué est Proportionnelle à la racine carrée de la concentration, tandis qu'elle est Directement proportionnelle à la concentration pour des chaînes neutres. [41].

I.2. Généralités sur la substance bioactive et les molécules biologiquement actives

I.2.1. La substance bioactive

a. Définition

La substance bioactive se définit comme étant une molécule tirée ou extraite d'une source naturelle biologique (animale ou végétale) et qui est biologiquement active

b. Sources

les substances bioactives sont de source naturelle biologique végétale (végétaux terrestres et marins) ou animale (animaux et microorganismes terrestres, animaux et microorganismes marins).

c. Nature

flavonoïdes, huiles essentielles, alcaloïdes, acides gras polyinsaturés, peptides bioactifs, ...

d. Types d'interaction substance bioactive – matière biologique

L'interaction substance bioactive – matière biologique peut être de type physicochimique (établissement de liaisons chimiques), de type physique (modification de l'environnement ou de l'état physique).

e. Applications

Les substances bioactives sont utilisées directement ou après avoir subi une modification chimique dans plusieurs secteurs industriels: cosmétiques, pharmaceutiques, additifs nutritionnels, compléments alimentaires [42].

I.2.2. Molécules biologiquement actives

Une molécule biologiquement active est une molécule qui a les propriétés d'interagir avec l'organisme, Comme l'ibuprofène qui est utilisé comme anti-inflammatoire.

a. Groupes caractéristiques

Les molécules biologiquement actives (médicaments par exemple) tirent leurs propriétés de leur structure, mais aussi des fonctions organiques qu'elles possèdent. Le tableau ci-dessous en présente les principales. Certaines sont déjà connues.

Tableau I.2 : Groupes caractéristiques des molécules biologiquement actives [42]

Nom	Structure	Observations
Alcool	$\begin{array}{c} \text{R}'' \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \\ \end{array}$	Le carbone porteur du groupe hydroxyle OH doit être tétragonal : 4 liaisons simples.
Aldéhyde	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{H} \end{array}$	Fonction en bout de chaîne carbonée.
Acide carboxylique	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \end{array}$	Caractère acide de la molécule.
Ester	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}-\text{R}' \end{array}$	Molécule pouvant présenter des propriétés odorantes : parfums.
Amine primaire	$\begin{array}{c} \text{N} \\ \quad \quad \\ \text{R}' \quad \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	Caractère basique de la molécule

b. Synthèse des molécules biologiquement actives**➤ Une synthèse chimique**

Consiste à fabriquer une nouvelle molécule à partir d'une réaction chimique. l'enjeu d'une synthèse est de partir de molécules faciles à se procurer (peu chères), en ayant un rendement le plus élevé possible, ce qui inclut l'énergie investie (chauffage). Il faut aussi tenir compte de l'éventuelle nocivité/toxicité de certains réactifs, produit intermédiaires ou sous produits de réaction. Enfin il est nécessaire de prévoir l'extraction et la purification de la molécule à synthétiser [43].

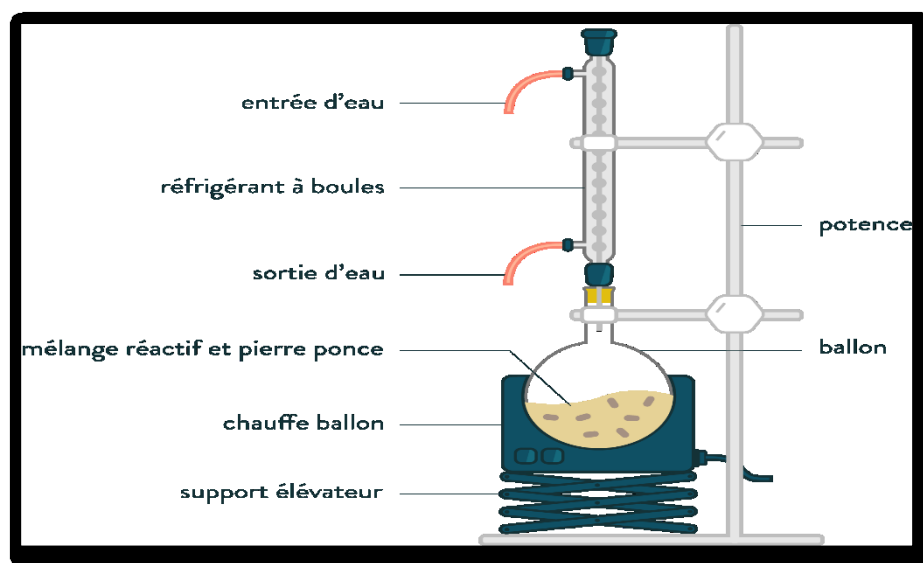


Figure I.7 : Synthèse d'espèce chimique [44]

➤ Une hémisynthèse

Est un cas particulier de synthèse chimique. la molécule de départ est issue directement de substances naturelles et correspond quasiment dans sa structure à la molécules que l'on souhaite produire. l'enjeu d'une héli-synthèse est un légère modification afin de faire acquérir à la molécule cible des propriétés qu'ellen'avait pas, ou la rendre plus assimilable pour un consommateur. L'intéret par rapport à une synthèse est d'économiser des étapes dans la fabrication [43].

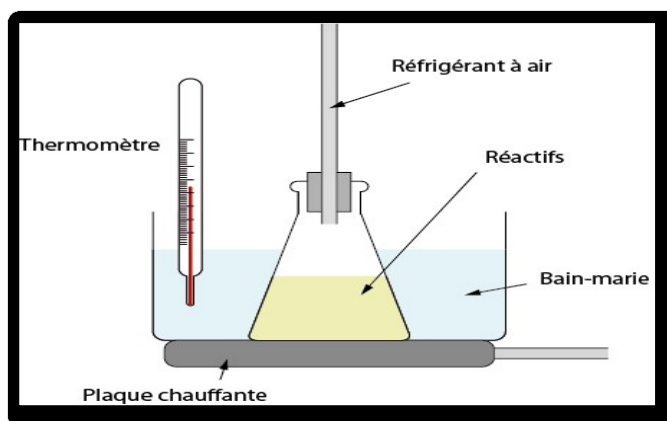


Figure I.8: Synthèse et hémisynthèse de molécules biologiquement actives
[45]

I.3. Généralités sur les vitamines

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique propre, qui sont nécessaires à l'organisme et que l'homme ne peut synthétiser en quantité suffisante. Elles doivent être fournies par l'alimentation, existe plusieurs vitamines comme vit C, vit E et vit D [46].

I.3.1. La vitamine C

a. Définition

La vitamine C ou acide ascorbique, l'ascorbate ou simplement (l'anion de l'acide ascorbique), est un nutriment essentiel pour l'homme et certains autres espèces animales.

La vitamine C se réfère à un certain nombre de vitamines qui ont une activité de vitamine C chez les animaux, y compris l'acide ascorbique et ses sels, et des formes oxydées de la molécule comme l'acide ascorbique [46].

b. Structure

Le terme vitamine C est utilisé comme terme générique Pour tous les composés possédant l'activité biologique de l'acide L'ascorbique.

Le principal composé naturel ayant une activité vitamine C est l'acide ascorbique. Ce dernier est synthétisé par les plantes et la plupart des animaux, exceptés les primates et les cochons d'Inde.

De formule brute $C_6H_8O_6$, avec un poids moléculaire de 176,13 g/mol, l'acide ascorbique comporte Synthèse bibliographique une fonction γ lactone, une fonction

en diol (HO-C=C-OH) support de son activité biologique et qui conféré à la molécule des propriétés acides (formation de sels sodique, plombique) et enfin deux fonctions alcool, l'une primaire et l'autre secondaire [47].

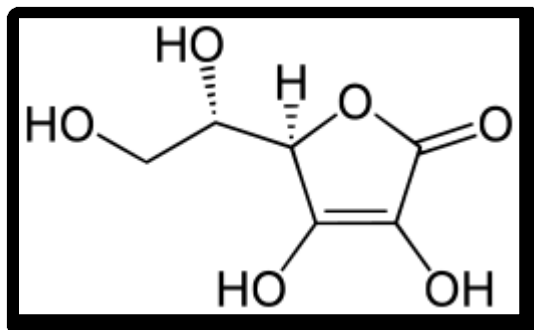


Figure I.9 : acide ascorbique [48]

c. Propriétés physico-chimiques

L'acide ascorbique est une poudre cristalline, blanche, inodore, stable au contact de l'air, à la lumière du jour et à température ambiante pendant plusieurs mois, de saveur légèrement acide et qui se décompose à la température de 190°C.

L'oxydation en milieu aérobie de l'acide ascorbique en présence d'ions de métaux de transition est la plus importante réaction responsable de la perte de la vitamine C dans les aliments.

La vitesse d'oxydation dépend des concentrations de vitamine C et d'ions métalliques mais aussi de la teneur en ions H⁺ du Milieu ; en effet a pH très bas, voisin de 1, l'acide ascorbique est Complètement proton et plus difficilement oxydable qu'a un pH plus élevé.

- dans la zone de pH allant de 5 à 10 la maximum absorption de l'acide ascorbique est à 265nm.
- En solution très acide (pH < 2), l'acide ascorbique présent un maximum d'absorption a 244nm [44].

d. Les effets de l'acide ascorbique

La vitamine C est impliquée dans un grand nombre de réactions biologiques où elle n'agit pas en tant que coenzyme, mais comme oxydoréduction par inter conversion forme oxydée/forme réduit.

- Il existe une controverse au sujet de la possibilité que de hautes doses de vitamine C augmentent le risque de calculs rénaux
- De hautes doses de vitamine C (plus de 2 000 mg par jour) peuvent occasionner des selles molles, de la diarrhée et des troubles gastro-intestinaux [49] .

I.3.2. La vitamine E

a. Définition

La vitamine E est une vitamine liposoluble recouvrant un ensemble de huit molécules organiques, quatre tocophérols et quatre tocotriénols.

La forme biologiquement la plus active est l' α -tocophérol, la plus abondante dans l'alimentation étant le γ -tocophérol.

Ces molécules sont présentes en grande quantité dans les huiles végétales. Elles agissent, parallèlement à la vitamine C et au glutathion, essentiellement comme antioxydants contre les dérivés réactifs de l'oxygène produits notamment par l'oxydation des acides gras [50] .

b. Structure

Les tocophérols sont constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à seize atomes de carbone [50] .

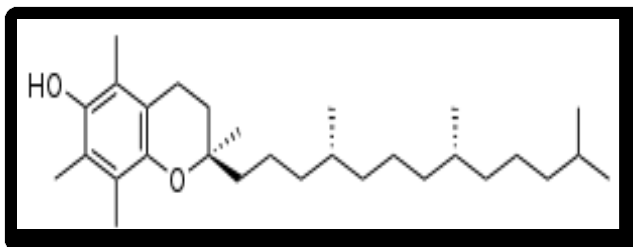


Figure I.10 : Structure de la vitamine E ou tocophérols [50]

c. Propriétés physico-chimiques

A la température ambiante, les tocophérols se présentent sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses. Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases.

Les esters de tocophérols et notamment l'acétate de d'un tocophérol sont relativement Stables [50].

d. Les effets de vitamine E

La vitamine E a un pouvoir antioxydant élevé. Elle se trouve dans les membranes à proximité immédiate des acides gras hautement insaturés des phospholipides et peut les protéger de façon optimale.

Elle empêche ainsi les modifications ou déstabilisations des structures membranaires qui sinon pourraient engendrer des troubles fonctionnels.

Dans les aliments, elle protège aussi les acides gras insaturés facilement oxydables.

La vitamine E a par ailleurs un effet sur le système immunitaire [50] .

I.3.3. La vitamine D**a. Définition**

La vitamine D est une vitamine liposoluble (soluble dans les lipides). C'est une hormone retrouvée dans l'alimentation et synthétisée dans l'organisme humain à partir d'un dérivé du cholestérol ou d'ergostérol sous l'action des rayonnements UVB du Soleil.

Elle peut provenir de deux précurseurs immédiats (**Figure I.11**)

- La vitamine D2 ou ergocalciférol qui est d'origine végétale et
- La vitamine D3 ou cholécalciférol qui est d'origine animale

Pour quantifier la vitamine D dans le médicament ou l'alimentation, on utilise l'unité internationale (UI) ou le microgramme ; la concentration sanguine est exprimée en nanomole par litre (nmol/l) ou en nanogramme par millilitre (ng/ml). Ces unités sont liées par la relation [50] :

$$100 \text{ UI} = 2,5 \mu\text{g}$$

$$1 \text{ nmol/l} = 0,4 \text{ ng/ml}$$

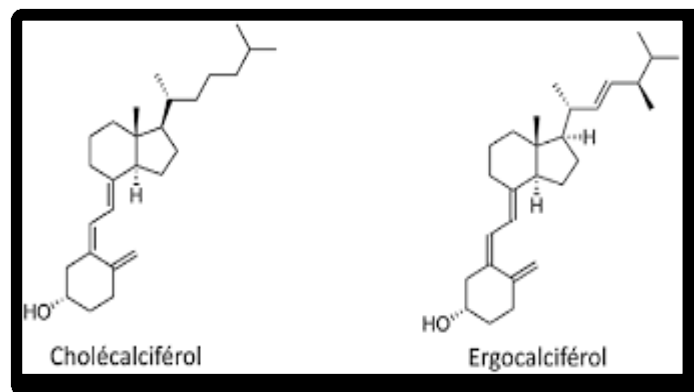
b. structure

Figure I.11 : Structure des vitamines D2 et D3 [50]

c. Source naturelle de vitamine D

Très peu d'aliment contiennent naturellement des quantités significatives de vitamine D (Tableau I.3). D'une part, la D2 naturelle d'origine végétale est synthétisée à partir de l'ergostérol (provitamine D) : l'ergocalciférol est donc d'origine exogène uniquement.

D'autre part, la D3 naturelle d'origine animale est synthétisée dans l'épiderme et le derme sous l'action des UVB solaires : le cholécalciférol est donc d'origine endogène et exogène. La source principale de vitamine D chez l'homme provient de l'exposition au soleil (90-95%). Durant cette exposition, les rayonnements UVB (290-315 nm) photolysent le 7-déhydrocholestérol (7-DHC) de l'épiderme en prévitamine D3. Une fois formé, celle-ci subit une isomérisation thermique pour former la D3.

Tableau I.3 : Aliments contenant naturellement de la vitamine D [51]

Les sources alimentaires de vitamine D	
Aliments	Teneurs (en $\mu\text{G} / 100\text{G}$)
Huile de foie de morue	250
Foie de morue cru	100
Chinchard*	48
Harnng fumé	22
Espadon	16
Anguille	16
Truite arc en ciel	15
Saumon	13
Anchois	11
Cacahuètes	10.3
Thon	7.8
Sardines en boîte	7.5
Shiitaké	5.45
Thon à l'huile (en boîte)	3.9
Champignon (cépe)	3.8
Rillettes de saumon	3.1
Jaune d'oeuf	2.5
ait entier	2

d. Rôle physiologique de la vitamine D

La vitamine D joue un rôle important dans le métabolisme phosphocalcique : elle agit essentiellement au niveau de l'intestin en stimulant l'absorption intestinale du calcium (Ca) et du phosphore (Ph), entraînant une augmentation de la calcémie et de la phosphorée. Ainsi, une carence profonde en vitamine D se traduit par un déficit de minéralisation de l'os, appelé rachitisme chez l'enfant et ostéomalacie chez l'adulte. Tout fois, de nombreux autres tissus de l'organisme sont équipés de récepteurs à la vitamine D et de l'enzyme (1α -hydroxylase) capable de transformer la 25(OH)D en 1,25 (OH)D, hormone active capable d'agir comme un véritable facteur de croissance [52].

e. Les effets de vitamine D

Elle agit surtout sur l'intestin et sur l'os :

- Au niveau de l'intestin elle favorise l'absorption du calcium et du phosphore.
- Au niveau de l'os la carence en vitamine D entraîne un défaut de minéralisation du tissu stéroïde responsable du rachitisme chez l'enfant et de l'ostéomalacie chez l'adulte

La vitamine D3 tributaire de la lumière de soleil, est produite par des précurseurs cutanés en réponse aux rayons ultraviolets [52] .

