REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par :

MERZOUGUI Habiba

Thème

Mise ou point d'un système matriciel à base de biomolécules à usage pharmaceutique

Soutenue publiquement le : 10 /06/2026, Devant le jury composé de :

Dr. AHMEDI Affaf	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Présidente
Dr. TOUMI Selma	Grade : MCB	Etablissement : UYFM	Examinatrice
Dr. YAHOUM MADIHA Melha	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Encadreur
Pr. LEFNAOUI SONIA	Grade : Pr	Etablissement : UYFM	Co-Encadreur

Année universitaire 2025/2026



Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Allah,
Le tout puissant, pour nous Avoir donnée la force et la patience

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements et ma profonde gratitude à mes parents pour leur soutien indéfectible, leurs encouragements constants et leur présence tout au long de mon parcours.

Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres du jury, **Dr AHMEDI Affaf**, présidente du jury, et **Dr TOUMI Selma** , examinatrice, pour l'honneur qu'elles nous font en acceptant de présider et d'examiner ce travail. Nous leur sommes reconnaissants pour le temps consacré à la lecture et à l'évaluation de ce modeste mémoire.

Mes remerciements les plus respectueux s'adressent également à **Dr Yahoum Mediha** Melha, Maître de conférences classe A à l'Université de Médéa, pour son encadrement précieux, son suivi rigoureux ainsi que ses conseils et son soutien durant la réalisation de ce mémoire.

J'adresse aussi mes sincères remerciements au **Pr Lefnaoui Sonia**, Professeure à l'Université de Médéa et co-encadreuse de ce travail, pour son accompagnement, ses orientations pertinentes et son suivi tout au long de l'élaboration de ce mémoire, contribuant ainsi à son amélioration.

Je remercie chaleureusement l'équipe du laboratoire de chimie de la faculté ainsi que celle du laboratoire de contrôle qualité de SAIDAL pour leur aide, leur disponibilité et leur soutien durant la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont également à l'ensemble de mes enseignants pour la qualité de leur enseignement et l'accompagnement qu'ils m'ont apportés tout au long de mon parcours universitaire.

Enfin, j'exprime toute ma gratitude à ma famille ainsi qu'à mon amie pour leur soutien moral, leur patience et leur présence constante tout au long de cette expérience.



Dédicace

Avant tout… **الحمد لله**

Pour m'avoir accordé la force d'avancer ainsi que la patience nécessaire pour surmonter les difficultés du chemin.

Je dédie ce travail :

À moi-même

Pour avoir tenu bon, résisté malgré les épreuves et poursuivi mon chemin sans jamais abandonner. Merci à moi-même.

À mes parents

Mon père et ma mère, qui m'ont apporté leur aide et leur soutien à tout moment, sans relâche. Vous êtes mon soutien ."Allah Yahfadhom ".

À mon amie Bouchra

Merci " bestfriend" qui a toujours été une véritable épaule sur laquelle je pouvais m'appuyer.

Je dédie également ce travail à mes frères et sœurs : **Nadjate , Mohamed, Nourhane, Amal** et **Adam**. Merci pour votre soutien.

Je le dédie aussi à mes amies **Aya** et **wissal**

Enfin, à toutes les personnes qui m'ont soutenue et accompagnée

الملخص
يتناول هذا العمل تطوير نظام مبتكر لتوصيل فيتامينC ، يهدف إلى تحسين استقراره والتحكم في تحرره من أجل تطبيق موضعي. وعلى الرغم من الاستخدام الواسع لفيتامين C بفضل خصائصه المضادة للأكسدة وتأثيراته الجلدية المفيدة، إلا أنه يتميز بحساسية عالية تجاه العوامل البيئية، مما يحدّ من فعاليته في التركيبات الصيدلانية.
في البداية، تم إجراء دراسة ما قبل الصياغة بهدف توصيف المواد الأولية وتقييم توافقها، حيث تم التأكد من عدم وجود تفاعلات مع فيتامين .C بعد ذلك، تم تحضير كبسولات دقيقة أساسها الألجينات، سواء بمفردها أو بالاشتراك مع شمع النحل، بهدف تحسين حماية المادة الفعالة. وقد سمح تحسين الصياغة بالحصول على كبسولات تتميز بخصائص مورفولوجية جيدة، ومردود تغليف مُرضٍ، بالإضافة إلى نمط تحرر ممتد.
وفي إطار نهج مبتكر، تم إدماج الكبسولات المثلى ضمن مصفوفة هلامية تعتمد على بوليمرات(HPMC و934 Carbopol) ، مخصصة للاستعمال الجلدي. وقد أظهر الهلام المحصل عليه خصائص فيزيائية-كيميائية ملائمة، خاصة من حيث المظهر، ودرجة الحموضة(pH) ، وقابلية الانتشار، والاستقرار.
كما أظهرت دراسات التحرر في المختبر نمط تحرير ممتد ناتج عن تداخل آليتين: الانتشار عبر المصفوفة الهلامية والتحرر من داخل الكبسولات. ويتيح هذا النظام المزدوج تحقيق حماية أفضل لفيتامين C مع ضمان تحرر متحكم فيه على مستوى الجلد.
وفي الختام، فإن الجمع بين الكبسولات الدقيقة من الألجينات/شمع النحل والهلام البوليمري يمثل استراتيجية واعدة لتطوير تركيبات موضعية مستقرة وفعالة، مع آفاق تطبيقية مهمة في المجالين الصيدلاني ودرمو-تجميلي.
الكلمات المفتاحية:فيتامينC ، التغليف الدقيق، الألجينات، شمع النحل، هلام بوليمري، تحرر ممتد، تطبيق موضعي.

Résumé
Ce travail porte sur le développement d'un système innovant de délivrance de la vitamine C, visant à améliorer sa stabilité et à contrôler sa libération pour une application topique. La vitamine C, bien que largement utilisée pour ses propriétés antioxydantes et dermatologiques, présente une forte sensibilité aux facteurs environnementaux, ce qui limite son efficacité en formulation.Dans un premier temps, une étude de préformulation a été réalisée afin de caractériser les matières premières et d'évaluer leur compatibilité, confirmant l'absence d'interactions avec la Vitamine C. Ensuite, des microcapsules à base d'alginate ont été élaborées, seules puis associées à la cire d'abeilles, afin d'améliorer la protection du principe actif. L'optimisation de la formulation a permis d'obtenir des capsules présentant de bonnes propriétés morphologiques, un rendement d'encapsulation satisfaisant et un profil de libération prolongée.Dans une approche innovante, les microcapsules optimales ont été incorporées dans une matrice gélifiée à base de polymères (HPMC et Carbopol 934), destinée à une application cutanée. Le gel obtenu a présenté des caractéristiques physicochimiques adéquates, notamment en termes d'aspect, de pH, d'étalement et de stabilité.Les études de libération *in vitro* ont révélé un profil de libération prolongée, résultant de la combinaison de la diffusion à travers la matrice gélifiée et de diffusion à partir des microcapsules. Ce système combiné permet ainsi d'assurer une meilleure protection de la vitamine C et une libération contrôlée au niveau cutané.
En conclusion, l'association microcapsules d'alginate/cire d'abeilles – gel polymérique constitue une stratégie prometteuse pour le développement de formulations topiques stables et performantes, ouvrant des perspectives intéressantes dans les domaines pharmaceutique et dermocosmétique.
Mots-clés : Vitamine C, Microencapsulation, Alginate, Cire d'abeilles, gel polymérique, Libération prolongée, Application topique.

Abstract
This work focuses on the development of an innovative delivery system for vitamin C, aimed at improving its stability and controlling its release for topical application. Although widely used for its antioxidant and dermatological properties, vitamin C is highly sensitive to environmental factors, which limits its effectiveness in formulations.First, a preformulation study was conducted to characterize the raw materials and evaluate their compatibility, confirming the absence of interactions with vitamin C. Subsequently, alginate-based microcapsules were developed, both alone and in combination with beeswax, in order to enhance the protection of the active compound. Optimization of the formulation resulted in capsules with good morphological properties, satisfactory encapsulation efficiency, and a prolonged release profile.In an innovative approach, the optimized microcapsules were incorporated into a gel matrix based on polymers (HPMC and Carbopol 934), intended for dermal application. The resulting gel exhibited suitable physicochemical characteristics, particularly in terms of appearance, pH, spreadability, and stability.*In vitro* release studies revealed a sustained release profile, resulting from the combination of diffusion through the gel matrix and release from the microcapsules. This combined system ensures improved protection of vitamin C and controlled delivery at the skin level.
In conclusion, the combination of alginate/beeswax microcapsules with a polymeric gel represents a promising strategy for the development of stable and effective topical formulations, offering interesting prospects in pharmaceutical and dermocosmetic fields
.**Keywords:** Vitamin C, Microencapsulation, Alginate, Beeswax, Polymeric gel, Sustained release, Topical application

Table des matières

REMERCIEMENTS

DEDICACES

RESUME

TABLE DE MATIERE

LISTE DE FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

	INTRODUCTION GENERALE	**01**
	CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1.	Introduction	**04**
I.2.	Sources, Stabilité et bienfaits de la Vitamine C	**04**
I.3.	Propriétés chimiques et physicochimiques de la vitamine C	**07**
I.3.1.	Structure et propriétés chimique de la vitamine C	**07**
I.3.2.	Propriétés redox de la vitamine C	**10**
I.3.3.	Solubilité et comportement physicochimique	**11**
I.3.4.	Implications pour la formulation pharmaceutique	**11**
I.3.5.	Encapsulation de la vitamine C dans des biopolymères	**12**
I.3.6.	Intérêt des systèmes à libération prolongée	**12**
I.4.	Propriétés biologiques et pharmacologiques de la vitamine C	**12**
I.4.1.	Activité antioxydante	**13**
I.4.2.	Rôle dans la biosynthèse du collagène	**13**
I.4.3.	Activité immunomodulatrice et anti-inflammatoire	**13**
I.4.4.	Activité antimicrobienne indirecte	**14**
I.4.5.	Limites pharmacologiques de la vitamine C libre	**14**
I.5.	Stratégies de formulation et d'encapsulation de la vitamine C	**14**
I.5.1.	Formes conventionnelles et limites	**15**
I.5.2.	Approches de protection chimique	**15**
I.5.3.	Encapsulation dans des systèmes polymériques	**15**
I.5.4.	Systèmes à libération prolongée	**16**
I.5.5.	Intérêt des systèmes biopolymériques pour les applications pharmaceutiques	**16**

Table des matières

I.6.	Méthodes d'encapsulation de la vitamine C	**17**
I.6.1.	Gélification ionique	**17**
I.6.2.	Méthode d'extrusion	**17**
I.6.3.	Spray-drying (séchage par atomisation)	**18**
I.6.4.	Nano et microcapsules polymériques	**18**
I.7.	L'alginate de sodium comme biopolymère d'encapsulation	**19**
I.7.1.	Propriétés physicochimiques de l'alginate de sodium	**19**
I.7.2.	Encapsulation de la vitamine C par gélification ionique de l'alginate	**22**
I.7.3.	Utilisation de l'alginate pour la libération prolongée de la vitamine C	**22**
I.7.4.	Choix de l'alginate de sodium dans ce présent travail	**22**
1.8.	La micro encapsulation	**24**
1.8.1.	Type des microparticules	**24**
1.8.2.	Composition d'une capsule	**25**
1.8.3.	Objectifs de l'encapsulation	**26**
1.8.4.	Etapes de l'encapsulation	**26**
1.8.5.	Précédés de micro encapsulation	**27**
1.8.5.1.	Précédés physico-chimiques	**27**
1.8.5.2.	Procédés chimiques	**32**
1.8.5.3.	Procédés mécaniques	**33**
1.8.6.	Mécanisme de libération des principes actifs à partir des capsules	**35**
1.8.6.1.	Libération par diffusion	**37**
I.8.6.2.	Libération par gonflement suivi d'une diffusion	**37**
I.8.6.3.	Libération par dégradation	**38**
I.8.7.	Paramètres influençant la libération d'un principe actif encapsulé	**39**
I.8.8.	Domaines d'application des microparticules	**39**
1.9.	Conclusion	**40**
	CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES	
II.1.	Introduction	**41**
II.2.	Matériel et méthodes	**42**
II.2.1.	Matériel	**42**
II.2.2.	Réactifs utilisés	**42**