Conclusion

Les biopolymères sont de nouveaux matériaux, prometteurs pour les applications pharmaceutiques en raison de leurs excellentes propriétés fonctionnelles et de leur acceptabilité en tant que composant naturels, qui sont dégradables par les enzymes digestives. Ce chapitre a décrit le potentiel d'ingénierie des bio polymères dans diverses application à l'échelle micro / nanométrique pour la stabilisation des principes actifs et leur libération de manière contrôlée vers un site ciblé.



CHAPITRE

II

Introduction

A travers ce chapitre, nous avons présenté les différents types et procédés d'encapsulation. En outre nous avons analysé et étudié les différentes applications et cela afin de faciliter notre étude

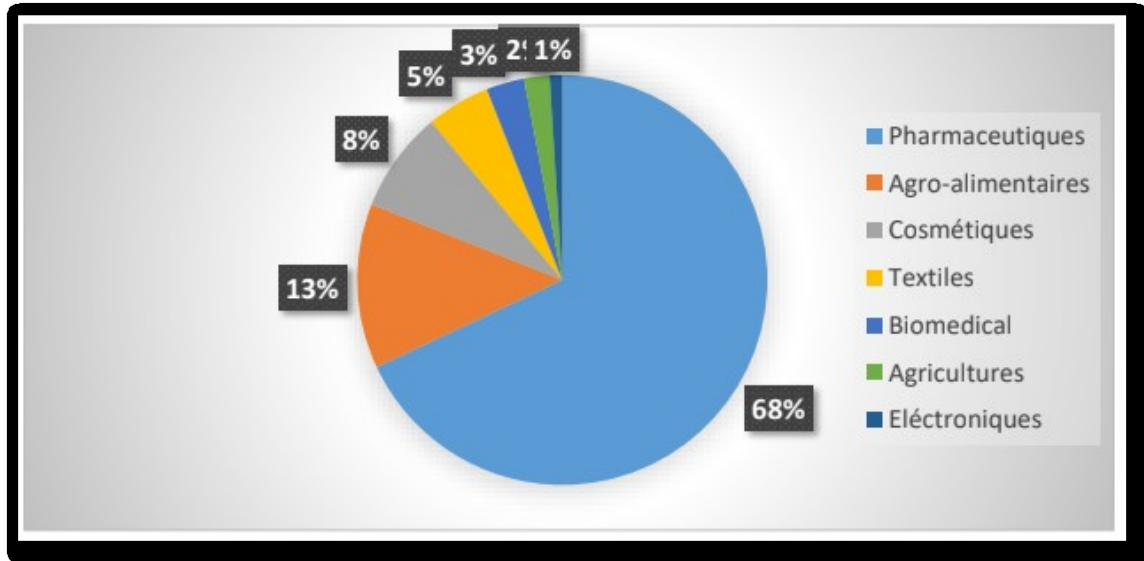
Compte tenu de cela, nous proposons les détails du travail dans le chapitre suivant.

II.1. Généralités sur l'encapsulation**II.1.1. Histoire de l'encapsulation**

Toute technique confondue, l'encapsulation permet l'emprisonnement de principes actifs sous formes solide, liquide ou gazeuse au sein d'un matériau support [53]. Le papier autocopiant fut le premier produit commercial généré par l'utilisation des microcapsules, développé par Green et Schleicher dans les années 50.

C'est dans les années 50 qu'ont été développés les premiers produits encapsulés, avec la fabrication du papier copie sans carbone, sur lequel était fixé des microcapsules contenant de l'encre. Sous l'effet d'une pression, les capsules s'ouvraient, libérant ainsi les actifs protégés. Aujourd'hui, les applications de l'encapsulation sont nombreuses et touchent des domaines tels que les industries chimiques, agro-alimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques, nutraceutiques, l'agriculture, les textiles ou encore la peinture [54].

Donc, il y a de nombreuses possibilités pour utiliser l'encapsulation comme technique d'obtention des produits à haute valeur ajoutée. La **Figure II.1** nous montre la répartition, en pourcentage, de l'utilisation de l'encapsulation dans différents domaines d'application. Il est clair que le secteur qui a le plus haut niveau des applications est celui des médicaments (68%), suivi du secteur alimentaire (13%) et la cosmétique (8%). Par contre le secteur de l'électronique (ex : textile intelligent) ne représente que 1% [55].



FigureII.1 : Représentation schématique de la répartition de l'utilisation de l'encapsulation dans les différents domaines d'application [55].

II.1.2. Intérêt de l'encapsulation

Suivant les domaines et les applications, l'encapsulation a pour but d'assurer la protection, la compatibilité et la stabilisation d'une matière active dans une formulation. Elle permet d'améliorer la présentation d'un produit ou encore de masquer une odeur ou un goût.

Enfin, l'encapsulation peut modifier et contrôler le profil de libération d'une substance active pour obtenir, par exemple, un effet prolongé ou déclenché [56] .

L'encapsulation a un bénéfice pour la modification des caractéristiques physiques du produit original afin de [57] :

- Faciliter la manipulation
- Aider à séparer les composants du mélange qui réagirait autrement entre eux.
- Fournir une concentration adéquate et une dispersion uniforme d'un agent actif.

D'une manière générale, l'encapsulation peut être considérer comme un moyen qui permet le piégeage d'un ou plusieurs objets au sein d'un matériau en vue de [58] :

- Son immobilisation
- Sa protection
- Le contrôle de sa libération
- Sa structuration et Sa fonctionnalisation

II.1.3. Définition de l'encapsulation

L'encapsulation est une technique qui consiste à piéger ou enrober une substance ou un mélange de substances spécifiques à l'aide de matériaux adaptés. Les substances à encapsuler peuvent être liquides, solides ou gazeuses. Ce sont souvent des principes actifs sensibles ou instables à certains facteurs environnementaux ayant une action ciblée (vectorisation), ou bien des substances dont on souhaite modifier l'état (transformation d'un liquide en solide par exemple) [59].

Dans le domaine d'encapsulation 2 types de particules peuvent être obtenues selon leurs tailles:

- ✓ Microparticules
- ✓ Nanoparticules

D'après Benoit et al., (2013) ; la taille des microparticules est comprise entre 1 μ m et 1000 μ m, Thies, (1987) a réduit l'intervalle de définition des microparticules de 1 μ m à 500 μ m.

D'après ces intervalles, toutes les particules qui représente un diamètre inférieur à 1 μ m sont considérées comme des nanoparticules.

II.1.4. Procédés d'encapsulation

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour favoriser l'encapsulation des composés bioactifs. Le choix de la méthode d'encapsulation la plus appropriée dépend essentiellement du type de matériau de base et des caractéristiques du produit final où l'encapsulation sera appliquée. De plus le choix de matériau de la paroi de la capsule a une grande influence sur les propriétés de la substance encapsulée, particulièrement sur l'efficacité d'encapsulation, et devrait être considéré soigneusement [60].

Il existe plusieurs manières de classer les procédés industriels d'encapsulation suivant différents critères [61] :

- ✓ L'utilisation ou non de solvant organique
- ✓ La nature du milieu dispersant : liquide, gazeux ou à l'état supercritique,
- ✓ L'utilisation de polymères préformés, de lipides ou de monomères
- ✓ Le procédé utilisé pour réaliser la microencapsulation.

Cette dernière manière de classer les procédés industriels est la plus couramment utilisée, donc on distingue 3 groupes de procédés [62] :

- Les procédés mécaniques :

sont basés sur le séchage ou la solidification de gouttelettes contenant tous les constituants de la future particule.

- Les procédés chimiques :

sont caractérisés par un déclenchement simultané de la synthèse de la membrane (ou de la matrice) et de l'encapsulation du principe actif. Les procédés chimiques n'utilisent donc pas de matrices enrobantes préformées.

- Les procédés physico-chimiques :

sont dépendants : -1- de la solubilité des agents enrobant sous l'effet de variations des conditions physiques (température, pH, ajout d'un non solvant ou d'un polymère incompatible...), -2- de changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobants [62].

a. Méthode de préparation

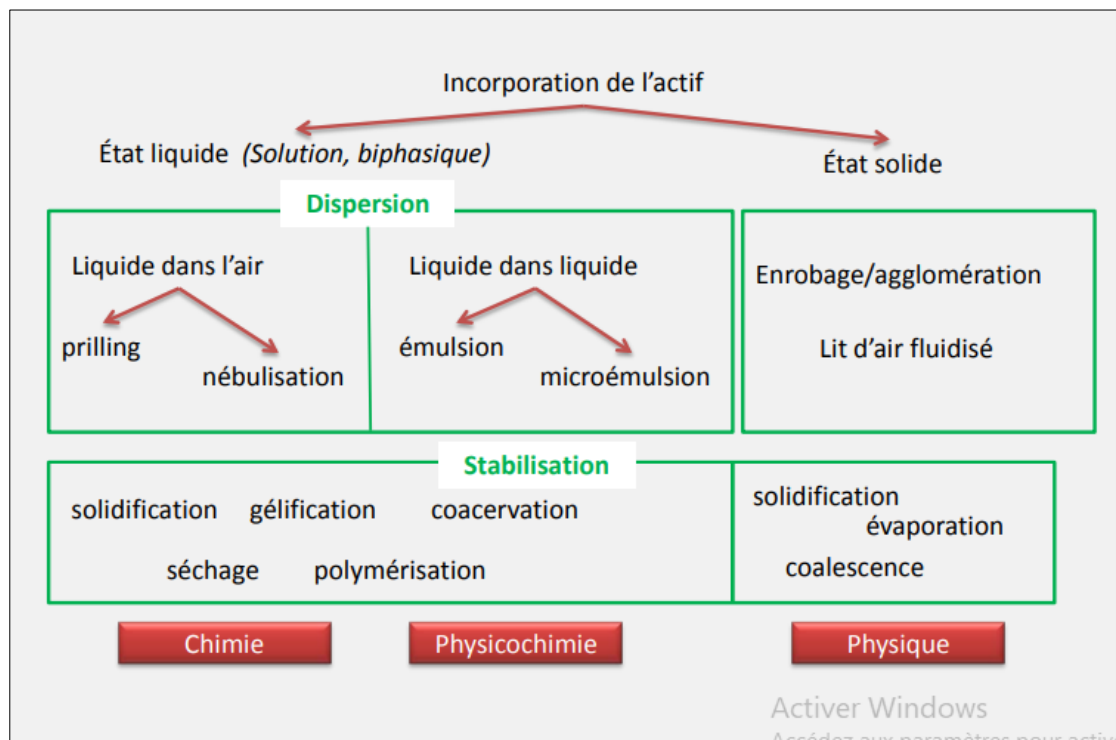


Figure II.2 : Méthode de préparation [63]

b. Les différents procédés d'encapsulation

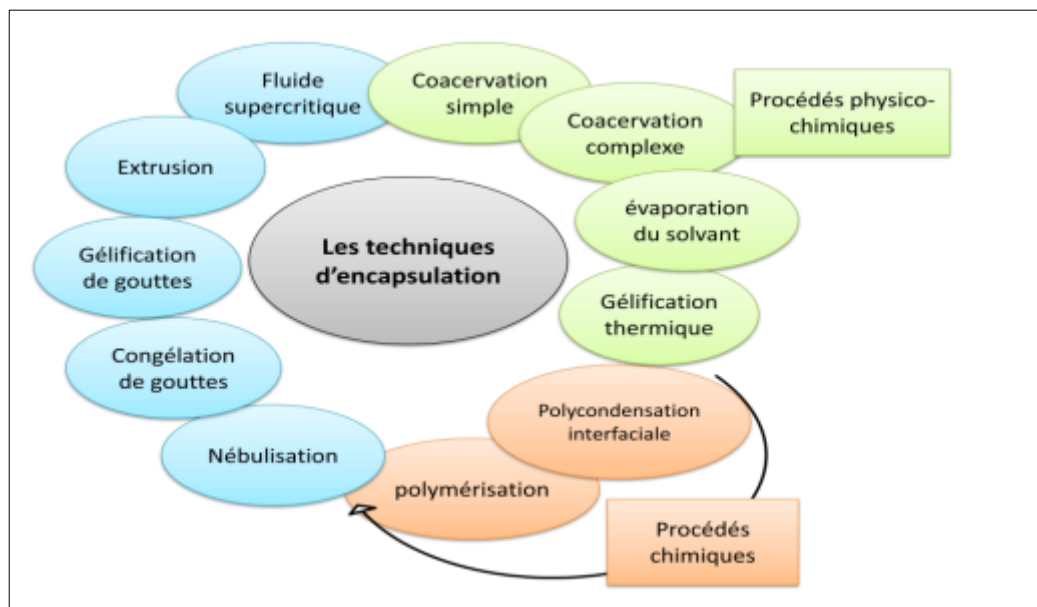


Figure II.3 : Les différents procédés d'encapsulation [64]

La figure II.3 présente les différents procédés de microencapsulation appliqués dans les laboratoires et à l'échelle industrielle ; la gamme de tailles des microparticules obtenus sont classés dans le tableau II-1 avec les procédés expérimentaux de fabrication des microparticules suivi des références.

Tableau II.1 : Les techniques des différents Procédés de la microencapsulation.

Les procédés de la microencapsulation	Les techniques	Gamme de tailles de microparticules obtenues	Références
Procédés physico-Chimiques	Coacervation (simple ou complexe)	2 – 1200 µm	[65] [66]
	Evaporation/extraction de solvant	0,5 – 200 µm	[67] [68]
	Gélification thermique		[69]
Procédés chimiques	Polymérisation en milieu	2 – 2000 µm	[70]
	Polymérisation radicalaire ou Anionique		[71]
Procédés mécaniques	Procédé basé sur la technologie fluide supercritique	1 – 200 µm	[72]
	Spray drying	200 – 800 µm	[73] [74]
	Gélification ou Congélation de gouttes	35 – 5000 µm	[75]
	Enrobage en lit fluidisé		[76]
	Extrusion	≥ 200 µm	[77]

b.1. Procédés physico-chimiques

- **Procédé basé sur la séparation de phase**

La coacervation est le phénomène de désolvatation des macromolécules, conduisant à une séparation de phases au sein d'une solution. A l'issue de la coacervation, deux phases sont présentes dans le milieu :

- Le coacervat : riche en polymère et pauvre en solvant.
- Le surnageant : pauvre en polymère et riche en solvant.

Si, dans le même temps, une matière active est dispersée dans ce milieu, sous forme de gouttelettes par exemple, le coacervat formé pourra l'encapsuler si les conditions d'étalement des phases en présence sont respectées[64].

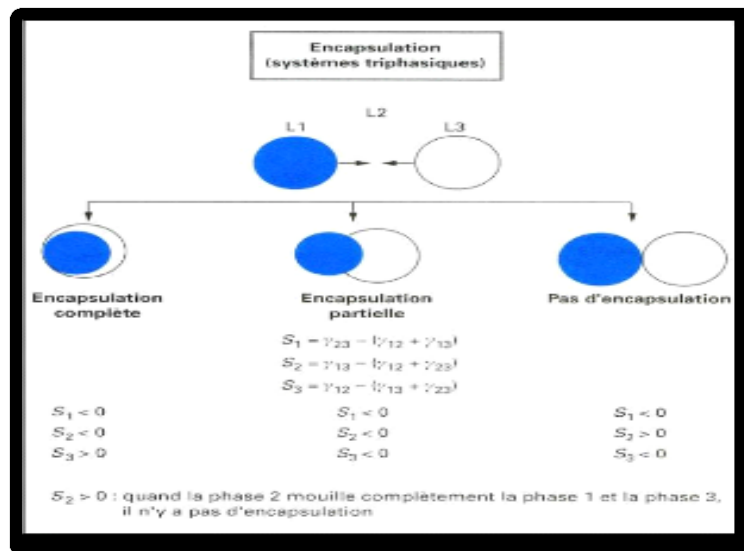


Figure II.4 : Comportement d'un coacervat (3) vis-à-vis d'une phase liquide [78]

- **Microencapsulation par coacervation complexe**

La coacervation complexe est une désolvatation simultanée de deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées en provoquant par une modification de pH du milieu aqueux. En effet, la structure du coacervat est complexe puisqu'elle comprend deux polymères.

Le procédé de microencapsulation par coacervation complexe se déroule de la façon suivante (figure II.5) :

- Dans un premier temps, le produit à encapsuler (sous forme liquide ou solide) 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 [78].

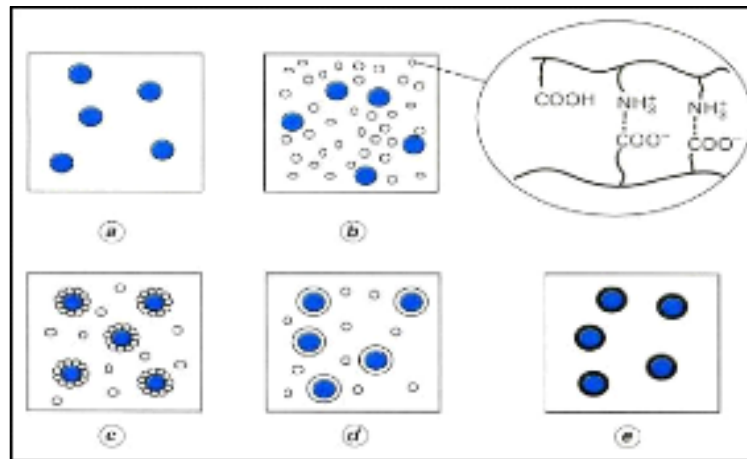


Figure II.5 : Schéma de principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe [78]

La microencapsulation par coacervation complexe est largement utilisée dans de nombreux secteurs industriels. Dans le milieu pharmaceutique, cette technique est également mise en œuvre pour la microencapsulation de paraffine liquide, d'huiles essentielles utilisées en aromathérapie.

- **Microencapsulation par coacervation simple**

La coacervation simple se rapporte aux procédés faisant intervenir la désolvation d'un seul polymère par l'un des facteurs suivants : abaissement de température, addition d'un non solvant, addition d'électrolytes, addition d'un deuxième polymère incompatible. Ce phénomène peut se dérouler en milieu aqueux ou organique. Les

étapes du procédé sont en tous points identiques à celles décrites pour la coacervation complexe. Les particules obtenues sont généralement des microcapsules. Toutefois, dans certains cas, le procédé par coacervation simple permet d'obtenir des microsphères. C'est le cas lorsque la proportion de substance active est faible par rapport au volume du coacervat.

La taille des microparticules obtenues ainsi que la teneur en matière active sont semblables à celles résultant du procédé par coacervation complexe [78] .

- **Procédés d'évaporation et d'extraction de solvant :**

La méthode de microencapsulation par évaporation de solvant repose sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation. Les étapes sont résumées comme suit:

Initialement, le matériau d'enrobage, généralement un polymère hydrophobe, est dissous dans un solvant organique volatil. La molécule active à encapsuler est alors soit dissoute, soit dispersée dans la solution organique.

- La phase organique est émulsionnée sous agitation dans une phase aqueuse, contenant un agent tensioactif.
- Une fois l'émulsion établie, le solvant organique diffuse progressivement dans la phase continue sous agitation pour s'évaporer, laissant le polymère précipiter sous forme de microsphères (figure II.6) [64].

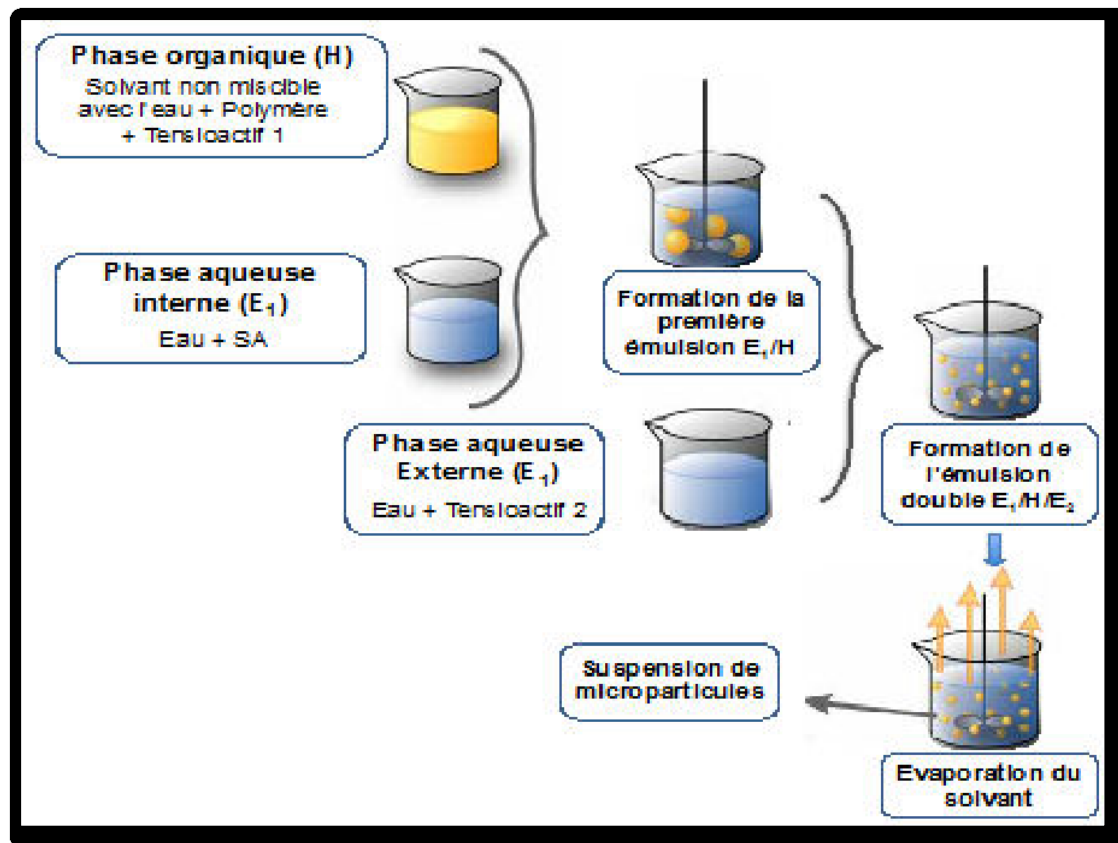


Figure II.6 : Schéma de principe du procédé de micro encapsulation par évaporation de solvant [64]

- **Microencapsulation par gélification thermique**

Ce procédé, encore appelé hot melt, repose sur la fusion du matériau d'enrobage. La matière active à encapsuler est dissoute ou dispersée dans ce matériau fondu. L'ensemble est émulsionné dans une phase dispersante, dont la température est maintenue supérieure à la (T_f) de l'enrobage et pour laquelle la matière active n'a aucune affinité : il s'agit d'eau distillée lorsque la substance à encapsuler est lipophile, et d'huile de silicone, par exemple, lorsqu'elle est hydrosoluble. La solidification des globules dispersés est obtenue en refroidissant brutalement le milieu [78] . (figure II.7)

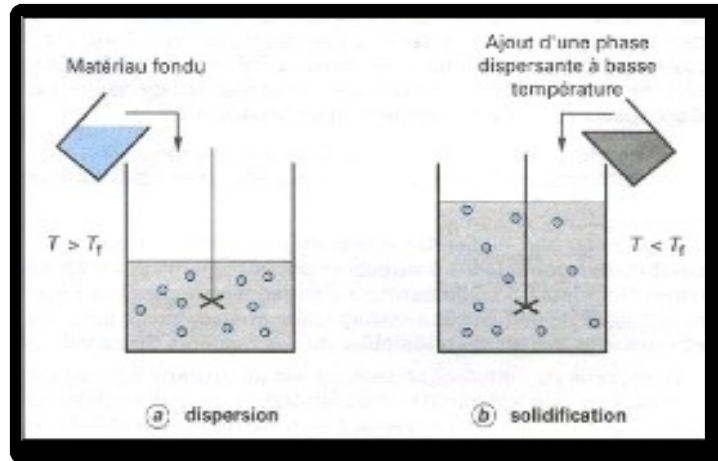


Figure II.7 : Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique [78]

- **Procédé d'enrobage en lit fluidisé**

Le procédé d'enrobage en lit fluidisé s'applique exclusivement à des matières actives constituées de particules solides (granulés, cristaux). Des matières actives liquides peuvent néanmoins être encapsulées après absorption par des supports particuliers poreux. Le procédé permet de réaliser un enrobage continu de particules qui conduit donc à la production de microcapsules. Il comprend une séquence cyclique en trois temps : [64]

- Fluidisation de la poudre de particules
- Pulvérisation du matériau enrobant sur les particules
- Séchage et filmification de l'enrobage

b.2. Procédés mécaniques

- **Procédé de nébulisation/séchage**

Le procédé de nébulisation/séchage est un procédé continu en une seule étape qui permet de transformer une formulation liquide initiale en une forme microparticulaire sèche.

La formulation liquide initiale peut être constituée :

- Soit d'une solution de matière active et de matériau enrobant ;
- Soit d'une dispersion de particules solides de matière active dans une solution ou une émulsion de matériau enrobant ;

- Soit encore d'une émulsion de matière active dans une solution de matériau enrobant.

Ce procédé comprend les quatre étapes séquentielles suivantes :

- a. Nébulisation de la formulation liquide initiale pour former un aérosol ;
- b. Mise en contact de l'aérosol avec un flux d'air, porté à une température contrôlée
- c. Séchage rapide de l'aérosol pour former des microparticules solides ;
- d. Séparation de la poudre de microparticules et de l'air contenant le solvant vaporisé [64] .

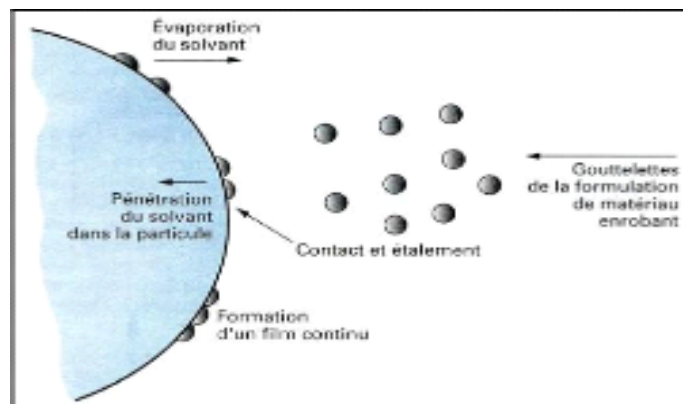


Figure II.8 : Formation d'un film d'enrobage par spraycoating sur des particules solides [64]

b.3. Procédés chimiques

- **Polycondensation interraciale**

La polycondensation interfaciale est un procédé qui permet de préparer *in situ* une membrane polymère à la surface de gouttelettes d'émulsion, grâce à une réaction chimique entre deux monomères bien choisis, la réaction se déroulant à l'interface entre la phase dispersée et la phase dispersante. La méthode s'applique à des solutions de matières actives, aussi bien organiques qu'aqueuses, ou à des matières actives liquides. Cette méthode sera décrite en détail dans la suite de cette partie de thèse .Le principe de ce procédé est schématisé sur la figure II.9 .

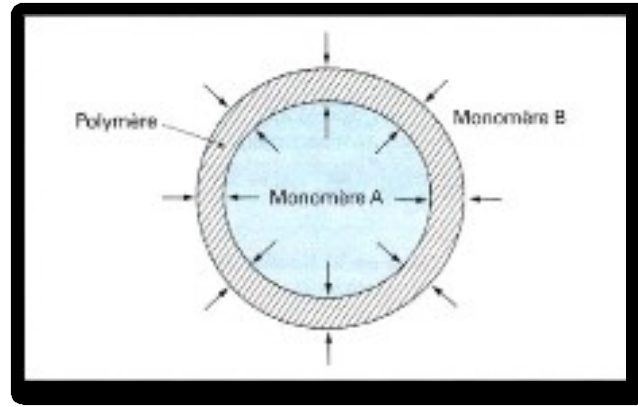


Figure II.9: Mécanisme de la polycondensation interfaciale
[79]

La taille des microcapsules obtenues par polycondensation interfaciale est comprise entre environ 0,5 μm et 100 μm selon la taille initiale des gouttelettes d'émulsion [79].

b.4. Autres procédés chimiques

Les autres procédés chimiques de microencapsulation sont des procédés basés sur la polymérisation radicalaire ou anionique en milieu dispersé. Il s'agit des procédés de polymérisation en: Emulsion, Microsuspension, Dispersion, Miniémulsion, Microémulsion.

Les particules obtenues présentent des tailles comprises entre quelques dizaines de nanomètres et quelques dizaines de micromètres, et sont le plus souvent de type matriciel (nanosphères ou microsphères).

Les deux procédés utilisés dans ce travail sont la microencapsulation par évaporation de solvant et la polycondensation interfaciale [64].

II.1.5. Aperçu sur d'autres méthodes d'encapsulation

La nanotechnologie fait appel à plusieurs autres méthodes d'encapsulation tels que:

- **Le déplacement de solvant ou « la nanoprécipitation »** où seuls les principes actifs liposolubles peuvent être encapsulés avec une efficacité d'encapsulation satisfaisante, mais cette méthode ne permet pas l'obtention de microparticules [80] [81].

- **La désolvatation ou « Salting-out »** permet l'obtention de nanoparticules mono-dispersées avec une taille qui peut être ajustée en modulant les paramètres de préparation. Cependant, l'inconvénient de cette méthode est l'utilisation de fortes concentrations de sels, exigeant plusieurs étapes de purification minutieuse [81] [82].
- **L'émulsion-diffusion** dont les avantages sont: l'utilisation de solvants organiques acceptables pour la voie parentérale, et qui sont présents en très faibles quantités dans la préparation finale, l'efficacité d'encapsulation relativement élevée, la reproductibilité et la possibilité de la transposition d'échelle. Cependant, cette méthode présente les inconvénients suivants:
 - L'utilisation de grands volumes d'eau, qui doivent être éliminés à la fin de la préparation.
 - L'instabilité éventuelle des principes actifs dans la phase organique saturée en eau dans les premières étapes de la préparation;
- **Les Méthodes de préparation par polymérisation** qui permettent l'obtention de nanoparticules et de microparticules en ajustant les paramètres de la préparation [83, 84, 85].
- **La polymérisation en émulsion** au cours de laquelle on assiste à la formation de nucléos stables, qui deviennent le lieu principal de la polymérisation par adsorption de nouveaux oligomères et monomères du milieu, pour donner naissance à des particules polymériques. Les particules croissent jusqu'à la consommation totale du monomère.
- **La polymérisation en dispersion:** lorsque les oligomères atteignent une taille critique, ils se précipitent pour former des particules primaires stabilisées par les molécules du tensioactif non ionique ajoutées au milieu aqueux. Enfin, ces particules fusionnent pour former des "nanoparticules".
- **La polymérisation en microémulsion-inverse « polymérisation micellaire»:** Les oligomères formés conduisent à la formation de nanoparticules de faible taille.
- **La polymérisation interfaciale** qui repose sur l'encapsulation de substances liquides. La combinaison de l'émulsification spontanée à la polymérisation interfaciale permet d'obtenir des nanocapsules [86].

II.1.6. Efficacité d'encapsulation :

L'efficacité d'encapsulation d'un principe actif dépend de son affinité vers le polymère constitutif des particules. Ceci est lié à la structure du polymère, son poids moléculaire et aux interactions principe actif-polymère [87]. La plupart des polymères employés dans la préparation des micro- et nanoparticules sont hydrophobes, par conséquent, les principes actifs liposolubles sont plus facilement encapsulés que les principes actifs hydrosolubles. Toutefois, le taux d'encapsulation des principes hydrosolubles peut être optimisé par différents moyens : le choix du procédé de préparation, l'optimisation du pH de la phase aqueuse, l'utilisation des additifs [88]. La détermination de l'efficacité d'encapsulation nécessite au préalable la purification des particules par filtration, ultracentrifugation ou lavage afin d'éliminer la fraction non encapsulée du principe actif. Une fois, la purification est effectuée, l'efficacité d'encapsulation peut alors être calculée, après dosage du principe actif piégé à l'intérieur du vecteur ou adsorbé à sa surface, comme étant le pourcentage de la quantité dosée par rapport à la quantité théorique utilisée dans la formulation. La détermination de l'efficacité d'encapsulation peut être réalisée d'une manière indirecte par le dosage de la fraction non encapsulée du principe actif qui sera déduite de la quantité totale incorporée dans la préparation.