Table des matières

II.3.	Préformulation	**43**
II.3.1.	L'acide L-ascorbique	**43**
II.3.1.1.	Dosage de la vitamine C par spectrophotométrie UV-Visible	**44**
II.3.2.	L'alginate de sodium	**46**
II.3.3.	La cire d'abeille	**47**
II.3.4.	Analyse des interactions par spectroscopie FTIR	**48**
II.4.	Formulation des capsules	**49**
II.4.1.	Principe de la méthode	**49**
II.4.2.	Composition des capsules à formuler	**50**
II.4.3.	Protocole de formulation	**52**
II.4.3.1.	Protocole de formulation des capsules à base d'Alginate	**52**
II.4.3.2.	Protocole de formulation des capsules d'Alginate avec la Cire d'abeilles	**53**
II.4.3.3.	Formulation du gel contenant les microcapsules	**56**
II.5.	Caractérisation des capsules formulées	**58**
II.5.1.	Morphologie des capsules humides et sèches	**58**
II.5.2.	Taille des capsules	**59**
II.5.3.	pH de surface	**60**
II.5.4.	Etude du gonflement des capsules	**60**
II.5.5.	Détermination du rendement d'encapsulation	**61**
II.5.6.	Étude de la libération du principe actif à partir des capsules	**62**
II.6.	Contrôle qualité du gel contenant les microcapsules	**64**
II.6.1.	Aspect macroscopique	**64**
II.6.2.	Mesure du pH	**64**
II.6.3.	Étude de l'étalement	**65**
II.6.4.	Étude de la viscosité du gel contenant les capsules	**65**
II.6.5.	Étude de la diffusion in vitro	**66**
II.6.6.	Contrôle de la qualité microbiologique du gel	**67**
II.7.	Conclusion	**69**
	CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS	
III.1.	Introduction	**70**
III.2.	Préformulation	**71**
III.2.1.	Dosage de la vitamine C par spectrophotométrie UV-Visible	**71**

Table des matières

III.2.2.	Détermination de la courbe d'étalonnage	**72**
III.2.3.	Analyse des interactions par spectroscopie FTIR	**74**
III.3.	Caractérisation des capsules	**77**
III.3.1.	Morphologie des capsules humides et sèches	**77**
III.3.2.	Taille des capsules	**80**
III.3.3.	pH de surface	**82**
III.3.4.	Étude du gonflement des capsules	**83**
III.3.4.1.	Étude du gonflement des capsules dans l'eau	**83**
III.3.4.2.	Étude de la cinétique de gonflement des capsules en fonction du pH	**84**
III.3.5.	Rendement d'encapsulation	**88**
III.4.	Étude de la libération in vitro de la Vitamine C à partir des capsules	**89**
III.4.1.	Profil de libération dans le milieu acide (pH = 1.2)	**89**
III.4.2.	Profil de libération dans le milieu basique (pH = 7.4)	**92**
III.4.3.	Profil de libération dans l'eau distillée	**93**
III.5.	Contrôle qualité du gel contenant les capsules	**95**
III.5.1.	Aspect macroscopique	**95**
III.5.2.	Mesure du pH	**96**
III.5.3.	Étude de l'étalement	**96**
III.5.4.	Étude de la viscosité du gel	**97**
III.5.5.	Étude de la diffusion in vitro	**98**
III.5.6.	Contrôle de la qualité microbiologique	**99**
III.6.	Conclusion	**100**
	CONCLUSION GENERALE	**102**

Listes des figures

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE		
Figure 1.1.	La structure chimique de l'Acide L-(+) Ascorbique	**08**
Figure 1.2.	La fonction acide de l'Acide Ascorbique	**09**
Figure 1.3.	La fonction réductrice de l'Acide Ascorbique	**09**
Figure 1.4.	Oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique	**10**
Figure 1.5.	**S**tructure des Alginates	**20**
Figure 1.6.	Structure d'un liposome	**24**
Figure 1.7.	Représentation schématique d'une microcapsule et d'une microsphère	**25**
Figure 1.8.	Principe de la coacervation simple : dispersion du principe actif dans la solution de polymère (**a),** formation des gouttelettes de coacervat **(b),**Dépôt du coacervat **(c)** Fusion des gouttelettes de coacervat et formation d'un enrobage continu**(d),** Solidification de l'enveloppe **(e)**.	**28**
Figure 1.9.	Encapsulation par coacervation complexe.	**29**
Figure 1.10.	Principe d'encapsulation par évaporation de solvant.	**30**
Figure 1.11.	Principe d'un procédé d'encapsulation Hot-Melt.	**31**
Figure 1.12.	Procédé d'encapsulation par polycondensation interfaciale.	**32**
Figure 1.13.	Gélification des gouttes : schéma de principe.	**34**
Figure 1.14.	Congélation de gouttes : schéma de principe.	**35**
Figure 1.15.	Principe de libération prolongée par diffusion (gauche) et par érosion (droite).	**36**
Figure 1.16.	Libération par diffusion.	**37**
Figure 1.17.	Libération du principe actif à partir des systèmes à gonflement contrôlé: système réservoir, (b) système matriciel.	**38**
Figure 1.18.	Libération par dégradation : (a) hydrolyse en masse, (b) dégradation en surface.	**39**
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES		
Figure 2.1.	Schéma représentatif de la méthode de préparation des capsules par gélification ionotropique.	**50**
Figure 2.2.	Etapes de formulation des capsules à base d'alginate : (A) Incorporation de la Vitamine C dans le gel d'Alginate de sodium, (B) Gélification ionotropique, (C) Filtration des capsules, (D) Séchage à l'air libre.	**53**

Liste des figures

Figure 2.3.	Etapes de formulation des capsules à base d'alginate/Cire d'abeilles: (A) Dispersion solide-lipide (Vit C / cire) et solution d'alginate dans un bain-marie thermostatée, (B) Émulsification (Cire d'abeilles/ Alginate), (C) Gélification ionotropique, (D) Filtration des capsules, (E) Lavage des capsules, (F) Séchage à l'air libre.	**55**
Figure 2.4.	Etapes de Formulation du gel contenant les microcapsules : (A) Preparation du gel de Carbopol, (B) Neytralisation du gel de carbopol, (C) Préparation du gel d'HPMC, (D) Ajout du glycérol dans le gel d'HPMC, (E) Homogénéisation des deux gel (Carbopol et HPMC), (F) Incersion des capsules F4 dans le gel.	**58**
Figure 2.5.	Mesure de la taille des capsules à l'aide d'un pied à coulisse numérique (MDC-25S Mitutoyo)	**59**
Figure 2.6.	Test de dissolution SOTAX.	**63**
Figure 2.7.	Cellule de Frantz pour le test de Diffusion in vitro	**67**
	CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS	
Figure 3.1.	Spectres d'absorption UV des solutions de la Vit C dans :L'eau distillée, Milieu tampon pH 1,2 Milieu tampon pH 7.4	**71**
Figure 3.2.	Courbe d'étalonnage de la Vit C par spectroscopie UV-Vis, à λmax =262 nm dans: (a) l'eau distillée, (b) Milieu tampon pH 1.2, (c) Milieu tampon pH 7.4	**73**
Figure 3.3.	Spectres FTIR d'absorption : (a) Acide ascorbique, (b) Alginate de sodium, (c) mélange physique (Acide ascorbique/Alginate de sodium).	**76**
Figure 3.4.	Formes et aspect des capsules à base d'Alginate (F1-F2) : (A) Capsules humides, (B) Capsules sèches.	**78**
Figure 3.5.	Formes et aspect des capsules à base d'Alginate/Cire d'beilles (F3-F6) : (A) Capsules humides, (B) Capsules sèches.	**79**
Figure 3.6.	Diamètres moyens des capsules formulées (sèches et humides).	**81**
Figure 3.7.	pH de surface des capsules formulées sèche et humide respectivement	**83**
Figure 3.8.	Taux de gonflement optimum des capsules(F1-F6) dans l'eau distillée.	**84**
Figure 3.9.	Taux de gonflement optimums des capsules (F1-F6) dans differents milieux.	**85**
Figure 3.10.	Cinétique de gonflement des capsules (F1-F6), dans différents milieux.	**87**
Figure 3.11.	Rendement d'encapsulation des capsules formulées (F1-F6)	**89**

Figure 3.12.	Cinétique de dissolution in vitro des capsules (F1-F6) en milieu pH1.2.	**92**
Figure 3.13.	Cinétique de dissolution in vitro des capsules (F1-F6) en milieu pH 7.4.	**93**
Figure 3.14.	Cinétique de dissolution in vitro des capsules (F1-F6) dans l'eau distillée.	**94**
Figure 3.15.	Aspect du gel contenant les capsules	**96**
Figure 3.16.	Test d'étalement des gels formulés (Avec et sans capsules).	**97**
Figure 3.17.	Courbe de viscosité du gel à base d'HPMC et de Carbopol 934, contenant les capsules.	**98**
Figure 3.18.	Cinétique de diffusion in vitro du gel à base d'HPMC et de Carbopol 934, contenant les capsules.	**99**
Figure 3.19.	Résultats du dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT), des moisissures et levures (DMLT) et de l'absence des colonies de Pseudomonas Aeruginosa dans les gels (HPMC/Carbopol 934) avec et sans microcapsules.	**100**

Liste des tableaux

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE		
Tableau 1.1.	Les sources végétales de vitamine C	**05**
Tableau 1.2.	Propriétés physicochimiques de l'Acide Ascorbique	**08**
Tableau 1.3.	Principales applications d'alginates	**21**
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES		
Tableau 2.1.	Liste du matériel utilisé	**42**
Tableau 2.2.	Liste des réactifs utilisés	**42**
Tableau 2.3.	Caractéristiques physicochimiques de l'acide L-ascorbique	**44**
Tableau 2.4.	Caractéristiques physicochimiques de l'alginate de sodium	**47**
Tableau 2.5.	Caractéristiques physicochimiques de la cire d'abeille	**48**
Tableau 2.6.	Composition des capsules développées.	**51**
Tableau 2.7.	Composition des différentes Formulations des capsules chargées en Vit C	**51**
Tableau 2.8.	Composition du gel contenant les microcapsules.	**57**
Tableau 2.9.	Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes semi-solides non stériles administrée par voie cutanée	**68**
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS		
Tableau 3.1.	Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage de la Vit C.	**73**
Tableau 3.2.	Taille des capsules obtenues	**80**

Introduction générale

Au cours des dernières années, l'intérêt pour la vitamine C a considérablement augmenté à l'échelle mondiale. Cette molécule suscite un engouement croissant non seulement dans le domaine médical et nutritionnel, mais également dans les secteurs cosmétique et parapharmaceutique. En effet, la vitamine C est aujourd'hui largement intégrée dans de nombreux produits dermocosmétiques en raison de ses propriétés antioxydantes, éclaircissantes, anti-âge et photoprotectrices [1]. Elle est notamment utilisée dans les sérums, crèmes et formulations topiques destinées à prévenir le vieillissement cutané, atténuer les taches pigmentaires et stimuler la synthèse du collagène. Cette popularité s'est encore renforcée ces dernières années, notamment avec l'augmentation de la demande en produits favorisant l'immunité, la protection contre le stress oxydatif et le maintien d'une peau saine **[2].**

La vitamine C, ou acide ascorbique (AA), est une vitamine hydrosoluble reconnue pour ses nombreuses propriétés biologiques. À fortes doses, elle est parfois considérée comme possédant une activité comparable à celle de certains agents antimicrobiens, agissant à la fois sur les virus et les bactéries tout en renforçant le système immunitaire. Elle constitue également un puissant antioxydant capable de piéger les radicaux libres et de protéger les composants cellulaires contre les dommages oxydatifs [3].

Cependant, la vitamine C est également la plus instable de toutes les vitamines. Elle est particulièrement sensible à l'oxygène, à la lumière, à la chaleur et à l'eau. À température ambiante, jusqu'à 50 % de la teneur en vitamine C d'un produit peut être perdue en seulement 24 heures. Cette forte instabilité impose donc le développement de stratégies de formulation et de stockage adaptées afin de limiter sa dégradation et préserver son efficacité [3].

Dans ce contexte, l'encapsulation apparaît comme une approche prometteuse. Cette technique pharmaceutique consiste à piéger un principe actif au sein d'un matériau inerte afin d'améliorer sa stabilité, sa conservation, sa présentation et sa biodisponibilité **[4].** Elle constitue aujourd'hui un domaine de recherche majeur pour l'industrie pharmaceutique et biomédicale.

Parallèlement, les polymères naturels ont suscité un intérêt scientifique croissant au cours des dernières décennies. Leur biodégradabilité, leur biocompatibilité et leur caractère renouvelable en font des matériaux particulièrement attractifs pour les applications pharmaceutiques et biomédicales. Les avancées en chimie des polymères et en techniques analytiques ont permis une meilleure compréhension de leurs propriétés physico-chimiques, favorisant ainsi leur utilisation dans les systèmes d'administration des médicaments **[5].**

Parmi ces biopolymères, les alginates occupent une place de choix en raison de leurs propriétés uniques. Issus principalement d'algues brunes, ils sont abondants, peu coûteux, biocompatibles et solubles dans l'eau **[5].** L'industrie pharmaceutique utilise largement les alginates comme excipients, agents de formulation et matériaux d'encapsulation. En effet, l'efficacité d'un médicament dépend fortement du système d'administration capable d'acheminer le principe actif jusqu'à sa cible biologique.