II.1.7. Procédés d'encapsulation

Il existe de nombreuses classifications des technologies de microencapsulation [89]. Elles peuvent être basées sur la nature du solvant utilisé, le coût énergétique ou encore les applications industrielles. Une des classifications les plus courantes consiste à diviser ces technologies selon la nature du procédé mis en jeu (**Tableau II.2**). En raison de leur utilisation pour ce projet, le séchage par atomisation et l'encapsulation par gélification ionotropique seront détaillés de façon plus approfondie. D'autres procédés de microencapsulation couramment utilisés pour l'encapsulation de matières actives hydrophobes seront ensuite décrits de façon plus succincte.

Tableau II.2 : Classification des procédés de micro encapsulation [89]

Procédés physico-chimiques	Procédés physico-mécaniques	Procédés chimiques
Coacervation (simple ou complexe)	Séchage par atomisation (spray-drying)	Polymérisation interfaciale
Evaporation/extraction de solvant	Lyophilisation (freeze-drying)	Polymérisation en milieu dispersé
Solidification thermique	Enrobage en lit fluidisé	
Gélification de gouttes	(Co) Extrusion	
	Utilisation de fluides supercritiques	
	Déposition couche par couche	
	Déposition par disque rotatif	

II.1.8. Le couple principe actif/polymère

L'affinité entre le principe actif et le polymère possède un certain impact sur l'efficacité de l'encapsulation; fait dû par exemple à l'hydrophobicité du polymère matrice, sa cristallinité... [90,91]. Ce phénomène d'affinité entre le principe actif et la matrice d'enrobage peut aussi être expliqué par le fait que lorsque la masse molaire du polymère diminue, le nombre de fonctions terminales de type acide carboxylique par exemple augmente [92], ce qui engendre la possibilité de formation de liaisons «hydrogène » avec le principe actif et cela peut permettre d'améliorer l'affinité entre ce couple et d'augmenter ainsi le taux d'encapsulation. D'autre part, certains travaux ont évoqué l'influence du rapport principe actif/polymère sur l'efficacité de l'encapsulation [93,94] et ont montré qu'une augmentation du rapport actif/polymère est favorable à un taux encapsulation plus élevé jusqu'à un certain seuil. De ce fait, il a été démontré que la quantité d'actif qu'il est possible d'encapsuler au sein d'une microparticule est limitée. Ceci peut être expliqué par le fait que la quantité de polymère est insuffisante pour couvrir entièrement tout le principe actif qui se retrouve en surface et qui peut donc se dissoudre ou se disperser au sein de la phase aqueuse externe, en laissant parfois un état de surface troué[95,96,97,98,99]. De plus, une quantité en actif trop importante augmente les risques de perte à cause de l'espace limité disponible à l'intérieur des microsphères notamment après le rétrécissement résultant de l'évaporation du solvant [100]. Dans tous les cas et quel que soit l'affinité

du principe actif et du polymère concernés, il existe un taux maximal d'encapsulation pour un couple polymère/actif donné au-delà duquel le principe actif va se solubiliser dans la phase aqueuse ou former des cristaux [101].

II.1.9. La Fraction de phase organique/aqueuse

La littérature propose différentes théories quant à l'influence du rapport volumique entre la phase organique et la phase aqueuse externe sur la taille des microparticules. En effet, il n'y a aucune influence sur la taille des particules formées pour un rapport de la fraction de phase dispersée /phase aqueuse de 1/5 à 1/25[102]. D'autres travaux montrent qu'en gardant tout autre paramètre constant, une diminution du volume de la phase aqueuse par rapport à celui de la phase organique résulte en une diminution des tailles de particules obtenues [103]. De même, il a été démontré qu'une augmentation du rapport de la fraction de phase organique par rapport à la phase aqueuse externe de 1/100 à 1/10 a pour conséquence une diminution de la taille des particules de 75 μ m à 40 μ m [104]. D'une part les études empiriques ont montré que la solidification des gouttelettes d'émulsion est rapide avec des émulsions diluées.

D'une autre part, lorsque les rapports de fraction phase organique/phase aqueuse sont égaux à 1/100 et 1/200, le solvant contenu dans les gouttelettes de phase organique diminue rapidement jusqu'à atteindre 10% de sa concentration initiale en 40 secondes [105]. Ce résultat peut être expliqué par un transfert rapide de masse de solvant, provoqué par des conditions Sink plus favorables (volume en phase aqueuse externe plus important). Ainsi, un séchage rapide va provoquer une distribution plus homogène en actif au sein des microparticules qui ne seront pas en contact prolongé avec la phase aqueuse externe. Par ailleurs, ce fait a également pour conséquence l'obtention d'une concentration résiduelle en solvant au sein des microparticules plus importante jusqu'à 76 fois en diminuant par 10 le rapport entre les fractions phase organique/aqueuse. Le **Tableau II.3** résume l'impact des conditions chimiques sur les propriétés des microsphères.

Tableau II.3 : impact des conditions chimiques sur les propriétés des microsphères

[100]

	Facteur	Taille moyenne	Taux d'encapsulation	Morphologie de surface
Paramètres de formulation	Augmentation du rapport actif / polymère	Augmentation	Augmentation puis diminution à partir de 1/1	Constellée de trous
			diminution à partir de 1/5	Sphérique et relativement lisse
	Augmentation du caractère hydrophile de l'actif	/	diminution	Lisse avec quelques trous
	Augmentation de la viscosité de la phase organique	Augmentation	Augmentation	Lisse, particules sous forme individuelles ou agrégées
	Augmentation de la concentration de tensioactif	diminution	diminution	/
	Augmentation de la fraction de phase dispersée/phase aqueuse	diminution	/	/
	Diminution de la solubilité de solvant au sein de la phase aqueuse externe	/	diminution	Sphérique
	Diminution du volume de solvant au sein de la phase organique	Augmentation	/	

Conclusion

Ce chapitre est prédéfini de telle manière connaître les différents procédés de l'encapsulation et facilite le choix de l'opération qu'on va choisir, le meilleur procédé selon la disponibilité de nos matériels et le genre de notre molécules biologique.



CHAPITRE

III

Partie Expérimentale :**Partie I :****Matériels, Méthodes & Stratégie de Travail****Introduction :**

Cette partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie de la faculté de science de la nature et de la vie (université des frères mentouri – Constantine 1) dans le cadre de formulation des microparticules de la vitamine D encapsulées par un complexe polyélectrolyte (PEC) entre deux polymères tel que le xanthane modifié et le kappa-carraghénane ; les différentes formulations obtenues ont été caractérisées par une analyse FTIR, l'aspect macroscopique, le degré de gonflement, l'analyse microscopique, l'étude de la taille des particules et le taux d'encapsulation.

Ce présent chapitre est aussi consacré à la présentation des différents produits chimiques utilisés, les modes opératoires suivis et la préparation des microparticules.

III.2. Matériel :**III.2.1. Expient****- Gomme Xanthane modifié**

La gomme xanthane utilisé dans cette étude à été modifié par une réaction de désacétylation de telle manière elle est cationique à un degré de désacétylation de 96% et elle été fourni par l'encadreur du travail.

**Figure III.1 : Poudre de la Gomme Xanthane**

- Kappa-Carragennane

Le Kappa-Carragennane utilisé dans cette étude a été fourni gracieusement par le groupe de recherche de Blida

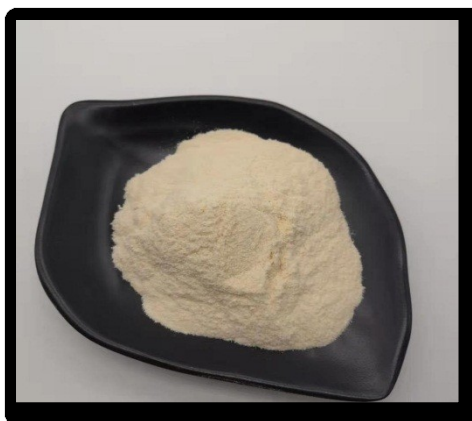


Figure III.2 : Poudre de Kappa-Carragennane

- Vitamine D

La vitamine D utilisé dans ce présent travail est acheté auprès de la pharmacie sous le nom VitD3 (Cholécalciférol), (200 000UI/1ml) c'est solution injectable IM et buvable sous forme des ampoules de 1ml.



Figure III.3 : Vitamine D3 ou cholécalciférol

III.3. Réactifs

Les réactifs utilisés lors de cette étude sont de grade analytique, conservés à l'abri de la chaleur et de la lumière.

Les produits chimiques utilisés dans cette étude sont classés dans le Tableau III.1.

Tableau III.1 : Réactifs, solvants et produits chimiques

Produit	Formule chimique	Masse Molaire (g.mol ⁻¹)	Fournisseur
Vitamine D	Vit D3	384,64	
Kappa carraghénane	C ₂₄ H ₃₆ O ₂₅ S ₂ -2	788.647	
Xanthane	C ₃₅ H ₄₉ O ₂₉	933, 7462	
polyéthylène glycol	C _{2n} H _{4n+2} O _{n+1}	44,052 6	Sigma –Aldrich
glycérol	C ₃ H ₈ O ₃	92,09382	Merck (Switzerland)
chlorure de calcium	CaCl ₂	110,98	Sigma –Aldrich
Chlorure de sodium	NaCl	58.44	Merck (Switzerland)
Chlorure d'aluminium	AlCl ₃	133.34	Sigma –Aldrich
Ethanol	C ₂ H ₅ OH	46.07	Sigma –Aldrich
Eau distillée	H ₂ O		

III.2.3. Appareillage :

- Balance analytique de précision de 10⁻³mg, de marque Adventurer Pro OHAUS (China),
- Agitateur avec plaques chauffantes en céramique, et minuterie de marque VELP Scientifica AREC.T
- pH-mètre de marque JENWAY 3505 pH Meter (UK),
- **Microscope** : L'examen microscopique était réalisé à l'aide d'un microscope optique (Olympus) qui permet un agrandissement jusqu'à 1000 fois.
- Bêchers, Spatule, Micropipette, Papier filtre, Boite de pétrie,...etc



Figure III.4 : Balance analytique



Figure III.5 : Agitateur magnétique

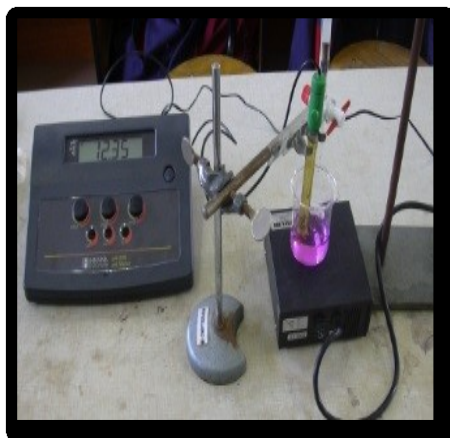


Figure III.6 : pH-mètre

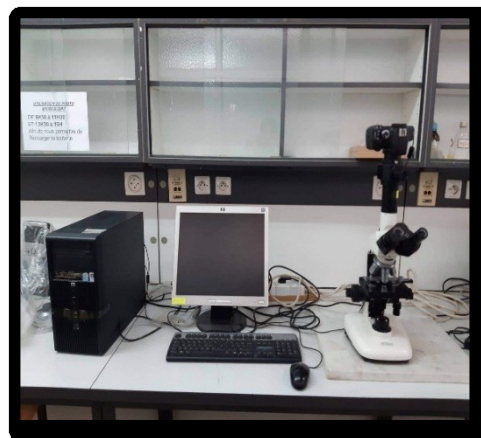


Figure III.7 : photo microscope

- Spectrophotomètre d'absorption à transformée de fourrier (FTIR), Bruker (Germany).

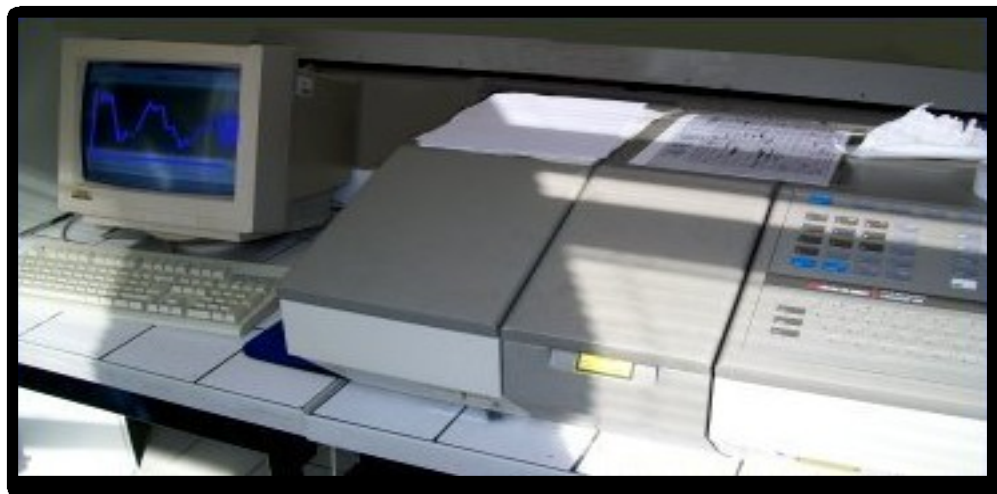


Figure III.8 : Spectrophotomètre d'absorption à transformée de fourrier

- Spectrophotomètre ultraviolet-visible ou spectrométrie ultraviolet-visible Bruker (Germany). Shimadzu uv-1280



Figure III.9 : Spectrophotomètre UV-visible

III.3.1. Préparation des microparticules par encapsulation et gélification externe

La formulation des microparticules mis en objet de cette étude nécessite en premier lieu une préparation d'une émulsion de type H/E (huile dans eau).

- **Préparation des émulsions H/E**

La préparation des émulsions de type H/E fait partie de la préparation d'une phase aqueuse contenant le complexe polyelectrolyte choisi (xanthane modifié-kappa-carragennane / eau) avec différent rapport de concentrations et une phase huileuse contenant la VitD3 dispersée dans un mélange de solvant organique (Glycérol/éthylène glycol), La phase huileuse a un aspect liquide huileux, incolore, transparent, dégageant une faible odeur lors d'échauffement.

La préparation de l'émulsion primaire H/E se fait selon le protocole suivant :

1. La phase aqueuse contenant le PEC à différents concentration dispersé dans l'eau distillé à été chauffé jusqu'à une température de 70-75°C en utilisant un bain marie pour assurer une bonne solubilité des biopolymères,

2. De même, la phase huileuse contenant la VitD3 et le mélange (Glycérol/éthylène glycol) à été chauffé,
3. Une fois les deux phases sont refroidis, la phase huileuse à été incorporée peu à peu et sous agitation dans la phase aqueuse en utilisant un agitateur à une vitesse d'ordre 700 tr/min,
4. Cette étape à été suivi par une agitation à l'aide d'un homogénéiseur pour une meilleure distribution à une vitesse d'agitation supérieur.

- **Préparation des particules gélifiées**

Après une bonne distribution de la phase huileuse dans la phase aqueuse,

5. des bains de gélification utilisés de NaCl, CaCl₂, et AlCl₃ ont été préparées à une concentration de 5% et refroidis.
6. A l'aide des micropipettes on verse l'émulsion préparée après le refroidissement goutte à goutte dans les bains de gélification pour prendre un aspect des microparticules gélifiées.
7. Filtrer les particules formulées
8. Rincer avec de l'eau distillée 3 fois
9. Présenter dans des boites pétries.