Dans ce contexte, la microencapsulation par gélification ionotropique apparaît comme une stratégie particulièrement prometteuse pour la protection des molécules sensibles. Cette approche, largement étudiée dans le domaine pharmaceutique, permet d'améliorer la stabilité, la protection et le contrôle de la libération de nombreux principes actifs. Elle a déjà démontré son efficacité pour l'encapsulation de différentes substances bioactives, notamment des vitamines et des médicaments tels que l'ibuprofène ou la riboflavine **[6].**

Compte tenu de la forte instabilité de la vitamine C et des contraintes liées à sa formulation, le développement de systèmes d'encapsulation adaptés constitue donc un enjeu majeur. L'utilisation de capsules d'alginate représente une solution particulièrement intéressante en raison de la biocompatibilité, de la biodégradabilité et de la capacité gélifiante de ce biopolymère.

L'objectif de ce travail est de formuler et caractériser des capsules d'alginate destinées à l'encapsulation de la vitamine C par gélification ionotropique, afin d'améliorer sa stabilité et d'évaluer le potentiel de ce système comme vecteur de protection et de libération du principe actif.

Dans cette optique, ce mémoire est structuré en trois chapitres :

- Le premier chapitre est une revue bibliographique regroupant des généralités sur l'acide ascorbique (définition, structure, propriétés physico-chimiques, stabilité, etc.), ainsi que les exigences liées à sa formulation à l'aide de différentes techniques, notamment l'encapsulation. Ce chapitre présente également des notions générales sur l'alginate de sodium, le biopolymère utilisé pour l'encapsulation de l'acide ascorbique. Enfin, une dernière partie de ce présent chapitre est consacré à la présentation des principales méthodes d'encapsulation. Il aborde les différents types de microparticules, les procédés et techniques d'encapsulation, ainsi que les objectifs de cette approche.
- La partie expérimentale, présentée dans le deuxième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisés pour la formulation et la caractérisation des microcapsules.
- Le troisième chapitre regroupe les résultats expérimentaux issus des analyses physico-chimiques. Il présente également l'interprétation et la discussion des résultats obtenus au cours de cette étude.

Enfin, la conclusion générale récapitule l'ensemble des résultats présentés dans ce travail et propose des perspectives de recherche.

CHAPITRE I:

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Introduction

La vitamine C, également appelée acide ascorbique, est chimiquement l'une des vitamines les plus simples. Cette particularité explique qu'elle ait été parmi les premières vitamines à être isolées, caractérisées, purifiées et structurellement élucidées**.** Elle représente aujourd'hui la vitamine la plus produite industriellement à l'échelle mondiale, en raison de son rôle biologique essentiel et de ses nombreuses applications nutritionnelles, pharmaceutiques et cosmétiques [7].

La vitamine C est naturellement présente de manière ubiquitairedans de nombreux fruits et légumes, notamment les agrumes, les fruits rouges et certains légumes verts. Toutefois, les apports alimentaires peuvent s'avérer insuffisantspour couvrir les besoins journaliers recommandés, en particulier dans certaines situations physiologiques ou pathologiques (stress oxydatif, infections, grossesse, vieillissement). Afin de pallier ces insuffisances, diverses formes pharmaceutiques ont été développées, parmi lesquelles les compléments alimentaires occupent une place prépondérante.

Dans ces formulations, la vitamine C est généralement incorporée sous forme d'acide ascorbiqueou de ses sels minéraux, tels que l'ascorbate de sodium ou l'ascorbate de calcium. Ces formes salines, de pH neutre ou légèrement alcalin, présentent l'avantage d'être mieux tolérées sur le plan gastriqueque l'acide ascorbique libre, tout en conservant une efficacité biologique comparable [8].

I.2. Sources, Stabilité et bienfaits de la Vitamine C

Les principales sources de la vitamine C sont les fruits frais et légumes verts crus [9].La majeure partie des apports (70 %) provient des fruits (agrumes essentiellement) et des légumes (Tableau 1.1). Les pommes de terre, le pain et les céréales en apportent de 12 à 22 % [9].

Tableau 1.1. Les sources végétales de vitamine C [10].

Aliments	**(mg)**
Goyave	199
Poivron rouge, cru ou cuit	101- 166
Poivron vert ,cru ou cuit	54- 132
papaye	94
kiwi	71
orange	70
Jus d'orange	43- 66
mangue	57

Certains aliments d'origine animale contiennent également de la vitamine C en faible quantité tels que la viande de bœuf et, poisson frais, foie, rognons, lait de vache et fromage cru.

❖ ***Stabilité de la Vitamine C :*** La vitamine C est particulièrement instable. Elle est la plus fragile de toutes les vitamines: sensible à l'eau, à la chaleur à l'air et à la lumière.

Par exemple à température ambiante, la moitié de la teneur en vitamine C d'un aliment peut être perdue en 24 heures. Les modes de cuisson et de stockage doivent donc être adaptés de manière à limiter les pertes.

- Lors de la cuisson: Les pertes sont notables car la vitamine C étant hydrosoluble fuit dans l'eau de cuisson. C'est pourquoi il est préférable de cuire les légumes à la vapeur, et d'utiliser l'eau de cuisson pour les soupes.
- L'acide ascorbique, très sensible à la lumière et à la chaleur, s'oxyde facilement. Cependant un milieu acide a un effet protecteur, c'est pourquoi il est, toutes choses égales, mieux conservé dans les citrus: citron, orange, pamplemousse et dans les fruits acides [10].

❖ ***Bienfaits de la vitamine C:*** C'est une vitamine qui présente un large éventail d'effets différents et complémentaires [10].

- Prévient les maladies cardiovasculaires en bloquant la formation du cholestérol.
- Elle est indispensable dans les mécanismes de défense immunitaire pour lutter contre toutes sortes d'infections bactériennes et virales.
- En intraveineuses, La vitamine C guérit la polio, l'hépatite B et C, la rougeole, la varicelle, l'herpès, la maladie de Lyme, la mononucléose...
- Neutralise un nombre important de toxines (à la bonne dose par voie intraveineuse elle guérit une toxi-infection en quelques minutes).
- Détruit de nombreux polluants et pesticides carcinogènes.
- Elimine les métaux lourds de l'organisme (mercure, cadmium, plomb…).
- Protège contre les infections urinaires et aussi contre le cancer de la vessie.
- A très haute doses en intraveineuse diminue le taux de survie de 50% des cellules cancéreuses sans affecter les cellules normales.
- Joue un rôle thérapeutique important pour des personnes atteintes du SIDA.
- Régule le métabolisme calcique en évitant tout problème de décalcification ou d'ostéoporose.
- Neutralise les radicaux libres donc ralentit le vieillissement.
- Joue un rôle important dans la protection et l'entretien en bon état des vaisseaux capillaires.
- Permet la synthèse des hormones surrénales qui jouent un rôle essentiel en cas de stress.
- Est un antianémique en favorisant la formation d'hémoglobine et l'absorption intestinale du fer.
- Est un antihistaminique naturel efficace contre les allergies.
- Est un puissant stimulant cérébral (mémoire et intellect).
- Maintient le tonus et permet de mieux affronter la fatigue.
- Contrairement aux idées reçues, elle facilite le sommeil.
- Facilite le transit intestinal.

I.3. Propriétés chimiques et physicochimiques de la vitamine C

La vitamine C, ou acide L-ascorbique, est un composé hydrosoluble appartenant à la famille des lactones. Sa formule brute est $C_6H_8O_6$, avec une masse molaire de 176,12 $g \cdot mol^{-1}$. Sur le plan structural, elle dérive d'un hexose et présente un système énediol fortement réducteur, responsable de la majorité de ses propriétés biologiques et chimiques [11].

La vitamine C se trouve naturellement dans le corps sous forme de système redox qui se compose globalement de sa forme réduite (et plus stable), l'acide L-ascorbique, et de sa forme oxydée (et moins stable), l'acide L-déhydroascorbique (l'isomère D est également présent, mais est biologiquement inactif). Entre ces deux formes, la vitamine C existe sous forme d'ascorbate chargé et de radical ascorbyle. Ce processus redox est réversible, ce qui signifie qu'il peut aller dans les deux sens, de sorte que l'acide ascorbique peut être régénéré [12].

I.3.1. Structure et propriétés chimique de la vitamine C

La structure de l'acide ascorbique comprend un noyau lactone à cinqchaînons et deux fonctions hydroxyles portées par une double liaison (énediol). Cette configuration confère à la vitamine C un fort pouvoir antioxydant, lui permettant de céder facilement des électrons et de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène.

La vitamine C ou l'Acide ascorbique (DCI: Dénomination commune internationale) doit son nom au scorbut, une maladie qui a pris la vie de plusieurs maritimes à l'époque (1740), c'est la conséquence d'une carence de la vitamine C [9,10].

Sa Dénomination Chimique selon les règles de nomenclature d'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) est (5R)-5-((11S)-1,2-dihydroxyéthyl))-3,4-dihydroxy-5-hydrofuran-2-one [12].

❖*Chiralité et pouvoir rotatoire:*La vitamine C est un hexose issu de la cascade initiée par le D-glucose. Elle possède deux types de pouvoir rotatoire et seule la forme lévogyre est active, qui est la forme naturelle, sur le plan biologique [11].

On parle d'acide ascorbique ou acide L-(+)-ascorbique donc dextrogyre et il est le seul autorisé à porter le nom de « vitamine C ». L'acide ascorbique lévogyre (acide D-(–)-ascorbique) n'a pas d'effet vitaminique suffisant.

La structure chimique développée de la vitamine C est illustrée ci-après **(Figure 1.1.)**:

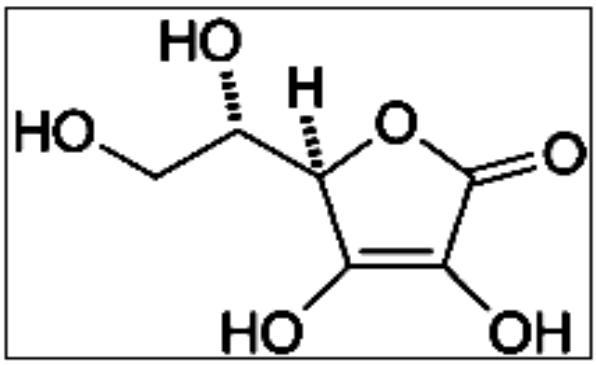


Figure 1.1. Structure chimique de l'Acide L-(+) Ascorbique [12].

La vitamine C s'oxyde lorsqu'elle est exposée à l'air et à la lumière. Les solutions aqueuses sont rapidement oxydées par l'air, accélérées par les alcalis, le fer, le cuivre [11]. La poudre se conserve en récipient non métallique, à l'abri de la lumière [10]. Les propriétés physiques de l'AA sont regroupées dans le tableau 1.2.

Tableau 1.2. Propriétés physicochimiques de l'Acide Ascorbique [11].

Propriétés physicochimiques	**Acide Ascorbique**
Masse moléculaire	176 ,12 g/mol
Densité	1.65 g/cm³
Point d'ébullition	552.67°C, 760.00 mmHg
Point de fusion	191 °C (se décompose).
Pouvoir rotatoire	[α] D/20 entre + 20,5° et + 21,5° (solution aqueuse à 10 % p/v).
Constante de dissociation	Pk1 = 4,17 et Pk2 = 11,57
pH	Entre 2,4 et 2,8 (solution aqueuse de 2 %)
Solubilité dans l'eau	333,00 g/l à 20 °C

❖*Les propriétés acides:*L'AA est une vitamine hydrosoluble naturelle, le groupement essentiel de la vitamine C est la fonction enediol en C2 avec ses hydrogènes mobiles qui confèrent à la molécule des propriétés acides (formation de sels sodique, calcique, …etc) [8].

En effet, le groupements OH fixé à la double liaison en C3 (**Figure 1.2**) possède une acidité comparable à celle d'un groupement carboxylique avec un pKa de 4,17 [13].

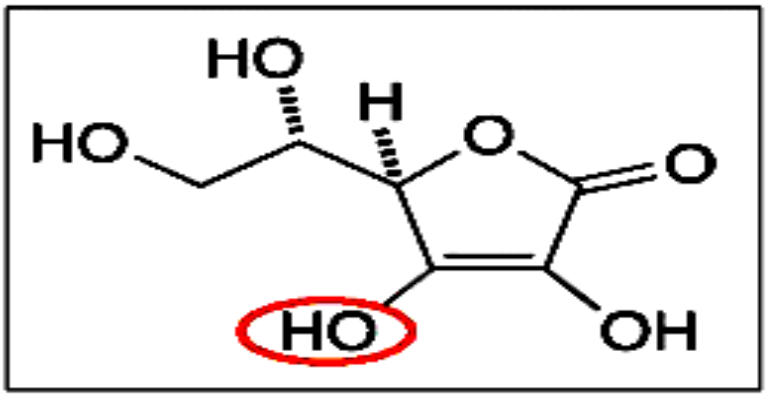


Figure 1.2. La fonction acide de l'Acide Ascorbique [12].