Les différentes étapes utilisées dans la formulation des microparticules sont présentés dans la représentation schématique du protocole

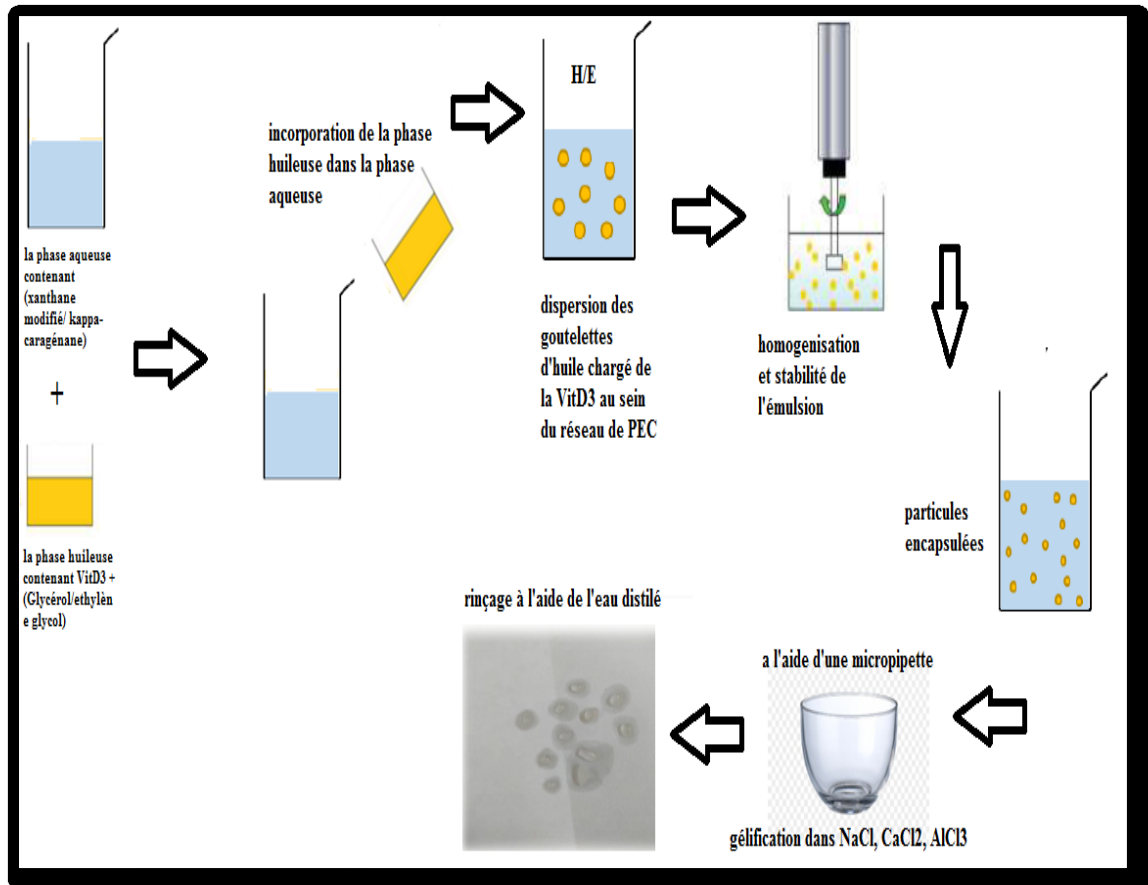


Figure III.10 : Représentation schématique du protocole étudié

Caractérisation des émulsions :

- ✓ Aspect macroscopique de la phase dispersée à différents rapport de concentration

Pour cette étude on a travaillé sur 5 concentrations à savoir le PEC choisi

La première Formulation : xanthane modifié à 0% et kappa carragénane à 100%

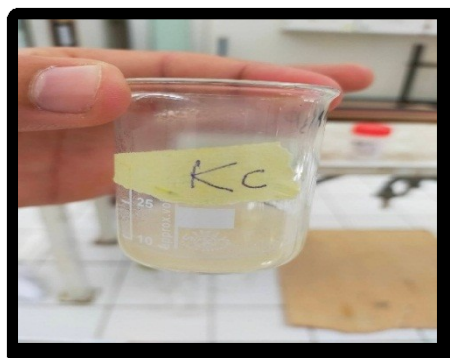


Figure III.11 : KC100%

■ La deuxième Formulation : xanthane modifié à 100% et kappa carragenane à 0%



Figure III.12 : Une solution de couleur jaune, aspect liquide

■ La troisième Formulation : xanthane modifié à 50% et kappa carragenane à 50%



Figure III.13 : Une solution de couleur jaune à jaune pale, aspect gélifiant et de consistance moyenne

■ La Quatrième Formulation : xanthane modifié à 25% et kappa carragenane à 75%
Dans ce cas, la solution est de couleur jaune pale, aspect visqueux et de consistance élevée

■ La Cinquième Formulation : xanthane modifié à 75% et kappa carragenane à 25%
Dans ce cas, la solution est de couleur jaune, aspect moins visqueux et de consistance faible.

✓ **Aspect microscopique**

L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 1000 fois. Pour une meilleure dispersion de l'échantillon ;

l'émulsion a été placée entre une lame et lamelle. Cet examen est suivi d'une microphotographie.

L'examen microscopique des émulsions primaires montre la dispersion des globules de la phase huileuse dans la phase aqueuse.

➤ Méthodes de Caractérisation des microparticules

La formulation des microparticules de VitD3 encapsulée par un complexe polyelectrolyte « PEC » de xanthane modifié/kappa-carragenane ont une forme sphérique

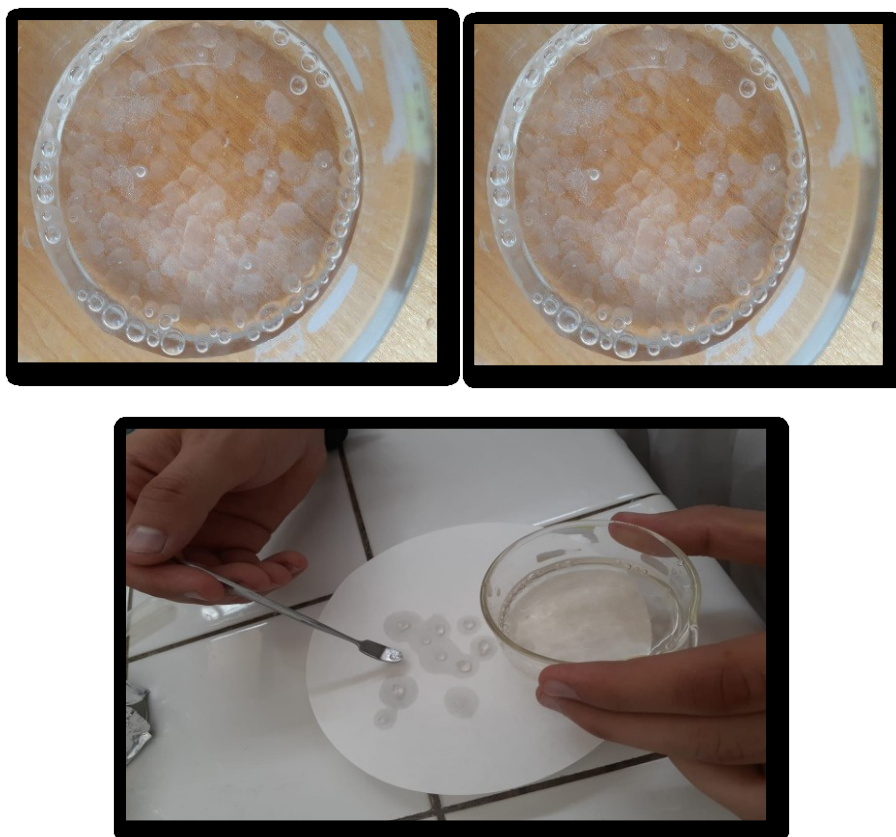


Figure III.14 : Formation des particules

1. Détermination Taux de Gonflement

Les taux de gonflement sont déterminés en utilisant la méthode gravimétrique similaire à celle reportée par Efentakis et Vlachou [106]. Les particules sont pesés (*mi*), ensuite plongés dans un bécher contenant une quantité d'eau distillé à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Le gonflement est déterminé, en pesant (m_h), à un certain temps déterminé, les particules se trouvant à l'intérieur, en les retirant, posés sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide. L'expérience est répétée pour chaque formulation à différentes concentration.

Le pourcentage d'eau absorbé, ou le degré de gonflement dû au volume du liquide pénétré à l'intérieur du réseau polymérique à chaque prélèvement est donné par la formule [107][109].

$$\text{Taux gonflement (\%)} = \frac{(m_h - m_i)}{m_i} \times 100 \quad [108]$$

2. Infrarouge a Transformée de Fourier (FTIR)

La caractérisation des a été évaluée au moyen de la réponse de la liaison infrarouge (FT-IR). [110]

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique utile pour identifier la structure chimique d'une substance. Il est basé sur le principe que les composants de base d'une substance, c'est-à-dire les liaisons chimiques, peuvent généralement être excités et absorber la lumière infrarouge à des fréquences typiques des types de liaisons chimiques. Le spectre d'absorption IR résultant représente une empreinte digitale de l'échantillon mesuré. [111]

3. Détermination de la quantité d'agent actif encapsulé

La quantité d'agent actif contenu dans les microparticules formulés a été déterminée par la technique d'extraction dans un solvant adéquat. Compte tenu de la polydispersité de ces microparticules, on a effectué les extractions. Après un temps suffisant pour la solubilisation et le transfert du principe actif vers le solvant, la solution obtenue est analysée par spectrophotométrie UV-Vis afin de déterminer la masse d'agent actif extrait des microparticules. [112]

Le principe actif a été extrait par l'éthanol absolu comme solvant; une masse D'environ 0,1g de microsphères est introduite dans "v" mL d'éthanol absolu dans un erlenmayer bouché hermétiquement et sous agitation pendant 24 heures
La solution récupérée est dosée après une dilution appropriée avec l'éthanol absolu par UV-Vis à $\lambda_{\text{max}} = 300 \text{ nm}$

La teneur en principe actif est calculé par l'équation:

$$\text{Teneur \%} = \left(\frac{m_{p.a.\text{extrait}}}{m_{\mu\text{particules}}} \times 100 \right)$$

4. Détermination de la taille des microparticules :

Les particules formulées ont une forme sphérique, de telle manière que la taille est représentée par un diamètre moyen. La littérature fait apparaître plusieurs types de diamètres calculés de différentes manières selon les techniques utilisées. Dans ce travail et pour caractériser la taille des microparticules, on a utilisé le diamètre moyen de 20 particules de chaque formulation. On fait appelle au *Diamètre moyen en nombre qui* est calculé à partir du dénombrement des particules de même diamètre ; il est défini mathématiquement par [112] :

$$d_n = d_{10} = \frac{\sum n_i d_i}{\sum n_i}$$

Partie II :**Résultats & discussions****Introduction**

L'étude expérimentale consiste en :

1. La préparation des émulsions primaire de type H/E
2. La caractérisation physico-chimique des émulsions formulées (aspect macroscopique et microscopique).
3. La formulation des microparticules en utilisant le procédé d'encapsulation
4. La caractérisation des microparticules obtenues (la taille des particules, le taux de gonflement, le taux d'encapsulation et la spectroscopie en FTIR)

Caractérisation des émulsions :**✓ Aspect macroscopique**

Les différentes émulsions préparées sont homogène et ne présente aucun phénomène d'instabilité (séparation de phase) ,ont été caractérisés par un aspect macroscopique à l'œil nu après 24h de leurs préparation et on constate les propriétés suivantes:

🌿 **La première Formulation** : Une solution de couleur jaune pale, aspect très visqueux

🌿 **La deuxième Formulation** : Une solution de couleur jaune, aspect liquide

🌿 **La troisième Formulation** : Une solution de couleur jaune à jaune pale, aspect gélifiant et de consistance moyenne

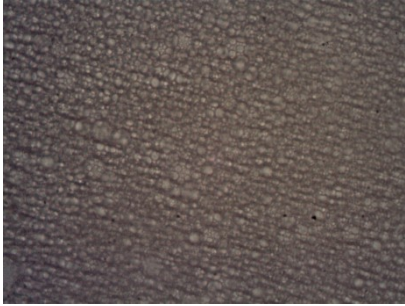
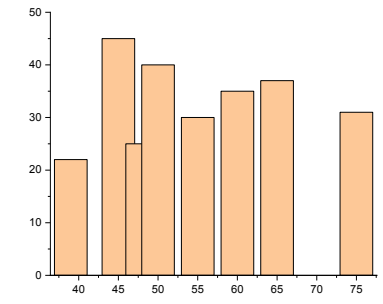
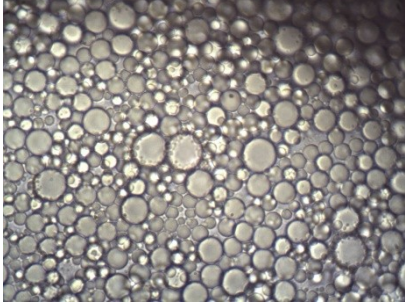
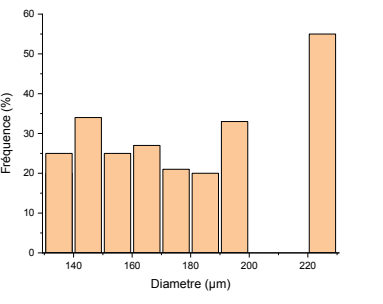
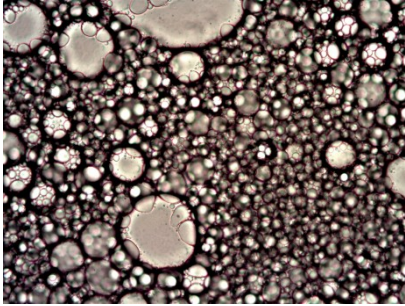
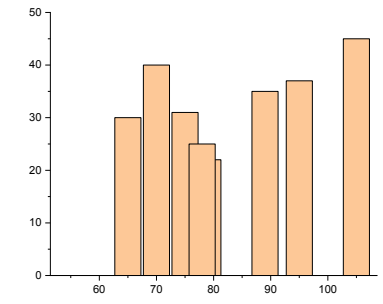
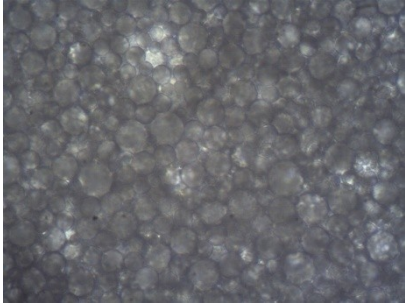
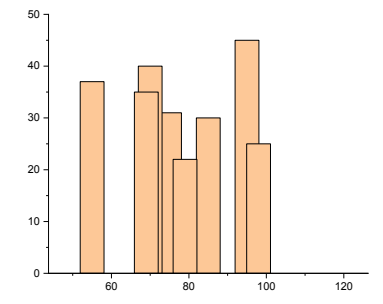
🌿 **La Quatrième Formulation** : Dans ce cas, la solution est de couleur jaune pale, aspect visqueux et de consistance élevée

🌿 **La Cinquième Formulation** : Dans ce cas, la solution est de couleur jaune, aspect moins visqueux et de consistance faible.