❖*Les propriétés réductrices:*La même fonction enediol (**Figure 1.3**) donne à la molécule un pouvoir réducteur et antioxydant remarquable par le biais de sa fonction hydroxyle [14].

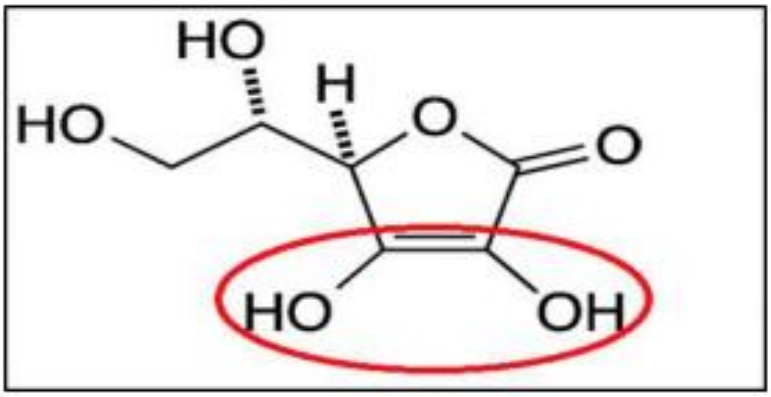


Figure 1.3. La fonction réductrice de l'Acide Ascorbique [12].

L'AA, en milieu aqueux, peut figurer sous sa forme oxydée et cela en présence de métaux, d'alcalins, d'oxygène dissous et à la lumière. Le pH, la température et la nature des métaux présent vont contrôler sa vitesse d'oxydation [14].

I.3.2. Propriétés redox de la vitamine C

Lors de l'oxydation, l'acide ascorbique est converti en acide déhydroascorbique, une forme encore biologiquement active, mais chimiquement instable (**Figure 1.4**). Cette oxydation est réversible, mais peut devenir irréversible en milieu défavorable, conduisant à des produits de dégradation inactifs [15]. Cette sensibilité rédox constitue un défi majeur pour la formulation pharmaceutique de la vitamine C.

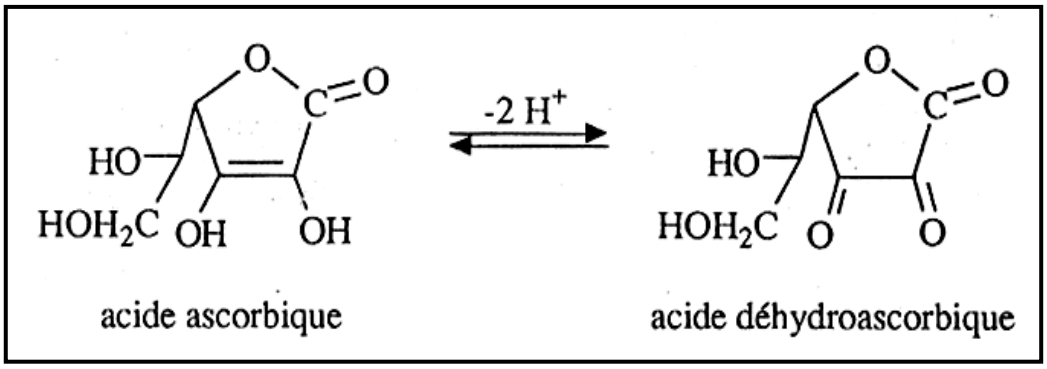


Figure 1.4. Oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique [15].

La fonction antioxydante (redox) de la vitamine C est la cause principale des effets que vous pouvez observer avec la vitamine C [16]. En ce qui concerne la peau, il existe plusieurs effets très intéressants, par exemple :

- La vitamine C aide le collagène de différentes manières : en étant le cofacteur de plusieurs enzymes hydrolases qui stabilisent la structure du collagène, en favorisant l'expression des gènes du collagène.
- La vitamine C a un effet positif sur la cicatrisation des plaies. L'effet est directement lié à son activité cofacteur dans la synthèse du collagène, et son influence sur la prolifération et la migration des fibroblastes dermiques a donc un effet sur la cicatrisation.
- Les propriétés antioxydantes de la vitamine C jouent également un rôle déterminant dans l'effet inhibiteur qu'elle a contre les dommages cutanés induits par les rayons UV [17].
- La vitamine C inhibe la mélanogenèse (pigmentation de la peau), probablement en interagissant avec et en inhibant la tyrosinase, qui est l'enzyme déterminant la vitesse de la mélanogenèse, réduisant ainsi la pigmentation de la peau [18].

I.3.3. Solubilité et comportement physicochimique

La vitamine C est hautement soluble dans l'eau, avec une solubilité supérieure à 300 $g \cdot L^{-1}$à température ambiante. En revanche, elle est insoluble dans les solvants organiques apolaires, ce qui limite son incorporation directe dans certaines formes galéniques, notamment lipidiques [14].

Le pKa de l'acide ascorbique est d'environ 4,17, ce qui signifie qu'il est majoritairement ionisé à pH physiologique [15]. Cette ionisation influence :

- Sa stabilité chimique,
- Sa perméabilité membranaire et,
- Son comportement de libération dans les systèmes polymériques.

La vitamine C présente une instabilité marquée vis-à-vis de plusieurs facteurs physicochimiques, notamment :

- L'oxygène,
- La lumière,
- La chaleur,
- Le pH alcalin et,
- La présence d'ions métalliques (Fe^{3+}, Cu^{2+}).

Cette instabilité se traduit par une dégradation rapide lors du stockage ou après administration, réduisant significativement sa biodisponibilité [14,15].

I.3.4. Implications pour la formulation pharmaceutique

Les propriétés chimiques de la vitamine C, bien que favorables sur le plan biologique, représentent un véritable défi technologique pour sa formulation [15,18]. Sa forte hydrosolubilité, combinée à son instabilité chimique, entraîne :

- Une dégradation prématurée,
- Une libération rapide et non contrôlée et,
- Une biodisponibilité limitée.

Ces contraintes justifient le développement de systèmes d'encapsulation capables de protéger la molécule active tout en modulant sa libération. Parmi ces stratégies, l'utilisation de biopolymères naturels (alginate de sodium, gélatine, chitosane, gomme xanthane, etc.) suscite un intérêt croissant en chimie pharmaceutique [18].

I.3.5. Encapsulation de la vitamine C dans des biopolymères

L'encapsulation de la vitamine C dans des matrices biopolymériques permet :

- de protéger la molécule contre l'oxydation et la lumière,
- de réduire l'interaction avec l'environnement externe,
- et d'assurer une libération prolongée et contrôlée.

Les biopolymères hydrophiles forment des réseaux tridimensionnels capables d'emprisonner la vitamine C par liaisons hydrogène, interactions électrostatiquesou piégeage physique [17,18]. Le comportement de libération dépend alors de plusieurs paramètres, notamment :

- la nature du biopolymère,
- le degré de réticulation,
- le pH du milieu,
- et la taille des particules encapsulées.

Dans des conditions physiologiques, ces systèmes peuvent offrir une libération progressive, limitant les pics de concentration et améliorant ainsi l'efficacité thérapeutique et la tolérance de la vitamine C [18].

I.3.6. Intérêt des systèmes à libération prolongée

Les formulations à base de biopolymères présentent un avantage majeur dans le développement de formes pharmaceutiques innovantes de vitamine C [19]. En effet, la libération prolongée permet :

- de maintenir des concentrations plasmatiques plus stables,
- de réduire la fréquence d'administration,
- et d'améliorer l'observance thérapeutique.

Ainsi, l'association des propriétés biologiques de la vitamine C avec des systèmes polymériques intelligents constitue une approche prometteuse pour surmonter les limites liées à son instabilité et optimiser son potentiel thérapeutique [20].

I.4. Propriétés biologiques et pharmacologiques de la vitamine C

La vitamine C joue un rôle essentiel dans de nombreux processus biologiques et pharmacologiques [19, 20]. Elle intervient à la fois comme cofacteur enzymatique,

antioxydant majeur et agent modulateur de fonctions cellulaires, ce qui explique son large spectre d'applications thérapeutiques [21, 22].

I.4.1. Activité antioxydante

La principale propriété biologique de la vitamine C est son activité antioxydante puissante. Grâce à sa structure énediol, elle agit comme un donneur d'électrons, neutralisant efficacement les espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle [23].

Cette activité permet de :

- Protéger les membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique,
- Préserver l'intégrité des protéines et de l'ADN,
- Régénérer d'autres antioxydants, notamment la vitamine E, par des mécanismes de recyclage rédox.

Cependant, cette même capacité réductrice rend la vitamine C hautement instable, ce qui justifie le recours à des systèmes de protection et d'encapsulation afin de préserver son efficacité biologique jusqu'au site d'action [24].

I.4.2. Rôle dans la biosynthèse du collagène

La vitamine C est un cofacteur indispensable des enzymes prolyl-hydroxylase et lysyl-hydroxylase, impliquées dans la maturation du collagène [25.26]. Elle est donc essentielle à :

- la formation et la stabilité de la matrice extracellulaire,
- la cicatrisation des plaies,
- le maintien de l'intégrité des tissus conjonctifs, cutanés et vasculaires.

Une carence en vitamine C entraîne une altération de la synthèse du collagène, conduisant à des troubles cliniques bien connus tels que le scorbut [27].

I.4.3. Activité immunomodulatrice et anti-inflammatoire

La vitamine C contribue à la régulation du système immunitaire en stimulant l'activité des leucocytes, en favorisant la chimiotaxie et en améliorant la phagocytose [27, 28].

. Elle participe également à la modulation de la réponse inflammatoire en :

- réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires,

- limitant le stress oxydatif associé à l'inflammation,
- protégeant les cellules immunitaires contre les dommages oxydatifs.

Ces effets sont toutefois dépendants de la concentration locale de vitamine C, ce qui souligne l'intérêt de formulations capables d'assurer une libération contrôlée et prolongée [29,30].

I.4.4. Activité antimicrobienne indirecte

Bien que la vitamine C ne soit pas un agent antimicrobien classique, elle exerce une activité indirecte en :

- modifiant le microenvironnement oxydatif,
- perturbant le métabolisme microbien,
- renforçant les défenses immunitaires de l'hôte.

Ces effets sont particulièrement intéressants dans des formulations combinant protection, stabilité et diffusion progressive de la vitamine C [31,32].

I.4.5. Limites pharmacologiques de la vitamine C libre

Malgré ses nombreux bénéfices biologiques, l'utilisation thérapeutique de la vitamine C sous forme libre est limitée par :

- une faible stabilité chimique,
- une dégradation rapide en milieu physiologique,
- une clairance rapide,
- et une biodisponibilité variable.

Ces contraintes renforcent la nécessité de développer des systèmes de délivrance adaptés, capables d'optimiser son efficacité pharmacologique [33,34].

I.5. Stratégies de formulation et d'encapsulation de la vitamine C

L'acide ascorbique présente des défis en termes d'utilisation, spécialement sur la peau en raison de son instabilité (en particulier en présence de chaleur, de conditions oxydatives, d'un pH élevé, de lumière UV et de certains ions métalliques) et en raison de sa forme hydrophile qui fait qu'il a du mal à pénétrer la peau[35]. Certains travaillent à la fabrication de petites particules ou de micro-émulsions multicouches ou de formulations très acides qui devraient pouvoir relever ces défis [36].

L'acide ascorbique ne possède pas de groupe acide carboxylique comme la plupart des acides organiques, mais un groupe énol qui lui confère sa fonction acide (et constitue également la partie instable de la molécule). L'acide ascorbique est utilisé dans les cosmétiques, mais en raison de son instabilité, il peut donner une couleur jaunâtre au produit.

Face aux limitations pharmacocinétiques et physicochimiques de la vitamine C, de nombreuses stratégies de formulation ont été développées afin d'améliorer sa stabilité, sa biodisponibilité et son efficacité thérapeutique [37].

I.5.1. Formes conventionnelles et limites

Les formulations classiques de la vitamine C comprennent :

- les comprimés et gélules,
- les solutions buvables,
- les formes effervescentes.

Cependant, ces formes présentent souvent une libération rapide, une dégradation prématurée, et parfois une irritation gastro-intestinale, notamment à fortes doses [36].

I.5.2. Approches de protection chimique

Pour améliorer la stabilité, la vitamine C est parfois utilisée sous forme de :

- sels d'ascorbate (sodium, calcium),
- dérivés estérifiés (ascorbyl palmitate).

Bien que ces approches améliorent partiellement la stabilité, elles peuvent modifier la biodisponibilité ou nécessiter une transformation enzymatique préalable [38].

I.5.3. Encapsulation dans des systèmes polymériques

L'encapsulation de la vitamine C dans des biopolymères naturels constitue une approche prometteuse et largement étudiée [38].

. Les matrices polymériques permettent :

- Une protection contre l'oxydation et la lumière,
- Une réduction des interactions avec le milieu externe,
- Une modulation de la cinétique de libération.

Les biopolymères couramment utilisés incluent :

- L'alginate de sodium,
- La gélatine,
- Le chitosane,
- La gomme xanthane,
- Les polysaccharides naturels et protéines biodégradables.

Ces matériaux sont appréciés pour leur biocompatibilité, leur biodégradabilité et leur faible toxicité [39, 40, 41].

I.5.4. Systèmes à libération prolongée

Les systèmes encapsulés permettent une libération prolongée et contrôlée de la vitamine C [42, 43], régie par :

- La diffusion à travers la matrice polymérique,
- L'érosion ou la dégradation du polymère,
- La sensibilité au pH.

Cette libération contrôlée permet de maintenir des concentrations efficaces sur une période prolongée, réduisant ainsi les pertes par dégradation et améliorant l'efficacité thérapeutique globale.

I.5.5. Intérêt des systèmes biopolymériques pour les applications pharmaceutiques

L'utilisation de biopolymères pour l'encapsulation de la vitamine C représente une stratégie innovante pour :

- améliorer la stabilité et la biodisponibilité,
- réduire les effets indésirables,
- développer des formes pharmaceutiques adaptées aux applications orales, dermiques ou pédiatriques.

Ces systèmes constituent une base solide pour le développement de formulations avancées de vitamine C à libération contrôlée, répondant aux exigences modernes de la chimie pharmaceutique [44].

I.6. Méthodes d'encapsulation de la vitamine C

L'encapsulation de la vitamine C constitue une stratégie efficace pour améliorer sa stabilité, sa biodisponibilité et contrôler sa libération. Plusieurs méthodes d'encapsulation ont été développées, chacune présentant des avantages et des limites selon l'application visée, la taille des particules obtenues et la sensibilité de l'actif [45].

I.6.1. Gélification ionique

La gélification ionique est l'une des méthodes les plus utilisées pour l'encapsulation de molécules hydrosolubles comme la vitamine C. Elle repose sur l'interaction électrostatique entre un polymère chargé négativement, tel que l'alginate de sodium, et des ions multivalents, généralement le calcium (Ca^{2+}).

Dans ce procédé, une solution polymérique contenant la vitamine C est mise en contact avec une solution de chlorure de calcium, provoquant la formation immédiate d'un réseau tridimensionnel gélifié. La vitamine C est alors piégée au sein de la matrice polymérique [46].

- **Avantages :**
  - Procédé simple, doux et sans solvants organiques,
  - Conditions opératoires à température ambiante,
  - Bonne protection de la vitamine c contre l'oxydation,
  - Adapté aux applications pharmaceutiques et alimentaires.
- **Limites :**
  - Contrôle limité de la taille des particules sans optimisation,
  - Possible diffusion rapide de l'actif en milieu aqueux.

Cette méthode est particulièrement adaptée aux systèmes à libération prolongée [47].

I.6.2. Méthode d'extrusion

L'extrusion est une variante de la gélification ionique. Elle consiste à extruder une solution contenant le polymère et la vitamine C à travers une aiguille ou une buse, sous forme de gouttelettes, dans une solution de réticulation ionique (souvent $CaCl_2$).

Cette technique permet d'obtenir des **microbilles sphériques** de taille relativement homogène [48].

Avantages :

- Contrôle de la taille des billes par le diamètre de la buse,
- Encapsulation élevée,
- Procédé reproductible.

Limites :

- Production à faible débit,
- Taille généralement micrométrique, peu adaptée aux systèmes nanométriques.

I.6.3. Spray-drying (séchage par atomisation)

Le spray-drying est une méthode largement utilisée à l'échelle industrielle. Elle consiste à pulvériser une solution ou une suspension contenant la vitamine C et le polymère dans un flux d'air chaud, entraînant une évaporation rapide du solvant et la formation de microparticules sèches [49].

Avantages :

- procédé continu et industrialisable,
- obtention de poudres stables,
- bonne reproductibilité.

Limites :

- exposition de la vitamine C à la chaleur,
- risque de dégradation thermique,
- encapsulation parfois incomplète pour les composés très hydrosolubles.

I.6.4. Nano et microcapsules polymériques

Les nano- et microcapsules représentent des systèmes d'encapsulation avancés, offrant une surface spécifique élevée et une meilleure interaction avec les milieux biologiques [50].

Les techniques courantes incluent :

- La nanoprecipitation,
- L'émulsification–gélification,
- La coacervation.

Avantages :

- Amélioration significative de la biodisponibilité,
- Meilleure protection contre les facteurs environnementaux,
- Possibilité de libération ciblée ou prolongée.

Limites :

- Procédés parfois complexes,
- Coûts de production plus élevés.

I.7. L'alginate de sodium comme biopolymère d'encapsulation

L'alginate de sodium est un biopolymère largement utilisé dans les domaines pharmaceutiques, biomédical et alimentaire [51,52] en raison de ses propriétés fonctionnelles remarquables **(Tableau 1.3)**

Les principales propriétés physicochimiques de l'alginate de sodium incluent :

- Hydrophilie élevée, favorisant l'encapsulation des composés hydrosolubles,
- Capacité de gélification ionique en présence de cations divalents,
- Biocompatibilité et biodégradabilité**,**
- Non-toxicité et caractère GRAS (GenerallyRecognized As Safe),
- Sensibilité au pH, permettant une modulation de la libération de l'actif.

La gélification repose sur le modèle dit de la « **boîte à œufs** », où les ions Ca^{2+} se lient préférentiellement aux blocs riches en acide guluronique, formant un réseau tridimensionnel stable [53,54].

.

I.7.1. Propriétés physicochimiques de l'alginate de sodium

L'alginate de sodium est un polysaccharide naturel extrait principalement des algues brunes [55,56]. Il est constitué de deux unités monomériques : l'acide β-D-mannuronique (M) et l'acide α-L-guluronique (G), disposées en blocs homopolymériques (MM, GG) ou hétéropolymériques (MG) [57, 58] (**Figure 1.5**)

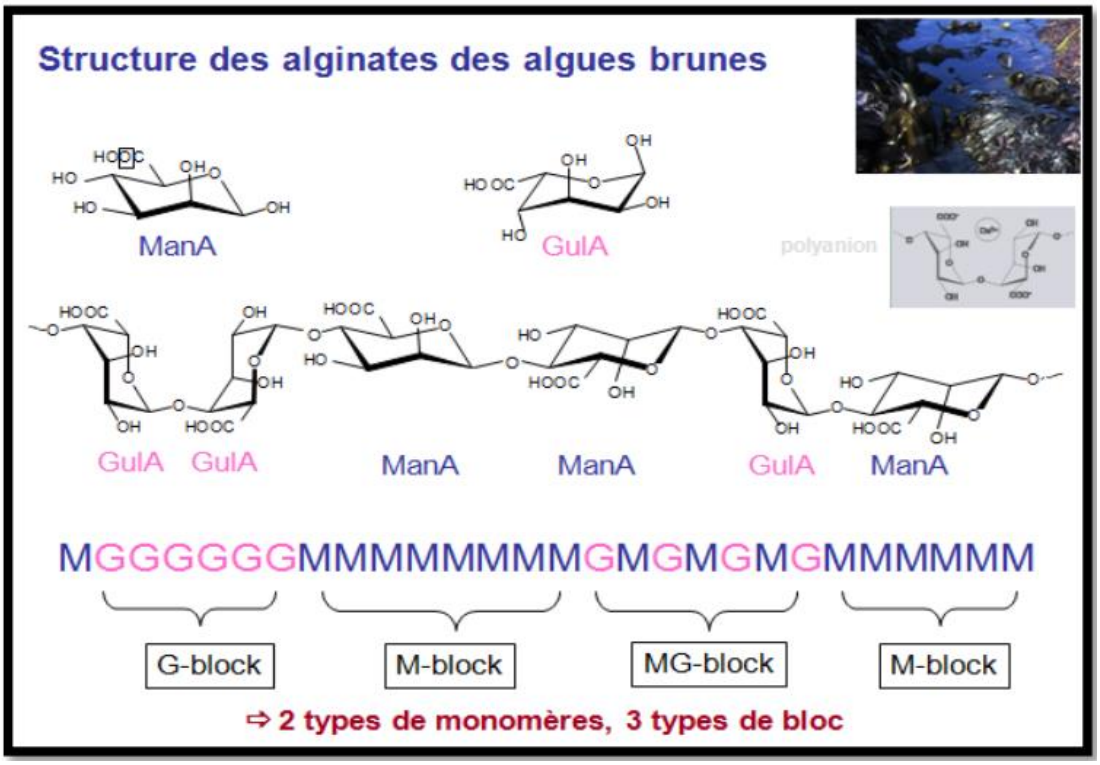


Figure 1.5. Structure des Alginates [59].

- Le poids moléculaire des alginates de sodium commercialisés varie entre 32 000 et 400 000 g/mol [59].
- La viscosité des solutions d'alginate est presque constante dans un pH compris entre 6 et 8, elle augmente en fur et à mesure que le pH diminue jusqu'à obtention d'une viscosité maximale à pH allant de 3 à 3,5, cela est dût à la protonation des groupes carboxylates dans le squelette d'alginate, formant des liaisons hydrogènes [60,61].
- Le rapport acide mannuronique /acide guluronique (M/G) varie de 0,5 à 2,5 [62]. Ceci dépend de la source d'alginate, son emplacement**,** la saison de la collecte et la technique d'extraction [63].
- L'alginate de sodium est hygroscopique; par conséquent, la teneur en humidité s'équilibre rapidement avec l'humidité relative de l'eau [64]. La poudre d'alginate de sodium pu*, stockée dans un endroit sec et frais, loin de toute lumière du soleil, peut avoir une stabilité de plusieurs mois. Tandis qu'à basse températures, elle peut être gardée plusieurs années sans réduction significative de son poids moléculaire [65].

- L'alginate de sodium est soluble dans l'eau froide formant une solution colloïdale visqueuse. Il est insoluble dans l'alcool et dans les solutions hydro-alcooliques dans lesquels la teneur en alcool est supérieure à 30 % (m/m). Il est également insoluble dans les autres types de solvants organiques (chloroforme, éther…) [66]. La solubilité de l'alginate dépend fortement de pH et de la force ionique du solvant de dissolution
- La propriété la plus importante des alginates est leur capacité à former des hydrogels en présence de cations divalents (tels que Ca2+ ou Ba2+) qui interagissent avec les groupes carboxyliques, présents dans le squelette d'alginate pour former des réticulations ioniques [67].
- L'acide alginique, avec une constante de dissociation pK=20.10-5, se situe entre l'acide acétique le plus faible (pK=1,15.10^{-5}) et l'acide monochloroacétique le plus fort (pK= l,75.10^{-3}). Il dérive la lumière à droite avec un angle de rotation a = -139° [68].

Tableau 1.3. Principales applications d'alginates [68].

Domaine d'application	Propriété	Exemple d'application
Médical	Gélifiant ,Modificateur de viscosité	Inserts oculaires, Moulage dentaire, Remplissage vasculaire
Pharmacie	Gélifiant, agent cicatrisant, coagulant	Pansements cutanés, hydrostatiques, gastrique
Pharmaceutique	Stabilisant, viscosifiant, liant, désintégrant	Sirops, comprimés, capsules, crèmes, gels
Ingénierie tissulaire	Vecteurs de délivrance	Scaffold1
Cosmétique	Agents adoucissant, filmogène, hydratant	Préparation des crèmes et des parfums
Textile	Amélioration de la rhéologie	Fabrication des teintures
Agro-alimentaire	Emulsifiant, gélifiant, Epaississant	Yaourt et crèmes glacées

I.7.2. Encapsulation de la vitamine C par gélification ionique de l'alginate

L'alginate de sodium est particulièrement adapté à l'encapsulation de la vitamine C grâce à :

- Sa compatibilité avec les milieux aqueux,
- Sa capacité à protéger les molécules sensibles à l'oxydation,
- Sa facilité de mise en œuvre.

Dans le procédé de gélification ionique, la vitamine C est dissoute dans une solution d'alginate, puis cette solution est mise en contact avec une solution de chlorure de calcium. La formation du gel entraîne l'emprisonnement de la vitamine C au sein de la matrice polymérique [69,70].

Ce système permet :

- Une protection efficace contre la dégradation,
- Une réduction de la libération immédiate,
- Une libération prolongée et contrôlée, principalement gouvernée par la diffusion et l'érosion du réseau alginate-calcium.

I.7.3. Utilisation de l'alginate pour la libération prolongée de la vitamine C

L'utilisation de l'alginate de sodium pour l'encapsulation de la vitamine C présente un intérêt majeur pour :

- Les formes orales à libération prolongée,
- Les formulations pédiatriques,
- Les applications dermiques et nutraceutiques.

Grâce à sa flexibilité et à sa sécurité d'emploi, l'alginate constitue un biopolymère de choix pour le développement de systèmes innovants de délivrance de la vitamine C [69].