✓ Aspect microscopique :

L'examen microscopique des émulsions primaires montre la dispersion des globules huileux contenant la VitD3 dans la phase aqueuse,

Les différents micrographes obtenus pour chaque formulation ont été présentés sur la figure III.15

	<p>xanthane modifié à 0% et kappa carragenane à 100%</p>	 <table border="1"> <caption>Data for 0% modified xanthan and 100% kappa carrageenan</caption> <thead> <tr> <th>Diamètre (µm)</th> <th>Fréquence (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>40</td><td>22</td></tr> <tr><td>45</td><td>45</td></tr> <tr><td>50</td><td>40</td></tr> <tr><td>55</td><td>30</td></tr> <tr><td>60</td><td>35</td></tr> <tr><td>65</td><td>37</td></tr> <tr><td>70</td><td>0</td></tr> <tr><td>75</td><td>31</td></tr> </tbody> </table>	Diamètre (µm)	Fréquence (%)	40	22	45	45	50	40	55	30	60	35	65	37	70	0	75	31
Diamètre (µm)	Fréquence (%)																			
40	22																			
45	45																			
50	40																			
55	30																			
60	35																			
65	37																			
70	0																			
75	31																			
	<p>xanthane modifié à 50% et kappa carragenane à 50%</p>	 <table border="1"> <caption>Data for 50% modified xanthan and 50% kappa carrageenan</caption> <thead> <tr> <th>Diamètre (µm)</th> <th>Fréquence (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>140</td><td>25</td></tr> <tr><td>150</td><td>35</td></tr> <tr><td>160</td><td>25</td></tr> <tr><td>170</td><td>28</td></tr> <tr><td>180</td><td>20</td></tr> <tr><td>190</td><td>20</td></tr> <tr><td>200</td><td>35</td></tr> <tr><td>220</td><td>55</td></tr> </tbody> </table>	Diamètre (µm)	Fréquence (%)	140	25	150	35	160	25	170	28	180	20	190	20	200	35	220	55
Diamètre (µm)	Fréquence (%)																			
140	25																			
150	35																			
160	25																			
170	28																			
180	20																			
190	20																			
200	35																			
220	55																			
	<p>xanthane modifié à 75% et kappa carragenane à 25%</p>	 <table border="1"> <caption>Data for 75% modified xanthan and 25% kappa carrageenan</caption> <thead> <tr> <th>Diamètre (µm)</th> <th>Fréquence (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>60</td><td>30</td></tr> <tr><td>70</td><td>40</td></tr> <tr><td>75</td><td>31</td></tr> <tr><td>80</td><td>25</td></tr> <tr><td>85</td><td>22</td></tr> <tr><td>90</td><td>35</td></tr> <tr><td>95</td><td>37</td></tr> <tr><td>100</td><td>45</td></tr> </tbody> </table>	Diamètre (µm)	Fréquence (%)	60	30	70	40	75	31	80	25	85	22	90	35	95	37	100	45
Diamètre (µm)	Fréquence (%)																			
60	30																			
70	40																			
75	31																			
80	25																			
85	22																			
90	35																			
95	37																			
100	45																			
	<p>xanthane modifié à 25% et kappa carragenane à 75%</p>	 <table border="1"> <caption>Data for 25% modified xanthan and 75% kappa carrageenan</caption> <thead> <tr> <th>Diamètre (µm)</th> <th>Fréquence (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>60</td><td>37</td></tr> <tr><td>70</td><td>35</td></tr> <tr><td>75</td><td>40</td></tr> <tr><td>80</td><td>31</td></tr> <tr><td>85</td><td>22</td></tr> <tr><td>90</td><td>30</td></tr> <tr><td>95</td><td>45</td></tr> <tr><td>100</td><td>25</td></tr> </tbody> </table>	Diamètre (µm)	Fréquence (%)	60	37	70	35	75	40	80	31	85	22	90	30	95	45	100	25
Diamètre (µm)	Fréquence (%)																			
60	37																			
70	35																			
75	40																			
80	31																			
85	22																			
90	30																			
95	45																			
100	25																			

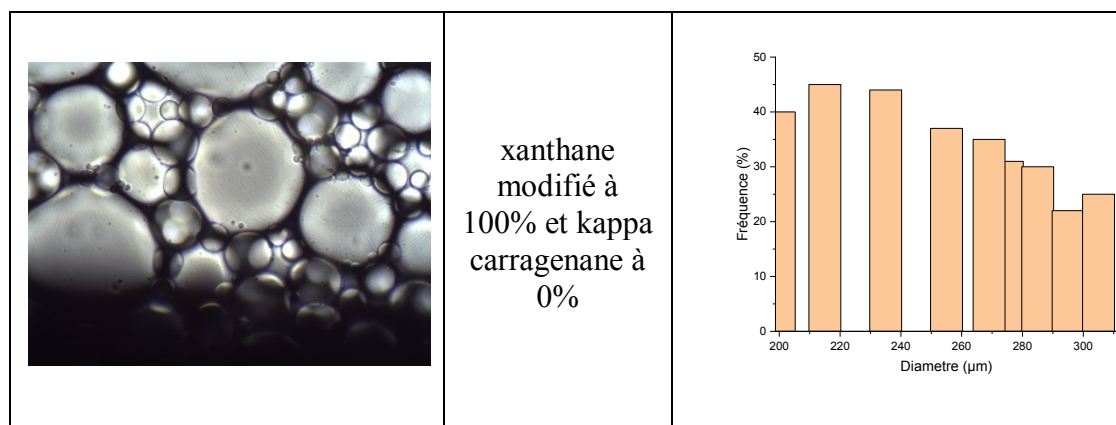


Figure III.15 : Vues microscopiques des émulsions primaires

D'après les résultats microscopiques, on trouve que la dispersion varie selon la proportion de la concentration en polymères dans la phase aqueuse. Plus la quantité de kappa-carraghénane augmente, plus la dispersion est plus fine, ce qui donne une émulsion rigide et stable.

La nature du polymère utilisé possède un impact significatif sur l'efficacité d'encapsulation expliqué de différentes manières selon la littérature [113], [114,115]. La concentration en polymère ainsi que sa masse molaire sont aussi deux paramètres qui affectent énormément le taux d'encapsulation. En effet, l'augmentation de la viscosité est engendrée par une élévation de la masse ou de la masse molaire du polymère utilisé restreint la migration du principe actif au sein de la phase aqueuse externe [116] due à une précipitation plus rapide du polymère dans les gouttelettes ce qui résulte en un taux d'encapsulation plus élevé [113,117].

La viscosité de la phase dispersée peut donc être augmentée soit par une augmentation de la concentration du polymère soit par l'utilisation d'un polymère de masse moléculaire plus élevée [118]. Il a été prouvé théoriquement et confirmé expérimentalement [119, 116, 120] qu'une augmentation de la masse molaire du polymère, à volume de solvant fixé, engendre une phase plus visqueuse, favorisant une augmentation de la taille des microparticules obtenues.

➤ **Caractérisation des microparticules**

Les différentes microparticules obtenues sont présentés dans **Figure III.16** :

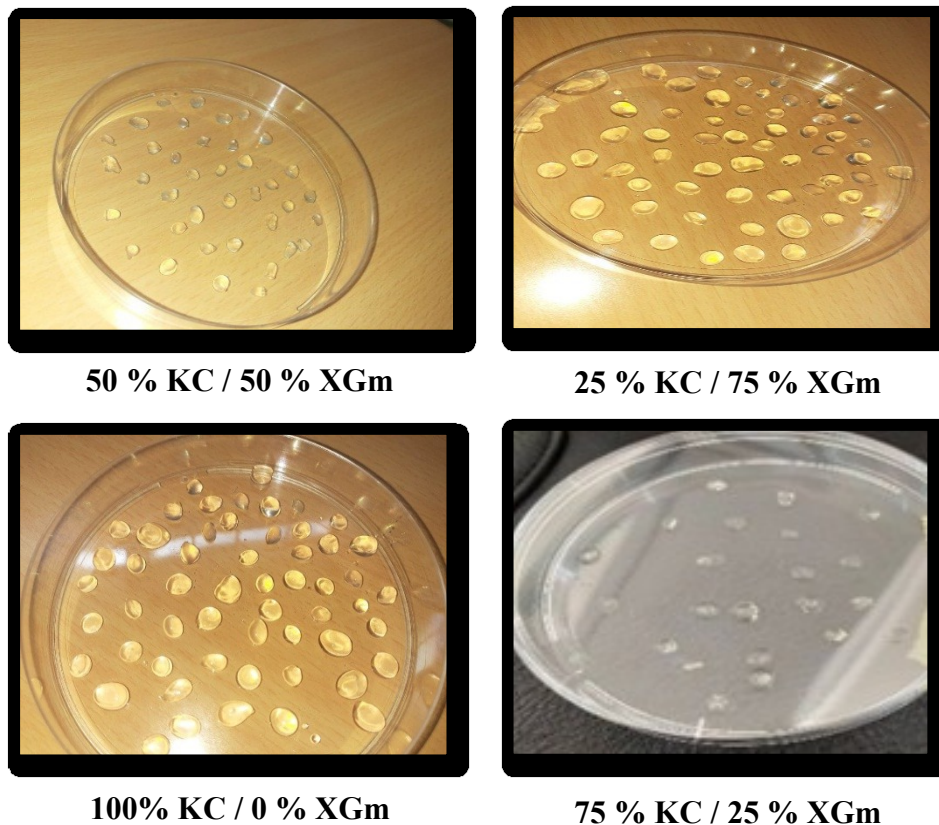


Figure III.16 : les microparticules formulées

➤ **Taux de Gonflement :**

L'étude du gonflement nous a permis d'établir la cinétique de pénétration du milieu de dissolution dans les particules. Cette étude permet d'établir son taux d'absorption et son augmentation du volume au cours du temps en utilisant l'équation [120]:

$$\text{Taux gonflement (\%)} = \frac{(m_g - m_i)}{m_i} \times 100$$

Où m_i : est la masse des particules à l'état initial (au temps $t=0$)

m_g : est la masse des capsules à l'état gonflé (au temps t)

L'aspect des particules à l'état initial et à l'état gonflé est représenté dans la figure III.17 pour la formulation 3 « xanthane modifié à 50% et kappa carragenane à 50% »



« a »

« b »

Figure III.17 : aspect des particules : « a » état initial ; « b » état gonflé

L'étude de gonflement nous a permis de montrer que plus la quantité en polymère kappa-carraghénane augmente plus le degré de gonflement augmente, on trouve un degré de gonflement égale à **14,77%** pour la formulation (xanthane modifié à 75% et kappa carragenane à 25%) ; tandis que la formulation en xanthane modifié à 50% et kappa carragenane à 50% présente un degré de gonflement égale à **37,15%** , en revanche, on trouve le degré de gonflement égale à **59,26%** pour la formulation xanthane modifié à 25% et kappa carragenane à 75% .

➤ **Identification de l'agent encapsulé par Spectroscopie FTIR :**

Les spectres infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) des échantillons XG modifié, de kappa-carraghénane et de vitD3 ont été déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre FT-IR (Bruker, Germany), avec une résolution de 4 cm^{-1} . La gamme de spectres électromagnétiques varie entre 400 et 4000 cm^{-1} .

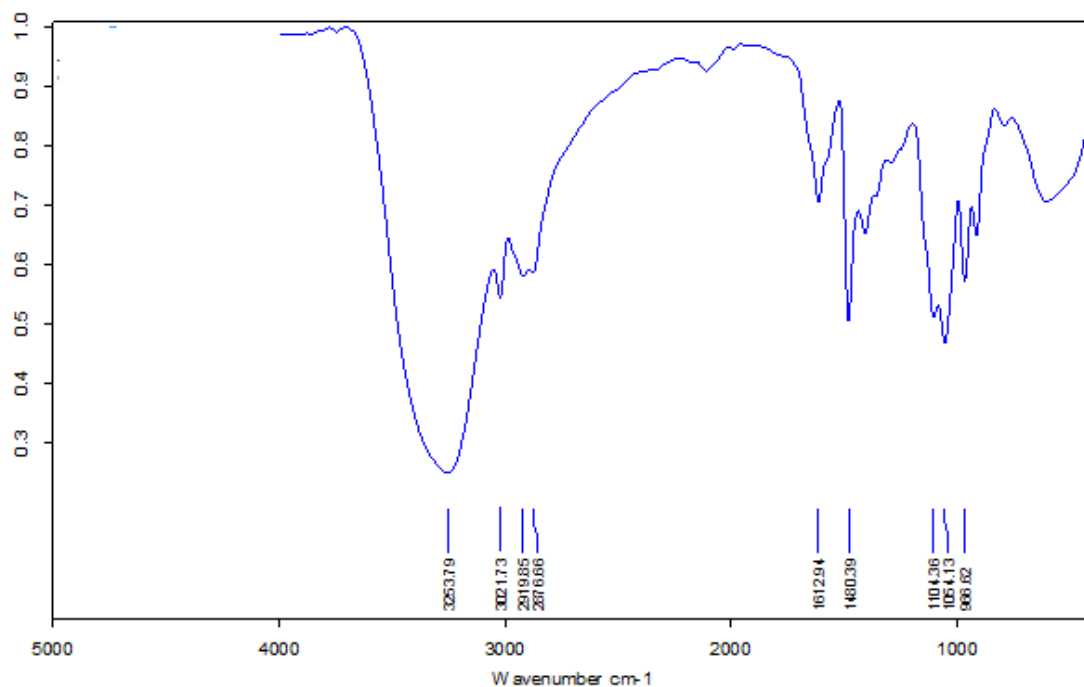


Figure III.18 : spectres FTIR du xanthane modifié

Le spectre de XG modifié montre des pics autour de 3300, 2900 et 800-1100 cm^{-1} qui sont communes à tous les polysaccharides représentent des liaisons OH, des liaisons CH de groupes CH_2 et des saccharides, respectivement

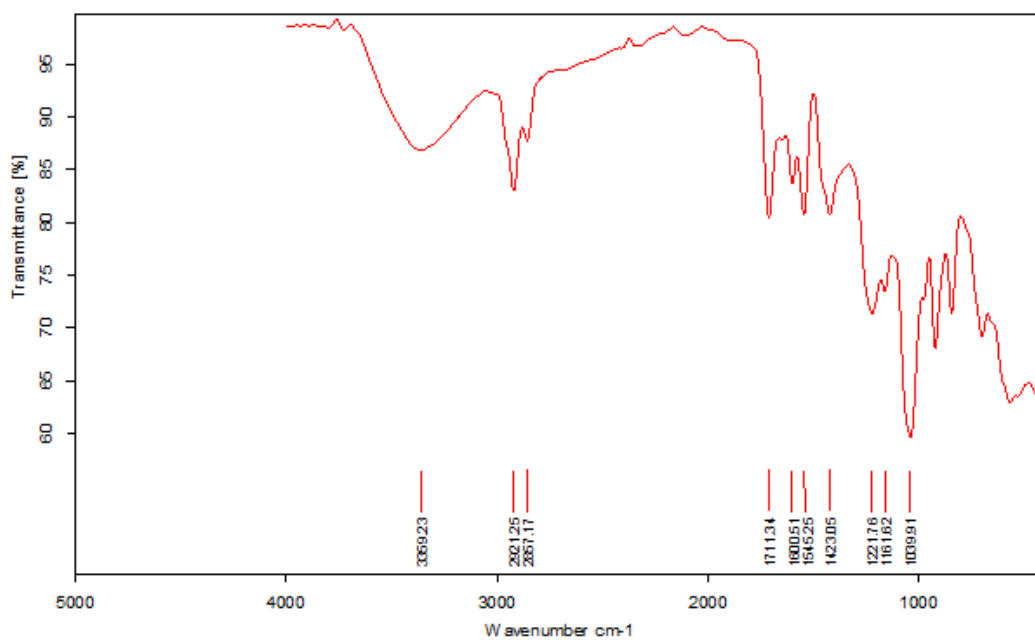


Figure III.19 : spectres IR de Kappa-Carragénane

Le carraghénane présente de larges et fortes bandes d'absorption, caractéristiques de tous les polysaccharides, dans le secteur des 3424 cm^{-1} dû aux élongations des groupements O-H. Les bandes d'absorption comprises entre 1220 à 1260 cm^{-1} révèlent un faible taux de sulfatation pour notre polysaccharide, par contre les intensités observées entre 928 à 933 cm^{-1} traduisent une teneur assez considérable de 3,6- anhydrogalactose.

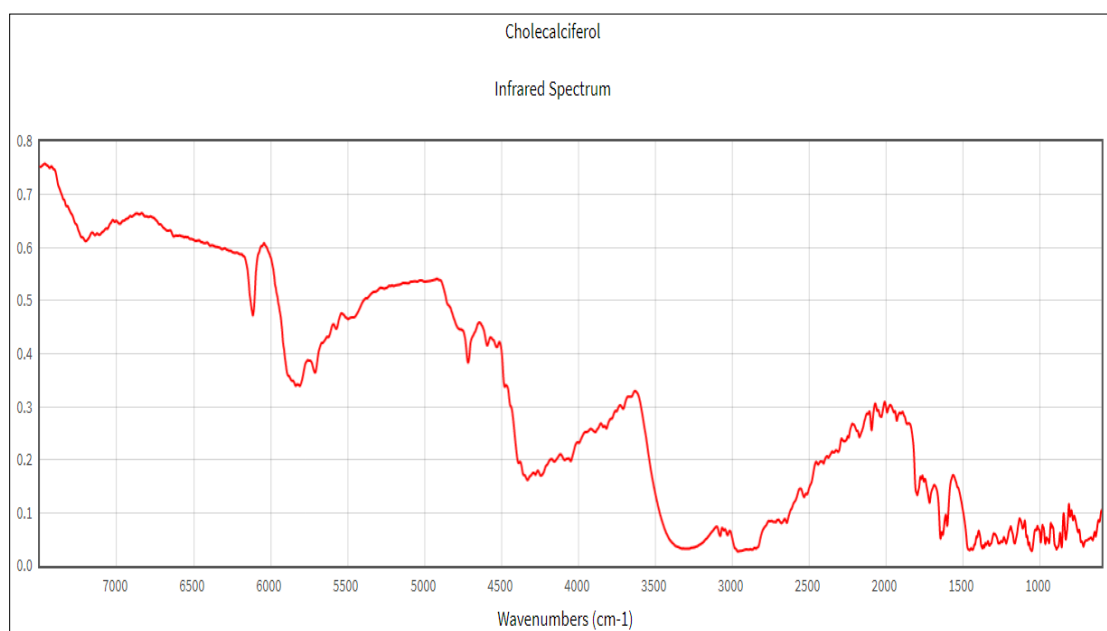


Figure III.20 : spectres IR de la VitD3

L'étude comparative des spectres IR des produits de départ : xanthane modifié, kappa-carraghénane, VitD3 et des microparticules formulées, permet d'assurer la présence effective de l'agent actif dans les microparticules.