I.7.4. Choix de l'alginate de sodium dans présent ce travail

Le choix de l'alginate de sodium comme biopolymère d'encapsulation dans ce travail repose sur des considérations à la fois scientifiques, technologiques et pharmacologiques, en adéquation avec les objectifs de protection et de libération prolongée de la vitamine C.

Tout d'abord, l'alginate de sodium présente une excellente compatibilité avec les composés hydrosolubles, ce qui le rend particulièrement adapté à l'encapsulation de la vitamine C. Sa solubilité dans l'eau permet une incorporation homogène de l'actif sans recours à des solvants organiques ou à des conditions agressives susceptibles de provoquer une dégradation de la vitamine C.

Ensuite, la capacité de l'alginate à former des gels par gélification ionique douce constitue un avantage majeur. Ce procédé se déroule à température ambiante, en milieu aqueux et à pH modéré, ce qui préserve l'intégrité chimique et l'activité biologique de la vitamine C, connue pour sa forte sensibilité à l'oxydation, à la chaleur et à la lumière.

Par ailleurs, l'alginate de sodium est reconnu pour sa biocompatibilité, sa biodégradabilité et son innocuité, ce qui justifie son utilisation dans de nombreuses applications pharmaceutiques, nutraceutiques et alimentaires.

D'un point de vue biopharmaceutique, le réseau tridimensionnel alginate–calcium permet une libération contrôlée et prolongée de la vitamine C. La diffusion progressive de l'actif à travers la matrice gélifiée contribue à maintenir des concentrations efficaces sur une durée prolongée, tout en limitant les pertes par dégradation prématurée et les pics de concentration indésirables.

Enfin, l'alginate offre une grande flexibilité de formulation, permettant d'ajuster les propriétés du système (taille des billes, porosité, cinétique de libération) en fonction de paramètres tels que la concentration en polymère, la teneur en ions calcium ou les conditions de gélification. Cette adaptabilité en fait un support idéal pour le développement de systèmes innovants d'encapsulation de la vitamine C à libération prolongée.

Ainsi, le choix de l'alginate de sodium dans ce travail s'inscrit pleinement dans une démarche rationnelle visant à améliorer la stabilité, la biodisponibilité et l'efficacité thérapeutique de la vitamine C par l'utilisation de biopolymères naturels.

1.8. La micro encapsulation

La micro encapsulation regroupe l'ensemble des techniques permettant l'obtention de particules dont la taille s'échelonne entre un micron et un millimètre contenant une substance active solide, liquide ou gazeuse. Les microparticules ainsi obtenues peuvent être classées en deux catégories selon leur microstructure : les microsphères et les microcapsules [32].

La plupart du temps les microparticules ont une forme sphérique ou ovoïde, mais il en existe des formes non régulières. La membrane protectrice des microparticules peut être formée d'une monocouche ou d'une multicouche quelle que soit leur microstructure [71].

1.8.1. Type des microparticules

Les microparticules synthétiques sont des systèmes colloïdaux développés principalement en vue de leur utilisation thérapeutique. Selon la nature des éléments qui les constitue et leur structure, il est possible de distinguer les liposomes, les microsphères, et les microcapsules [72].

- **Les liposomes :** Ce sont de petites vésicules sphériques dont la paroi est constituée par une ou plusieurs bicouches phospholipidiques délimitant une cavité centrale contenant une phase aqueuse (**Figure 1.6**). Ils sont apparus il ya quarante ans grâce aux travaux de Bengham et al. (1965) et ont été les premières à être utilisés comme vecteur des médicaments [73].

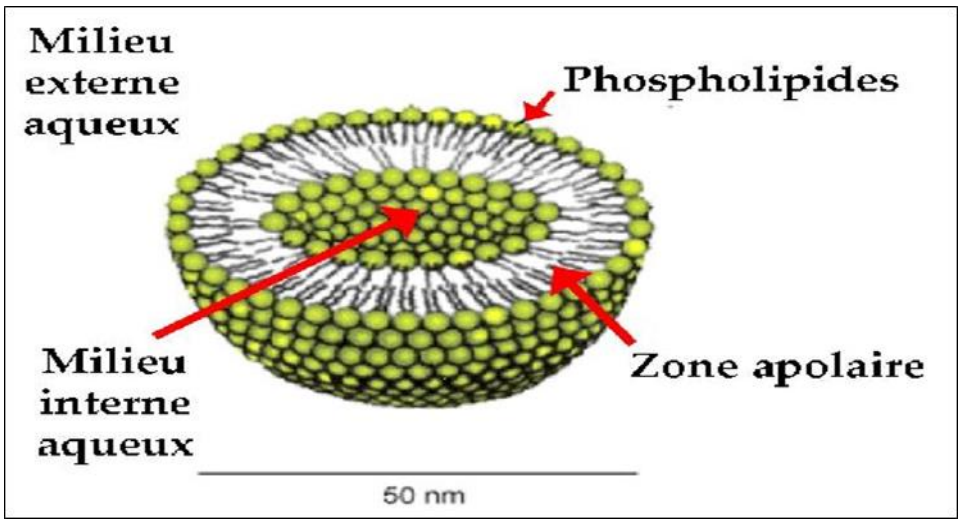


Figure 1.6. Structure d'un liposome [73].

▪ **Les microcapsules :** Ce sont des structures réservoirs et sphériques. Elles sont constituées d'un cœur généralement huileux entouré par une mince paroi de polymère dont l'épaisseur n'excède pas quelques nanomètres. Le principe actif est généralement dissout dans le cœur huileux mais peut aussi être adsorbé à la surface des microcapsules. Dans cette géométrie les taux encapsulation peuvent être particulièrement élevés et atteindre entre 85et 90% de masse de matière active par rapport à la masse de microparticule [74].

▪ **Les microsphères :** Ce sont des structures matricielles, de forme sphérique, constituées de polymères de préférence biodégradables. Les premières microsphères ont été développées par Birrenbach et speider en utilisant le polyacrylamide réticulé, un polymère non biodégradable [75]. Dans le cas de microsphères, le principe actif est soit incorporé à l'intérieur du réseau polymère durant la formation des microsphères.

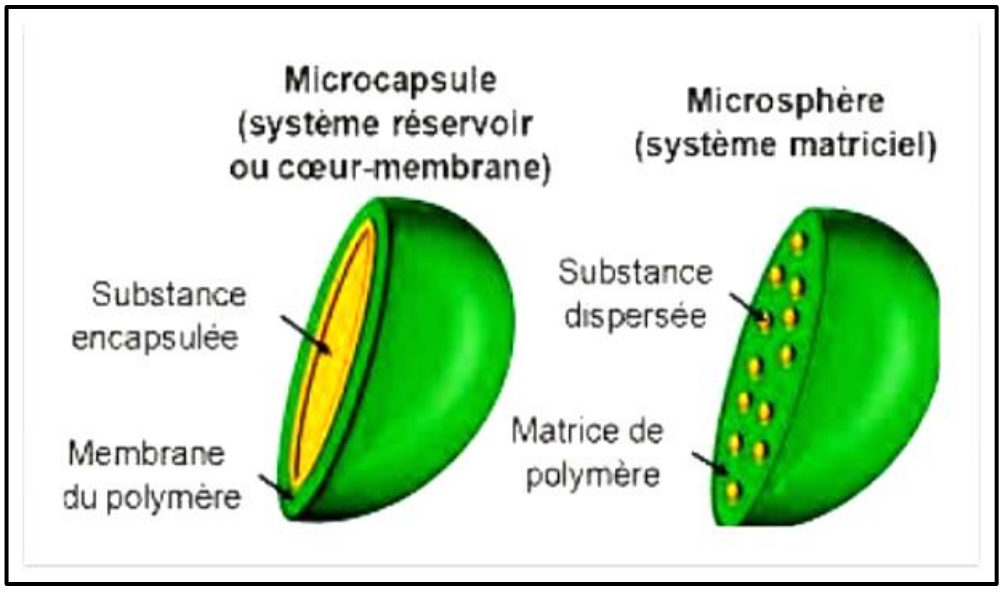


Figure 1.7. Représentation schématique
d'une microcapsule et d'une microsphère [75].

1.8.2. Composition d'une capsule

Une capsule est constituée d'une enveloppe entourant une substance à transporter. Elle est composée de deux parties : les substances à encapsuler, comme des cristaux, des solutions ou des émulsions et une membrane qui protège les substances à encapsuler et contrôle leur libération [76].

1.8.3. Objectifs de l'encapsulation

L'encapsulation peut concerner une grande variété de systèmes allant des molécules très simples à très complexes (peptides, médicament, ADN…). Il peut s'agir également de mélange de molécules ou de structures plus complexes comme des virus. Au sein des microcapsules, le principe actif pourra être sous forme d'une solution, d'une suspension ou d'une émulsion.

L'encapsulation peut avoir différents objectifs dont les plus importants sont les suivants [30,31] :

a) Immobilisation ou isolation : L'immobilisation résulte souvent du désir de vouloir limiter le contact entre certaines parties d'un système. Par exemple deux réactifs peut être séparés par encapsulation et n'entrer en contact que lors de la rupture de la microcapsule. Autre exemple, le piégeage d'un arôme au sein de microcapsule permet soit un effet aromatique prolongé, soit un effet retardé si l'arôme n'est libre que lors de la cuisson par exemple. Par encapsulation, il est aussi possible d'immobiliser des bactéries dans des microsphères afin de favoriser leur culture prolongée au sein de réacteurs en continu en évitant leur perte dans l'effluent.

b) Protection : De nombreux composés sont fragiles et doivent être protégés de leur milieu environnant. Par exemple, les vitamines ou les acides gras polyinsaturés sont sensibles en entrant en réaction avec beaucoup de cellule biologique.

c) Contrôle la libération d'un composant : Le but de l'encapsulation n'est généralement pas isolé indéfiniment un composé. Dans la majorité de cas, un profil ou processus de libération bien spécifique est recherché. Par exemple, un médicament sera délivré suivant une cinétique bien définie.

1.8.4. Etapes de l'encapsulation

L'encapsulation se réalise généralement en trois étapes[31, 40] **:**

a) Incorporation du principe actif dans la matrice ou le cœur de la capsule :

- Dans le cas où le cœur est liquide, l'incorporation consistera en une dissolution ou dispersion du principe actif dans la matrice.
- Si la matrice est solide (poudre), l'incorporation du principe actif peut être réalisé par absorption sur les poudre ou agglomération avec la poudre. Un principe

actif solide (pur ou formulé) peut aussi constituer lui-même le cœur des microcapsules.

b) Une opération mécanique consistant :

- Soit à réaliser une dispersion liquide/air ou liquide / liquide (dans le cas d'une matrice liquide).
- Soit à pulvériser une solution sur les particules solides sous agitation (dans le cas d'une matrice déjà organisée en particules).

c) Stabilisation :

- Soit par un processus chimique (polymérisation).
- Soit par un processus physicochimique (gélification, coacervation).
- Soit par un processus physique (èvaporation, solidification, coalescence).

1.8.5. Précédés de micro encapsulation

Il existe de nombreuses méthodes d'encapsulation [42], pour produire des microparticules qui se différencient les unes des autres par des détails comme la solubilité du polymère formant la paroi, la taille des particules, l'épaisseur et la perméabilité de la paroi et les propriétés physiques.

Les procédés de microencapsulation sont variés, et il est nécessaire de les classer pour faire un choix approprié lorsque l'on doit résoudre un problème de formulation. Trois principaux types de procédés peuvent être distingués :

- Procédés physico-chimiques,
- Procédés mécaniques,
- Procédés chimiques.

1.8.5.1. Précédés physico-chimiques

Ils sont basés sur la maîtrise des variations de solubilité et de conditions de précipitation des agents enrobant. Il s'agit par exemple de la précipitation contrôlée d'un non solvant ou d'un polymère incompatible (coacervation simple), ou encore par variation de température et le pH de la solution (coacervation complexe). Ils peuvent être basés sur des changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobant (gélification thermique d'émulsions).

a) La coacervation : La coacervation consiste à provoquer la précipitation d'un polymère ou de plusieurs polymères par séparation de phase. On parle alors respectivement de coacervation simple ou complexe. La coacervation peut être provoquée par un changement des conditions physicochimiques (pH, salinité …). Elle peut être réalisée par exemple à partir d'une émulsion d'huile dans une solution aqueuse de polymères, suivie d'une précipitation des coacervat (par acidification) à la surface des gouttelettes d'huile [42,43].

a.1) Coacervation simple : Une coacervation simple (**Figure 1.8)** peut se former avec un seul type de biopolymère dans un solvant où le polymère n'est pas soluble ou par addition d'un composé (sels et alcools) ayant une affinité plus élevée pour l'eau [42]. De cette manière, ce composé entre en compétition avec le polymère en question. Lorsque les polymères perdent la couche d'eau associée à leurs chaînes, il y a formation de coacervat entre les différentes chaînes [42,43].

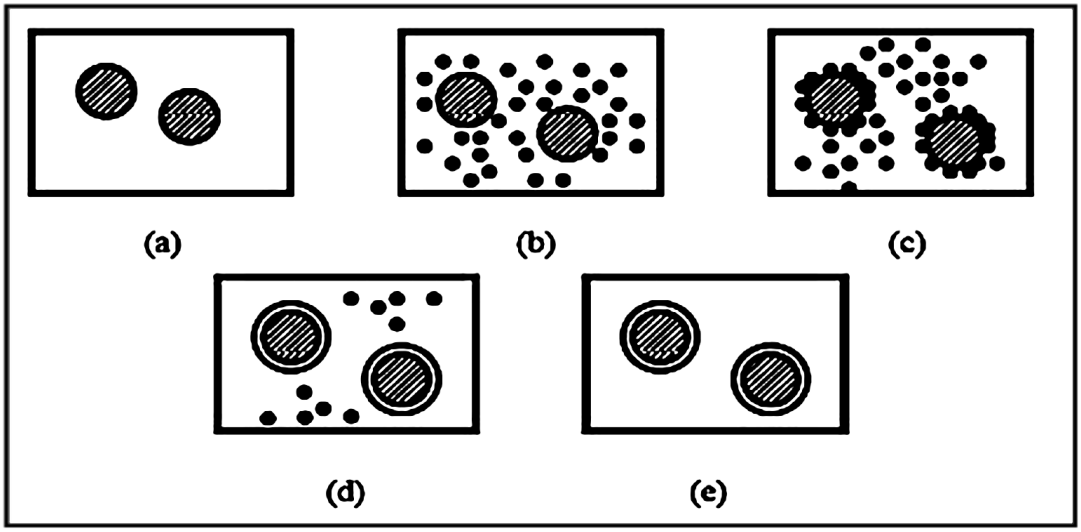


Figure 1.8. Principe de la coacervation simple : dispersion du principe actif dans la solution de polymère (**a),** formation des gouttelettes de coacervat **(b),** Dépôt du coacervat **(c)** Fusion des gouttelettes de coacervat et formation d'un enrobage continu **(d),** Solidification de l'enveloppe **(e)** [42].

a.2) Coacervation Complexe : La formation de complexes est possible dans un système aqueux ayant deux polymères hydrophiles de charges opposées [42]. Le procédé de formation de complexes peut être résumé comme suivant :

- Un premier biopolymère (généralement une protéine) est dissout dans l'eau,

- Le principe actif est mélangé à la solution de biopolymère,
- L'ajout d'un deuxième biopolymère de charge opposé entraîne la neutralisation des charges du premier bio polymère et les complexes se forment.
- La formation de complexes diminue la solubilité des biopolymères dans l'eau, entraînant une séparation de phases avec une phase riche en complexes de biopolymères contenant l'ingrédient actif et une autre phase presque dépourvue de biopolymère mais riche en solvant [42]. Ce sont ces complexes qui forment la paroi des microcapsules après isolement **(Figure 1.9**).

Il faut rappeler que cette formation de coacervat est influencée par plusieurs conditions dont [42] **:**

- Le pH
- La force ionique
- La concentration des polymères totaux
- La composition des polymères
- Le rapport des deux polymères

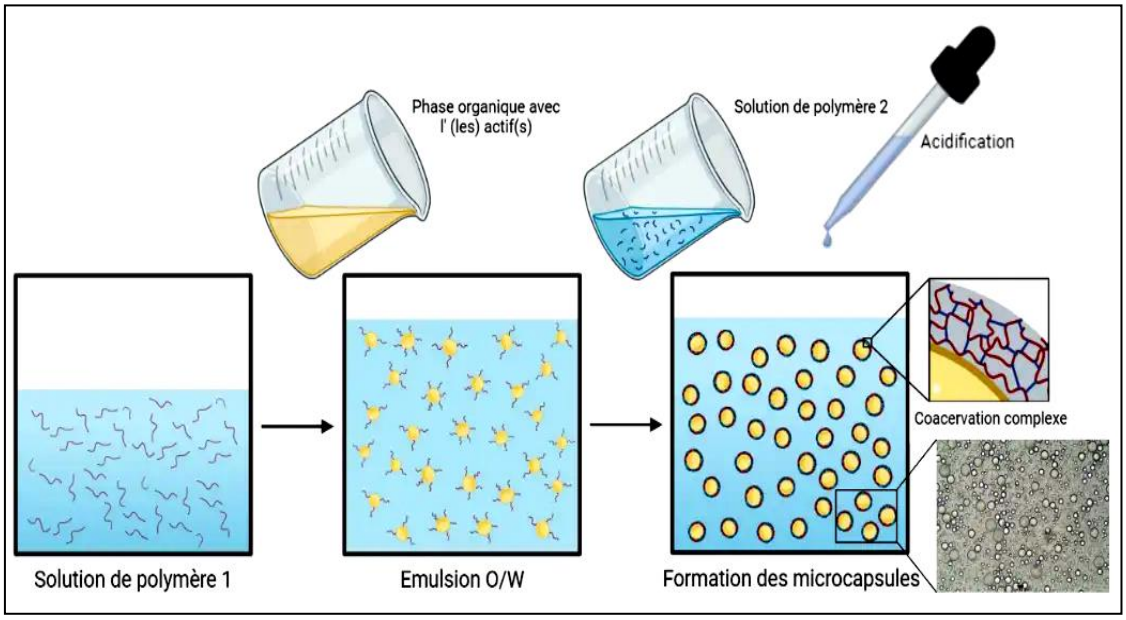


Figure 1.9. Encapsulation par coacervation complexe [42].

b) Emulsification et évaporation-extraction de solvant : Ce procédé est basé sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase, sous forme de microsphères. Le mélange est émulsifié dans un grand volume d'eau contenant des tensioactifs tels que l'alcool polyvinylique, afin d'obtenir une émulsion huile-dans-eau. L'évaporation du

solvant après diffusion progressive dans la phase continue est réalisée sous pression atmosphérique ou pression réduite et sous agitation lente (**Figure 1.10**). Cette technique est à déconseiller si le principe actif est volatil ou possède une grande affinité pour la phase continue aqueuse .L'extraction consiste, elle, à transférer l'émulsion dans un grand volume d'eau contenant ou non des sur factifs et permettant la diffusion rapide du solvant.

Après élimination du solvant, les particules sont lavées, collectées par filtration ou centrifugation puis séchées ou lyophilisées. Le procédé choisi ainsi que sa vitesse de réalisation vont influencer les caractéristiques des microsphères obtenues. Une extraction de solvant, plus rapide que l'évaporation, peut par exemple, entraîner la formation de microsphères poreuses [42].

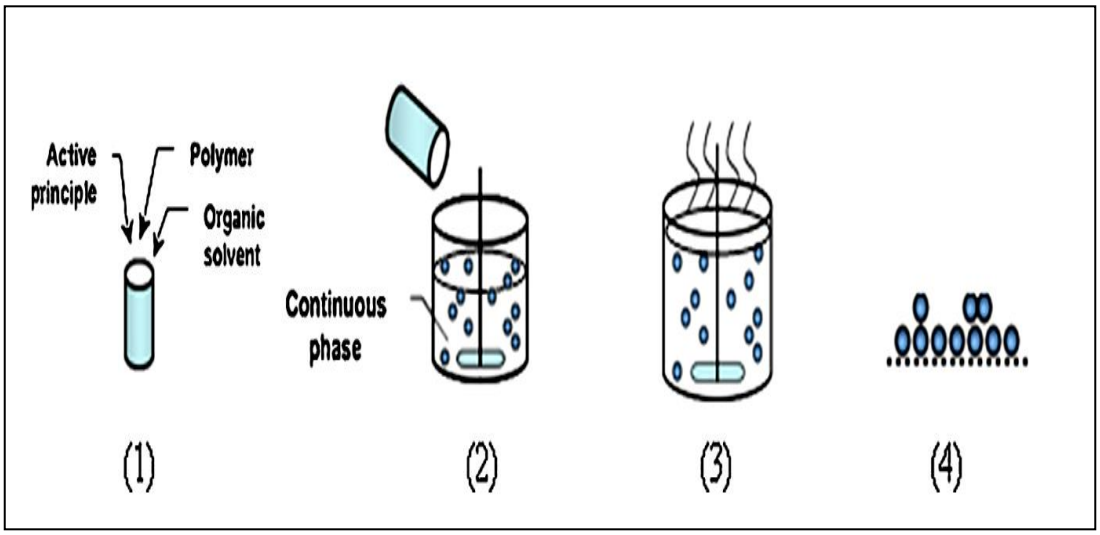


Figure 1.10. Principe d'encapsulation par évaporation de solvant[42].

c) Micro encapsulation par gélification de gouttes: Gélification thermique (Hot Melt) : Le principe de ce procédé consiste à dissoudre ou disperser la matière active à encapsuler dans le matériau d'enrobage en fusion puis à émulsionner l'ensemble dans une phase dispersante à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant (**Figure 1.11**). On utilise en général, pour le matériau d'enrobage, des lipides de bas point de fusion (cire de Carnauba, alcool cétylique…).

Le milieu est ensuite refroidi brutalement afin de solidifier les particules obtenues. Ce procédé permet la microencapsulation de molécules hydrophiles et lipophiles si l'on choisit une phase dispersante pour laquelle ces molécules ont peu d'affinité (huile de silicone et

eau respectivement). Une technique similaire consiste à utiliser des polymères hydrophiles capables de former des gels lors du refroidissement (gélatine, agarose…) [40,42].

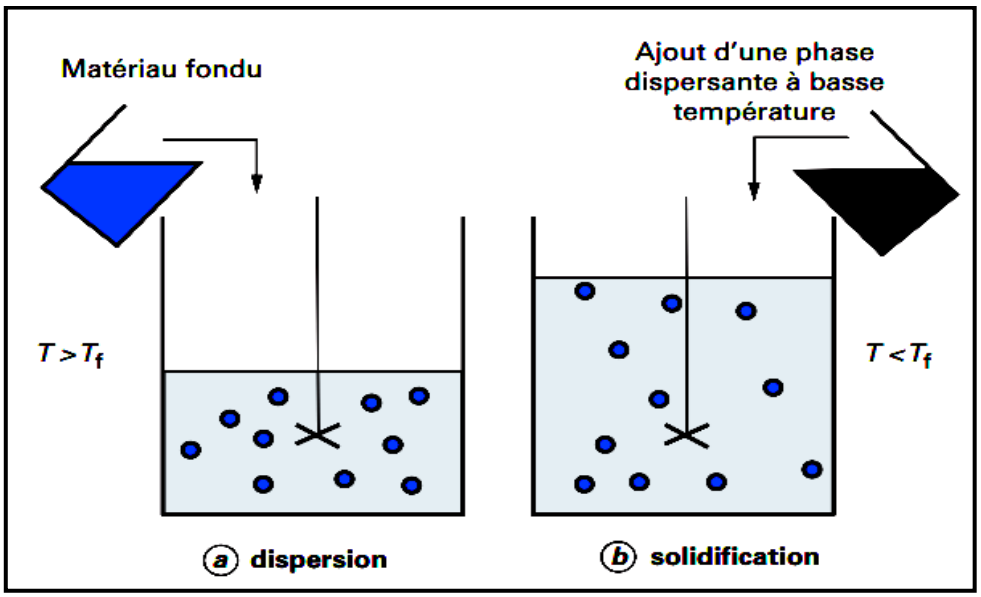


Figure 1.11. Principe d'un procédé d'encapsulation Hot-Melt[42].

1.8.5.2. Procédés chimiques

a) Polycondensation interfaciale : Ce procédé qui appartient aux procédés chimiques d'encapsulation consiste à faire réagir deux monomères, l'un dans la phase dispersée, l'autre dans la phase dispersante, afin d'obtenir une membrane de polymère à la surface des gouttelettes formées. Dans le cas d'un principe actif lipophile, la première étape consiste à préparer une solution contenant cette molécule et un premier monomère dans un solvant organique puis de former une émulsion de cette phase organique dans une phase aqueuse contenant un tensioactif. On ajoute ensuite dans cette phase aqueuse, le second monomère hydrosoluble afin d'induire la réaction des deux monomères à l'interface huile/eau où ils auront diffusé (**Figure 1.12**).

Pour un principe actif hydrophile, on forme une émulsion inverse (eau/huile) dans un solvant de température d'ébullition élevée, à partir d'une solution aqueuse contenant le principe actif et le monomère hydrosoluble. Puis le monomère organo-soluble est ajouté dans la phase dispersante. La taille des microsphères obtenues est comprise entre 0,5 et 100 µm et dépend principalement de l'agitation du système, de la vitesse d'ajout des deux monomères et de la cinétique de diffusion.La formation et les caractéristiques de la membrane vont dépendre, elles aussi, de la nature et de la concentration en monomères, tensioactifs et solvants [42].