Taux D'encapsulation :

Les mesures sont effectuées à l'aide d'un appareil UV-Vis. A une longueur d'onde fixe, propre à chaque principe actif dans le milieu d'étude ou bien on utilisant la méthode de dosage d'une substance active, Ce dosage fournit la valeur de la fraction massique du composé qui demeure en phase interne à l'instant de mesure, par rapport à la masse théoriquement encapsulée [121] .

Dans ce cas le rendement d'encapsulation est donné par la formule suivante :

$$\text{Rendement} = (T_0 - T_1) / T_0$$

Avec:

T_0 : La quantité de P.A initiale placé dans la phase interne.

T_1 : La quantité de P.A présente dans la phase externe après formulation de microparticules. [122].

Les résultats permettant de déterminer le taux d'encapsulation indiquent un taux d'encapsulation plus au moins important allant de 51% pour la formulation (xanthane modifié à 75% et kappa carragenane à 25%) ; tandis que la formulation en xanthane modifié à 50% et kappa carragenane à 50% présente un taux de 67,1% , en revanche, on le taux d'encapsulation égale à 71,4% pour la formulation xanthane modifié à 25% et kappa carragenane à 75% .

Taille des particules

Une granulométrie plus visible est observée avec des différents diamètres de globules formés. La taille des différents globules est relativement grande à cause de la consistance de l'émulsion (Figure III.21).

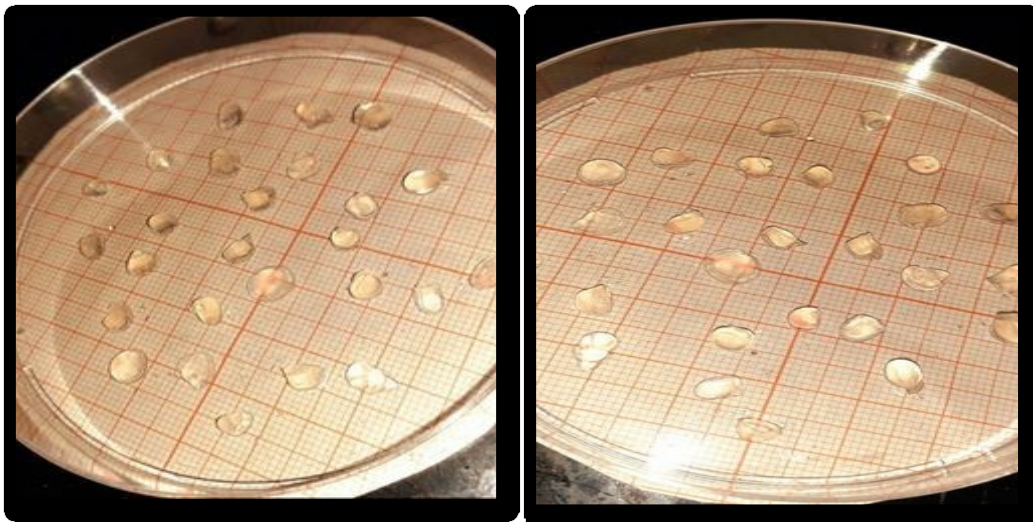


Figure III.21 : Taille des particules

Les résultats déterminant la taille des particules des différentes formulations obtenues sont d'ordre 2 à 3 mm.

Conclusion:

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons pu présenter les différents matériels et réactifs utilisés ainsi la stratégie de travail par présentation des différents protocoles expérimentaux.

Par la suite les différentes formulations obtenues ont été caractérisés par différents techniques d'analyses physicochimiques, ou les résultats sont discutés.



CONCLUSION
GENERALE

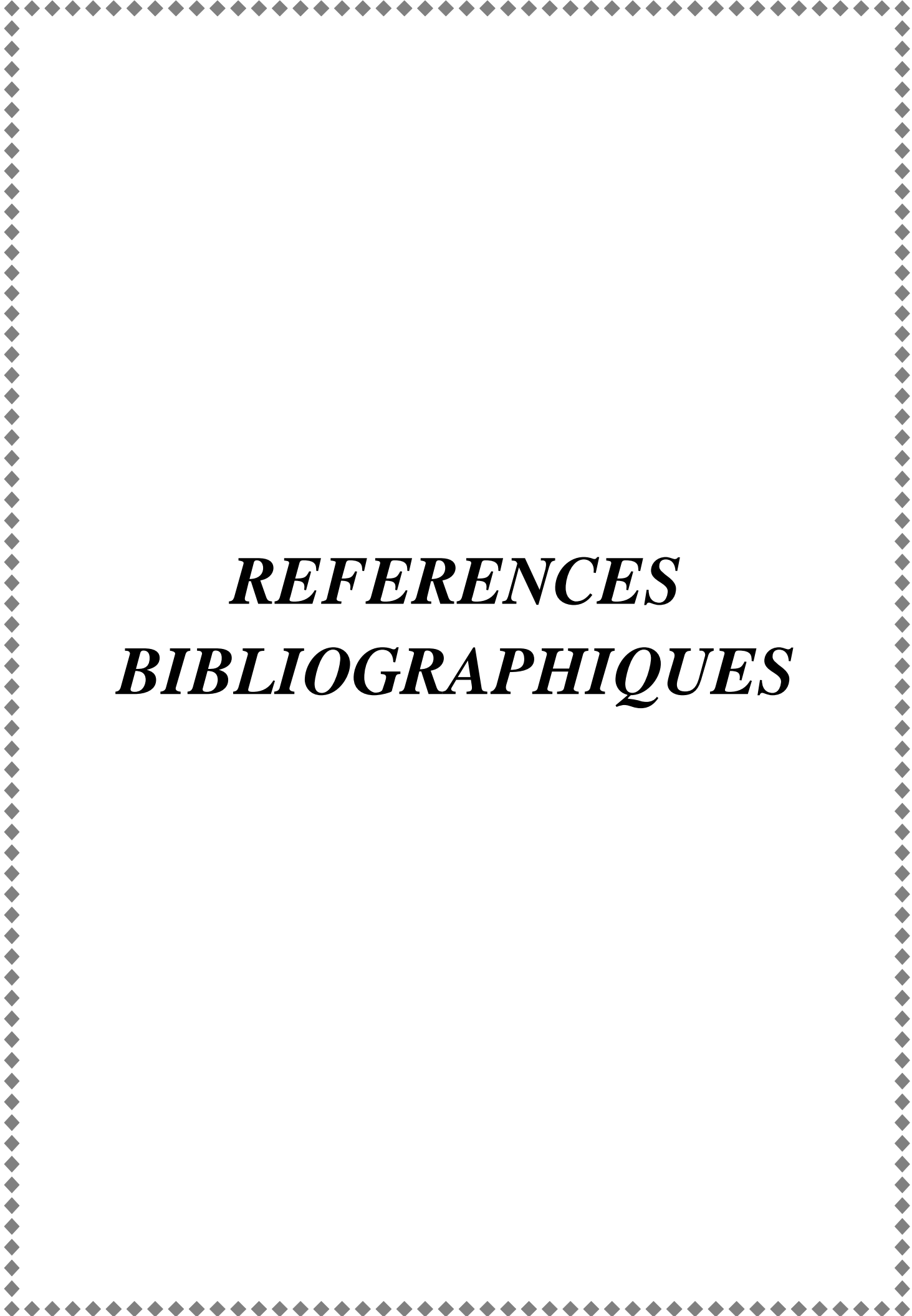
Conclusion Générale

Ce travail de recherche avait pour objectif principal d'étudier l'encapsulation de la VitD3 par un système de complexe polyélectrolyte (PEC) à différentes concentrations tel que le xanthane modifié et le kappa-carraghénane. Les différentes formulations élaborées ont été caractérisées par une étude de leurs aspects macroscopique, le degré de gonflement, l'analyse microscopique, l'étude de la taille des particules, le taux d'encapsulation et une analyse FTIR.

Les résultats de l'aspect macroscopique montrent que toutes les formulations ont influencé par la concentration du polymère ainsi sa masse molaire et de son tour sur la taille des microparticules. Les micrographes microscopiques décrit une bonne dispersion de l'émulsion varie selon la concentration en polymères dans la phase aqueuse : Plus la quantité de kappa-carraghénane augmente (formulation à 100% en kappa-carraghénane ou bien la formulation à 75% kappa-carraghénane et 25% en xanthane modifié), plus la dispersion est fine, on parle donc d'une émulsion rigide et stable.

L'étude de gonflement nous a permis de montrer que plus la quantité en polymère kappa-carraghénane augmente plus le degré de gonflement augmente. De même, la spectroscopie infrarouge FTIR, a mis en évidence la présence effective de l'agent actif dans les microparticules. En dernier, le taux d'encapsulation le plus important soit égale à **71,4%** correspond à la formulation xanthane modifié et kappa carraghénane (25/75).

Comme perspectives de ce travail, on peut exploiter un plan d'expérience doté par une modélisation de différentes concentrations avec d'autres complexes polyélectrolytes ou bien des biopolymères pour d'autres agents actifs.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Référence bibliographiques

- [1] Maurya,V.K., Bashir, K et Aggarwal, M., 2020. Vitamin D microencapsulation and fortification: Trends and technologies. *Steroid Biochem Mol Biol.*, 196:105489.
- [2] Wandrey, C., Bartkowiak, A., & Harding, S.E., 2009. *Materials for Encapsulation* Zuidam, N.J., Nedovic V.A., (Eds.) *Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing*, Springer: Dordrecht, The Netherlands, p. 31-100.
- [3] Nikmaram, N., Roohinejad, S., Hashemi, S., Koubaa ,M., Barba ,F.J., Abbaspourrad ,A., & Greiner, R., 2017. Emulsion-based systems for fabrication of electrospun nanofibers: Food, pharmaceutical and biomedical applications. *RSC Advances*, 7, 28951-28964.
- [4] Fantanille, M., et Gnanou, Y., 2010 : *Chimie et physico chimie des polymères*. Edit 2, DUNOD, Paris.546p.
- [5] Lapointe, J., 2012. *Fabrication et caractérisation d'hydrogels thermosensibles pour des applications de livraison ciblée de médicament et d'embolisation*. Ecole Olytechnique de Montréal.
- [6] Bounouira, F., 2015. *Les gels, aspects théoriques et applications* faculté de médecine et de pharmacie - rabat. Thèse du doctorat en pharmacie.
- [7] Holy, N.R., Paquot, M., et Dubois, P., 2006 .*Les polymeres issus du végétal*. Publication Universitaire Biotechnologie Agronomie Société et Environnement/Biotechnology, Agronomy,Society and Environment 1370-6233 1780-4507
- [8] Patterson, C A., 2008. *Polysaccharides pour la santé de l'intestin*, the Pathfinders Research & Management Ltd.
- [9]. A-F. Gourgues- Lorenzon et J –M. Haudin ; 2006. *Matériaux pour l'ingénieur*.
- [10] Monteuil, J., and Verbert, A. 1997 “Analyse des glucides et des glycoprotéines,” *Tech.l'ingénieur. Anal. caractérisation*, vol. 5, p. 1.
- [11] Ruff, Y., 2008. “Biopolymères dynamiques: Oligo-et polysaccharides.” *Strasbourg* 1, p. 308,.
- [12] Satturwar, P.M., Fulzele, S.V., et Dorle, A.K., 2003. Biodegradation and in vivo biocompatibility of rosin: A natural film-forming polymer. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 4, 1-6.
- [13] Kulkarni et al., 2012., Kulkarni, VS., Butte, K.D., et Rathod, S., 2012. *Natural Polymers, A Comprehensive Review*. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences.* 3 (4), 1597-1613.

Références bibliographiques

- [14] Kadi, M., et Mekidech, R., 2020 ; « Modification chimique de la gomme agar et son utilisation comme excipient pharmaceutique », université Yahia Fares, Médéa,.
- [15] Kouassi, M.C., 2017. Polysaccharides fonctionnalisés par des composés d'origine naturelle aux propriétés antioxydantes et antibactériennes. Chimie organique. Normandie Université, Français.
- [16] Benkeblia, N., 2015. Ganoderma lucidum Polysaccharides and Terpenoids: Profile and Health Benefits. Article Universitaire.
- [17] Rohit, R.B., Riyaz , A.M ., Osmani, A M., 2014. Review on Natural Polysaccharide Based Particulate Drug Delivery Systems: An Inimitable Tactic in Novel Drug Delivery Systems. International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research. 5(4), 138-155.
- [18] Patterson, C.A., 2008. Polysaccharides pour la santé de l'intestin, the Pathfinders Research & Management Ltd.
- [19] Ezzroug , K., 2019. « Formulation et évaluation de vecteurs particulières à base de polysaccharides natifs et modifiés. Applications pharmaceutiques», Thèse de doctorat, Université Blida 1.
- [20] Lapasin, R., and Pricl, S., 1995; "Rheology of polysaccharide systems," in Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications, Springer, , pp. 250–494.
- [21] Singh ,R.S ., Kau, R.N., and Kennedy, J.F., "Pullulan and pullulan derivatives as promising biomolecules for drug and gene targeting," Carbohydr. Polym., vol. 123, pp. 190–207, 2015.
- [22] Delattre, C., 2005 ; "Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes." Amiens, pp. 4–11,.
- [23] Shekarfroush, E., Faralli, A., Ndoni, S., Mendes, A.C., and Chronakis, I.S., 2017 "Electrospinning of xanthan polysaccharide," Macromol. Mater. Eng., vol. 302, no. 8,.
- [24] Jansson, P., Kenne, L., and Lindberg, B., 1975 "Structure of the extracellular polysaccharide from Xanthomonas campestris," Carbohydr. Res., vol. 45, no. 1, pp. 275–282,.
- [25] Melton, L.D., Mindt, L., and Rees, D.A., 1976; "Covalent structure of the extracellular polysaccharide from Xanthomonas campestris: evidence from partial hydrolysis studies," Carbohydr. Res., vol. 46, no. 2, pp. 245–257,.

Références bibliographiques

- [26] Torres, L.G., Brito, E., Galindo, E., and Choplin, L., 1993 “Viscous behaviour of xanthan aqueous solutions from a variant strain of *Xanthomonas campestris*,” *J. Ferment. Bioeng.*, vol. 75, no. 1, pp. 58–64,.
- [27] Shatwell, K.P., Sutherland, I.W., Dea, I.C.M., and Ross-Murphy, SB, 1990 “The influence of acetyl and pyruvate substituents on the helix-coil transition behaviour of xanthan,” *Carbohydr. Res.*, vol. 206, no. 1, pp. 87–103,.
- [28] Garcia-Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., and Gómez, E., 2000 “Xanthan gum: production, recovery, and properties,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 18, no. 7, pp. 549–579,.
- [29] Casas, J.A., Santos, V.E., and Garcia-Ochoa, F., 2000 “Xanthan gum production under several operational conditions: molecular structure and rheological properties,” *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 26, no. 2–4, pp. 282–291,.
- [30] Barrere, C., Barber, C.E., and Daniels, M.J., 1986 “Molecular cloning of genes involved in the production of the extracellular polysaccharide xanthan by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 8, no. 6, pp. 372–374,.
- [31] Angioloni, D.A., “La Gomme Xanthane dans l’Industrie Alimentaire.”
- [32] Holzwarth, G., and Ogletree, J., 1979 “Pyruvate-free xanthan,” *Carbohydr. Res.*, vol. 76, pp. 277–280,.
- [33] Smith, H., Symes, K.C., Lawson, C.J., and Morris, E.R., 1981 “Influence of the pyruvate content of xanthan on macromolecular association in solution,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 3, no. 2, pp. 129–134,.
- [34] Bradshaw, I.J., Nisbet, B.A., Kerr, M.H., and Sutherland, I.W., 1983 “Modified xanthan—its preparation and viscosity,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 3, no. 1, pp. 23–38,.
- [35] Tako, M. and Nakamura, S., 1984 “Rheological properties of deacetylated xanthan in aqueous media,” *Agric. Biol. Chem.*, vol. 48, no. 12, pp. 2987–2993,.
- [36] Tako, M. and Nakamura, S., 1988 “Rheological Properties of Depyruvated Xanthan in Aqueous Media,” *Agric. Biol. Chem.*, vol. 52, no. 6, pp. 1585–1586,.
- [37] Su L., Ji, W.K., Lan, W.Z., and Dong, X.Q., 2003 “Chemical modification of xanthan gum to increase dissolution rate,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 53, no. 4, pp. 497–499,.
- [38] Bixler, H., 1996; “Recent development in manufacturing and marketing carrageenan”, *Hydrobiologia*, V.326/327, 35-37.
- [39] Perez, R., 1997; “Ces algues qui nous entourent : conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture”, Ifremer (Plouzané, France), 272.
- [40] Leclerc, V., Floch, J.Y., 2010; “Les secrets des algues”, Edition Quae, Versailles,

- [41] Vervoort, S and Budtova, T., 2003 “Evidence of shear-induced polymer release from a swollen gel particle”, *Polymer Int.*, V.52,553-558.
- [42] Mahdadi, R., Pharmacotoxicologie expérimentale des substances actives [cite consulté le 9 juin 2022] Disponiblesur: <https://fsnv.univsetif.dz/images/telecharger/bioch/pr%20mahdadi%20r%20pharmacologie%20et%20toxicologie%20%20experimentale%20des%20substances%20actives.pdf>.
- [43] «Molécules biologiquement actives -Première-Cours», www.pass-education.fr. <https://www.pass-education.fr/molecules-biologiquement-actives-premiere-s-cours/> (consulté le 9 juin 2022).
- [44] «Synthèse d’espèces chimiques: cours de Ex 2nde -Physique-chimie». <https://www.schoolmouv.fr/eleves/cours/synthese-chimique-et-formulation/fiche-de-cours> (consulté le 9 juin 2022).
- [45] « Synthèse et hémisynthèse de molécules biologiquement actives », MAXICOURS. <https://www.maxicours.com/se/cours/synthese-et-hemisynthese-de-molecules-biologiquement-actives/> (consulté le 9 juin 2022).
- [46] Damien, f ., debruxelles ph, louveaux m. (2002) « Présentation et Dosage de l’acide ascorbique » ICAFOC – Louvain-La-Neuve
- [47] Harakeh ,S ., Jariwalla , R., 1997; « NF-kappa B-independent suppression of HIV expression by ascorbic acid », *AIDS Res Hum Retroviruses*, vol. 13, no 3, p. 235-9
- [48] Atkins ,P., JONES, L ., 1998 ; « CHIMIE, molécules, matière, métamorphoses » 1060 p. De Boeck Université .
- [49] Albanes ,OP ., Virtamo J., 1998 “Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene: incidence and mortality in a controlled trial , [archive] *J Natl Cancer Inst.*; Page 440-446.
- [50] Norman , Sunlight AW, season skin pigmentation, vitamin D, and 25 hydroxyvitamin D: integral components of the vitamin D endocrine system. *Am J Clin Nutr.*1998 Jun; 67(6): 1108-10.
- [51] Landrier, J.-F., « Vitamine D : sources, métabolisme et mécanismes d’action », *OCL*, vol. 21, no 3, p. D302, mai 2014, doi: 10.1051/ocl/2014001.
- [52] «Chapitre1.pdf». Consulté le: 9 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur: <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/1052/6/Chapitre1.pdf>
- [53] Thies, C ., (1987).Microencapsulation. *Encyclopedia Pol. Sci. Eng* 9 : 724–745.

Références bibliographiques

- [54] Kerdudo, A., 2014. « Optimisation de la conservation des cosmétiques : impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation ». Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'université de Nice – Sophia Antipolis CHIMIE, 232p.
- [55] Abdallaoui, R., 2018. La microencapsulation des huiles : Meilleure approche pour la valorisation des produits alimentaires?.thèse de doctorat en pharmacie.Université Mohammed V de Rabat. 70P.
- [56] Akdim, L., 2017 ; « Comparaison de méthodes d'absorption et d'encapsulation de l'huile essentielle de Copaifera Officinalis L. en vue d'une application en cosmétique. Travail de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de master bioingénieur en Sciences agronomiques. Autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech, 54p.
- [57] Desai, K.G.H ., Park, H.J ., 2005.Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technol* 23: 1361–94.
- [58] Richard, J., Benoit JP. 2000.Microencapsulation. *Tech. Ing. J* 2210: 1–20.
- [59] Kerdudo, A 2014.Optimisation de la conservation des cosmétiques : impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation. Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'université de Nice – Sophia Antipolis CHIMIE, 232p.
- [60] Dias, D.R ., Botrel , D.A ., De Barros, F.R.V ., et Borges, S.V ., 2017.Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional food, *Current Opinion in Food Science* 13: 31–37.
- [61] Richard J, Benoit JP , 2000. « Microencapsulation » *Tech. Ing. J* 2210: 1–20.
- [62] Bile, J., 2015 ; Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés. Thèse de doctorat en Chimie théorique et/ou physique. Université Claude Bernard - Lyon I, 243.
- [63] « Microencapsulation ». Consulté le: 10 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur: https://moodle.umontpellier.fr/pluginfile.php/297990/course/overviewfiles/DFG-SP2_Microencapsulation_v2016.pdf
- [64] Chirani ,S., « Elaboration microscopique chargées d'amoxicilline et de theraphyline a partir de polymere biodégradable : etude cinétique de leur libération », Thèse de doctorat, Dillali Liabes, Sidi Bel Abbes, 2018. Consulté le: 10 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur: http://rdoc.univ-sba.dz/bitstream/123456789/2356/1/D_Chimie_CHIRANI_Soumia.pdf .

- [65] Salaun, F., Creach, G., Rault, F., Giraud, S., 2013; "Polymer Degradation and Stability", 98, 2663-2671,.
- [66] Chen, L., Xu, L., Shang, H., Zhang, Z., 2009; Energy Conversion and Management, 50, 723-729,.
- [67] Jiang, M., Song, X., Ye, G., Xu, J., 2008; Composites Science and Technology, 68, 2231-2237,
- [68] Almeida, A.P., Rodriguez-Rojo, S., Serra, A.T., Vila-Real, H., Simplicio, A.L., Delgado, I., Da Costa, S.B., Da Costa, L.B., Nogueira, I.D., Duarte, C.M.M., 2013; Innovative Food Sciences and Emerging Technologies, 20, 140-145,.
- [69] Glaucia, A.R., Favaro-Trindade, C.S., Ferreira Grosso, C.R., 2012; "Food and Bioproducts Processing, 90, 37-42,.
- [70] Jiang, W., Schwendeman, S.P. Pharmaceutical Research. 18, 878–885, (2001).
- [71] Jameela, S.R., Suma, N., Jayakrishana, A.J., Biomater. Sci. Polym., 8, 457–466, (1997).
Castellanos, I.J., Carasquillo, K.G., Jesus Lopez, J.D., Alvarez, M., Griebnow, K.,
- [72] Pharm, J Pharmacol, 53, 167–178, (2001).
- [73] Castellanos, I.J., Carasquillo, K.G., Jesus Lopez, J.D., Alvarez, M., Griebnow, K., J. Pharmacol, 53, 167–178, (2001).
- [74] Crott, G., Park T.G., Control J. Release, 35, 91–105, (1995).
- [75] Benoit, M.A., Baras, B., Gillbard J. Preparation and characterization of protein-loaded poly(ϵ -caprolactone) microparticles for oral vaccine delivery. Int. J. Pharm., 184, 73–84, (1999).
- [76] Glaucia, A.R., Favaro-Trindade, C.S., CR Ferreira Grosso Food and Bioproducts Processing, 90, 37-42, (2012).
- [77] Glaucia, A.R., Favaro-Trindade, C.S., CR Ferreira Grosso, Food and Bioproducts Processing, 90, 37-42, (2012).
- [78] Thies, C., Preparation & chemical application, 1, 47-54, (1999).
- [79] Richard, J., Benoit, JP., (2000). Microencapsulation. Tech. Ing. J 2210: 1–20.
- [80] Fessi H., Devissaguet J, Puisieux F, Process for the preparation of dispersible colloidal systems of a substance in the form of nanoparticles. US patent 5 118 528, 1992.
- [81] Al Haushey, L., Bolzinger, M.A., Bordes, C., Gauvrit, J.Y., Briançon, S., International Journal of Pharmaceutics, 2007, 344, 16.
- [82] Mao, S., Xu, J., Cai, C., Germershaus, O., Schaper, A., Kissel T., International Journal of Pharmaceutics, 2007, 334, 137.

- [83] Fessi, H., Devissaguet, J., Puisieux, F., US patent 5 049 322 17, 1991.
- [84] Birrenbach, G., Speiser, P.P., Journal of Pharmaceutical Sciences, 1976, 65, 1763.
- [85] Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Fessi, H., Doelker, E., Drug Development and Industrial Pharmacy, 1998, 24, 1113.
- [86] Couvreur, P., Kante, B., Grislain, L., Roland M., Speise, P., Journal of Pharmaceutical Sciences, 1982, 71, 790.
- [87] Zweers, M.L.T., Grijpma, D.W., Engbers, G.H.M., Feijen, J., Journal of Biomedical Materials research. Part B, Applied Biomaterials, 2003, 66, 559.
- [88] Sansdrap, P., Moës, A.J., Journal of Microencapsulation, 1998, 15, 545.
- [89] Merodio, M., Arnedo, A., Renedo, M.J., Irache, J.M., European Journal of Pharmaceutical Sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences, 2001, 12, 251.
- [90] Li, M., Rouaud, O., Poncelet, D., Int. J. Pharm, 2008, 363, 26.
- [91] Chung, T.W., Huang, Y.Y., Liu, Y.Z., Int. J. Pharm, 2001, 212, 161.
- [92] Sah, H., Toddywala, R., Chien, Y.W., J. Control. Release, 1994, 30, 201.
- [93] Mouffok, M., Mesli, A., Abdelmalek, I., E. Gontier, J. Serb. Chem. Soc., 2016, 81(10), 1183.
- [94] Kiliçarslan, M., Baykar, A.T., Int. J. Pharm., 2003, 252, 99.
- [95] Kim, B.K., Hwang, S.J., Park, J.B., Park, H.J., J. Microencapsul, 2005, 22, 193.
- [96] Benoit, M.A., Baras, B., Gillbard, J., Int. J. Pharm., 1999, 184, 73.
- [97] Jeong, J.C., Lee, J., Cho, K., J., Control. Rel., 2003, 92, 249.
- [98] Jeffery, H., Davis, S.S., O'Hagan, D.T., Pharm. Res., 1993, 10, 362.
- [99] Dhanaraju, M.D., Sathyamoorthya, N., Sundar, V.D., Suresh, C., J. Asian Pharm. Sci., 2010, 5, 114.
- [100] Li, M., Rouaud, O., Poncelet, D., Int. J. Pharm., 2008, 363, 26.
- [101] Sansdrap, P., Moes, A.J., Int. J. Pharm., 1993, 98, 157.
- [102] André-Abrant, A., Taverdet, J.L., Jay, J., Eur. Polym. J., 2001, 37, 955.
- [103] Jeyanthi, R., Mehta, R.C., Thanoo, B.C., De Luca, P.P., J. Microencapsul., 1997, 14, 163.
- [104] Li, W., I., Anderson, K.W., Mehta, R.C., De Luca, P.P., J. Control. Release, 1995, 37,
- [105] Efentakis, M., and Vlachou, M., "Evaluation of high molecular weight poly(oxyethylene)(Polyox®)polymer: studies of flow properties and release rates of

- furosemide and captopril from controlled release hard gelatin capsules”, *Pharm. Dev. Technol.*, V.5, (2000) , 339-346.
- [106] ntakis ,M., and lachVou ,M., “Evaluation of high molecular weight poly(oxyethylene)(Polyox®)polymer: studies of flow properties and release rates of furosemide and captopril from controlled release hard gelatin capsules”, *Pharm. Dev. Technol.*, V.5, (2000) , 339-346.
- [107] Lefnaoui, S., « Formulation de systèmes bioadhésifs à base de polymères Etude des propriétés physicochimiques et biopharmaceutiques», Thèse de doctorat, Université Saad Dahlab-Blida, 2014.
- [108] Nasef, M.M ., El-hafian ,E.A ., Saalah, S ., Yahaya ,A.H ., 2011. Preparation and Properties of Non-Crosslinked and Ionically Crosslinked Chitosan/Agar Blended Hydrogel Films. *E-Journal of Chemistr* : 4, 12p.
- [109] Nasef, M.M ., El-hafian, E.A ., Saalah ,S ., Yahaya, A.H ., 2011. Preparation and Properties of Non-Crosslinked and Ionically Crosslinked Chitosan/Agar Blended Hydrogel Films. *E-Journal of Chemistr* : 4, 12p.
- [110] Rossi ,F ., Santoro, M ., Casalini, T., Veglianese, P., Masi , & Perale, G., 2011. Characterization and Degradation Behavior of Agar–Carbomer Based Hydrogels for Drug Delivery Applications: Solute Effect. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(6), 3394– 3408.
- [111] Meena, R ., Prasad, K ., & Siddhanta, A.K., (2009). Development of a stable hydrogel network based on agar–kappa-carrageenan blend cross-linked with genipin. *Food Hydrocolloids*, 23(2), 497–509.
- [112] Chirani ,S ., « Elaboration microscopique chargées d’amoxicilline et de theraphyline a partir de polymere biodégradable : etude cinétique de leur libération », Thèse de doctorat, Dillali Liabes, Sidi Bel Abbes, 2018. Consulté le: 10 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur:
http://rdoc.univ-sba.dz/bitstream/123456789/2356/1/D_Chimie_CHIRANI_Soumia.pdf
- [113] Liu, M ., Mei, J-F., Yi ,y., Chen, J-S., Ying, G-Q ., 2008. Advances in study on biological activities of agro-oligosaccharide, *pharmaceutical biotechnology*, 6.
- [114] Pasqui, D ., Cagna, De M ., Barbucci, R ., 2012. Polymers, Polysaccharide-Based Hydrogels: The Key Role of Water in Affecting Mechanical Properties. *Interuniversity Research Centre for Advanced Medical Systems*: 18p, 1517-1518.

Références bibliographiques

- [115) Zouati, N., 2018. Exploitation théorique des diagrammes de phases des systèmes polymères/Cristaux liquides.Mémoire de Master: physique. faculté des sciences: 9, 67p. Université Dr Tahar Moulay, Saida
- [116] Dong, M ., & Chen ,YC,. 2020. The stimuli-responsive properties of hydrogels based on natural polymers. *Hydrogels Based on Natural Polymers*, 173–222.
- [117] Zhu, T et al., 2019. « Recent Progress of Polysaccharide-Based Hydrogel Interfaces for Wound Healing and Tissue Engineering », *Advanced Materials Interfaces*.
- [118] Hadrich, A ., 2019. Nouveaux hydrogels à base de polysaccharide obtenus par voie biomimétique ou par photoréticulation. *Polymères. Normandie Université*: 18-19, 340p.
- [119] Dong, M & Chen, Y., 2020. The stimuli-responsive properties of hydrogels based on natural polymers. *Hydrogels Based on Natural Polymers*, 173–222. Camponeschi F et al., 2015. « New Formulations of Polysaccharide-Based Hydrogels for Drug Release and Tissue Engineering », *Gels* 1.
- [120] L.A, Pharmacie Galénique., *Bonne pratique de fabrication des médicaments*, 8ème édition. Masson., Paris, 2001.
- [121] Stephen, A.M., *Food polysaccharides and their applications*. 270 Madison Avenue., New York, 1995.
- [122] Berthoud, 1983 ; « Structure physico-chimique des milieux dispersés: micelles, émulsions et micro émulsions », *J. chimie physique*, Volume 5, P407-422,.