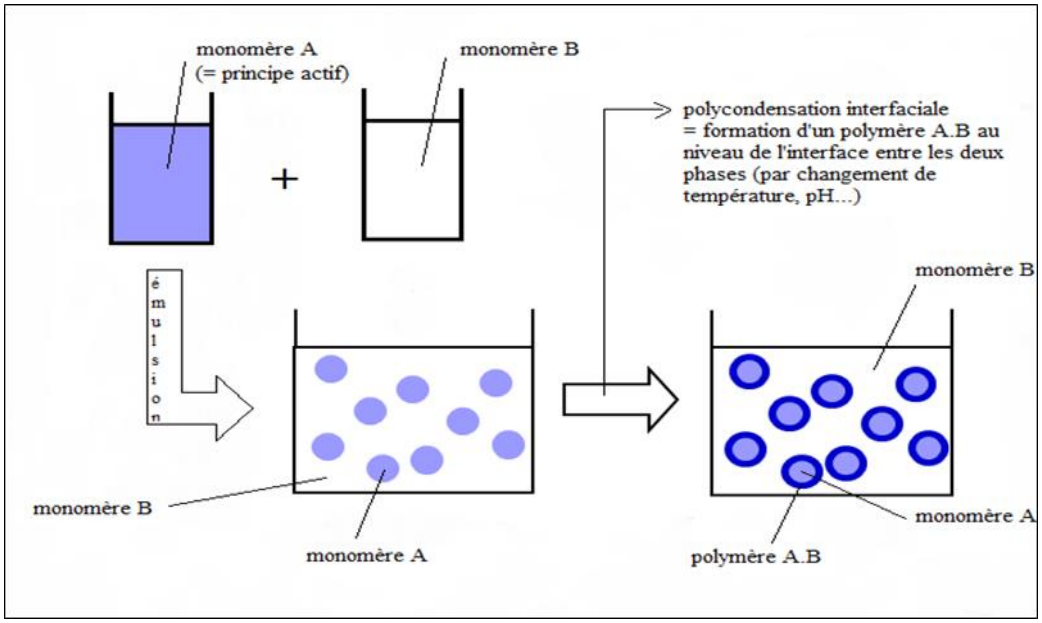


Figure 1.12. Procédé d'encapsulation par polycondensation interfaciale [42].

b) Polymérisation en milieu dispersé : Ces procédés permettent la formation de microparticules à partir de monomères synthétiques du type acrylique, vinylique ou cyanoacrylate d'alkyle. Ils mettent en jeu une phase de formation des particules appelée nucléation suivie d'une phase de croissance donnant lieu à des particules de type matriciel [42].Deux mécanismes principaux sont à distinguer :

b.1) La polymérisation en émulsion : Dans ce cas, une émulsion des monomères en phase aqueuse est réalisée avant la polymérisation, le principe actif étant préalablement solubilisé ou dispersé dans les monomères. La réaction de polymérisation radicalaire ou anionique selon les monomères utilisés s'initie respectivement par l'ajout d'un amorceur ou par simple contact avec la phase aqueuse.

b.2) La polymérisation en dispersion : Dans ce cas, la nucléation se fait en phase homogène, les monomères et la matière active étant initialement solubilisés dans la phase continue. La croissance des oligomères suite à la polymérisation amorcée par un initiateur, donne lieu à leur précipitation sous forme d'agrégats stabilisés par les tensioactifs présents dans la phase continue. La technique de polymérisation en dispersion conduit à des particules de diamètre nettement supérieur à celui des particules obtenues par polymérisation en émulsion[44 ,45].

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 [44,45] :

- Emulsion
- Micro suspension
- Dispersion
- Microémulsion

1.8.5.3. Procédés mécaniques

a) Gélification des gouttes : Cette technique est basée sur la formulation d'une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymères capables de former des gels sous une action extérieure, physique ou chimique [45]. Dans le cas de l'alginate de sodium, les gouttelettes formées par extrusion à travers une buse vibrante, sont réceptionnées dans une phase aqueuse gélifiante contenant du chlorure de calcium [42,46]. Elles se transforment instantanément en des microparticules de gel sphérique (**Figure 1.13**).

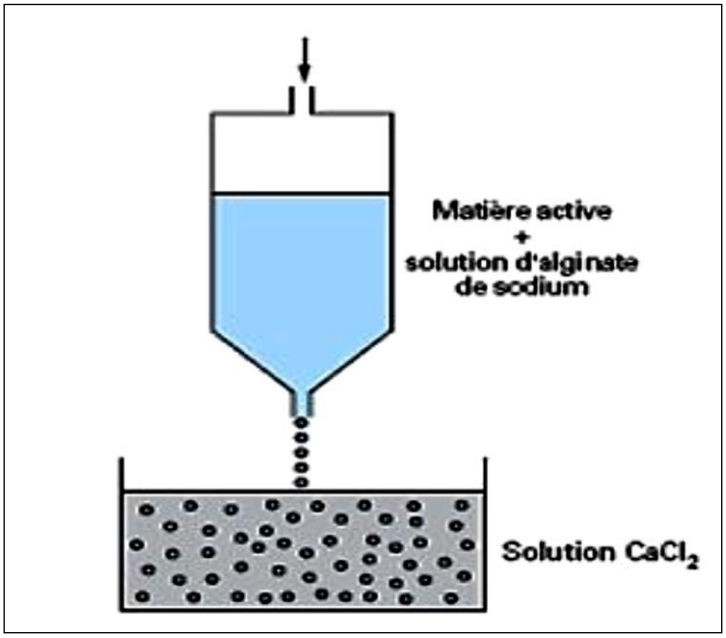


Figure 1.13. Gélification des gouttes : schéma de principe [42].

b) Congélation des gouttes : Cette technique consiste à préparer un fond d'un matériau enrobant, généralement un corps dont le point de fusion est compris entre 50 et 120°C, dans lequel la matière active est solubilisée ou dispersée soit sous forme particulière solide, soit sous forme de microgouttelettes d'émulsion inverse E/H [45,46]. Cette préparation fondue et maintenue à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant et extrudée sous pression à travers une buse vibrante **(Figure 1.14)**. Le jet fondu est sectionné sous forme de gouttelettes sphériques de taille uniforme [42]. Ces gouttelettes se refroidissent dans le milieu de chute (air froid, azote…).

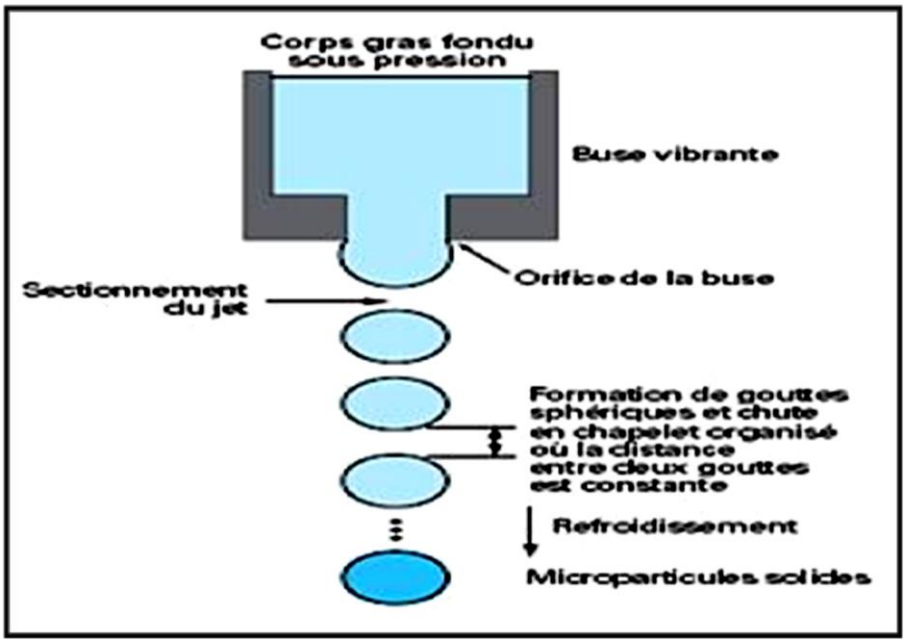


Figure 1.14. Congélation de gouttes : schéma de principe [42].

1.8.6. Mécanisme de libération des principes actifs à partir des capsules

L'encapsulation est un moyen de programmer une activité chimique ou biologique, de la retarder ou de l'activer sur commande. En effet, la molécule active n'interagit avec le milieu extérieur que lorsque la barrière polymère est levée. Pour lever la protection de la membrane, ou matrice polymère, il existe différents mécanismes selon que l'on souhaite une libération instantanée ou progressive [54].

Dans le premier cas, la totalité de l'actif contenu dans la particule est libérée rapidement, c'est une libération déclenchée.

- **La libération déclenchée :** les capsules présentent une membrane étanche, qui se brise ou fond de façon brutale sous l'effet d'un stimuli extérieur (pression, fissure dans la matrice, pH, température etc.).

Dans le cas où la libération de l'actif doit être progressive, deux mécanismes principaux existent et décrivent l'action prolongée.

- **La libération prolongée :** Ce type de libération a lieu aussi bien avec des sphères que des capsules ***(Figure 1.15)***. Deux mécanismes existent et cohabitent le plus souvent : la diffusion passive et la dissolution/dégradation de la paroi. Les cinétiques de libération obtenues sont différentes [54].

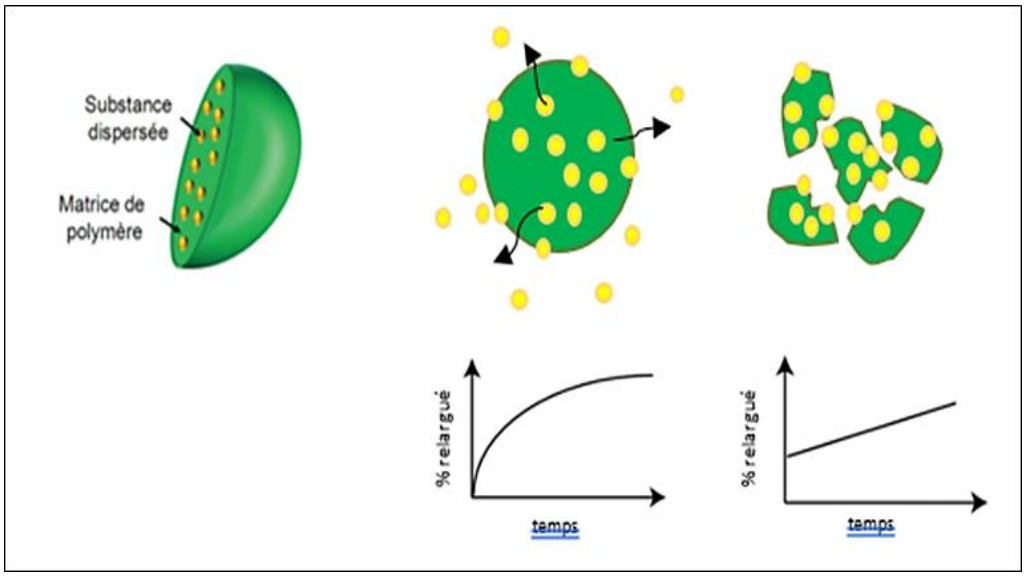


Figure 1.15. Principe de libération prolongée
par diffusion (gauche) et par érosion (droite)[54].

Ce mode d'action est notamment très recherché dans la pharmaceutique où l'activité contrôlée et prolongée du médicament est souhaitée. Des microsphères biodégradables permettent par exemple la délivrance retardée de médicaments, comme celle d'antidouleurs, qui ne seront activés que lors de l'hydrolyse acide dans l'estomac de la matrice polymère [54]. De même, l'élaboration de nanoparticules biocompatibles, en polylactide biodégradables par exemple, permet la libération lente et ciblée de principe actif antitumoral.

Il existe trois mécanismes primaires par lesquels les principes actifs peuvent être libérés d'un système de libération prolongée [54]:

1. Libération par diffusion,

2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion,

3. Libération par dégradation.

1.8.6.1. Libération par diffusion

La diffusion se produit quand un principe actif traverse le polymère qui forme le système de libération **(Figure 1.16)**. La diffusion peut produire à l'échelle macroscopique à travers les pores dans la matrice ou à l'échelle moléculaire par le passage entre les chaines de polymères [74]**.**

Les exemples de systèmes de libération par diffusion sont montrés dans la Figure .Un polymère et un principe actif ont été mélangés pour former un système homogène, également désigné sous le nom d'un système matriciel [74]**.** La diffusion se produit quand le principe actif passe de la matrice de polymère dans l'environnement externe [74,76]**.** Comme le dégagement est continu, le taux diminue avec ce type de système puisque le principe actif a progressivement une distance plus longue à traverser et c'est pourquoi il a besoin d'un temps de diffusion plus long pour être libéré [75]**.**

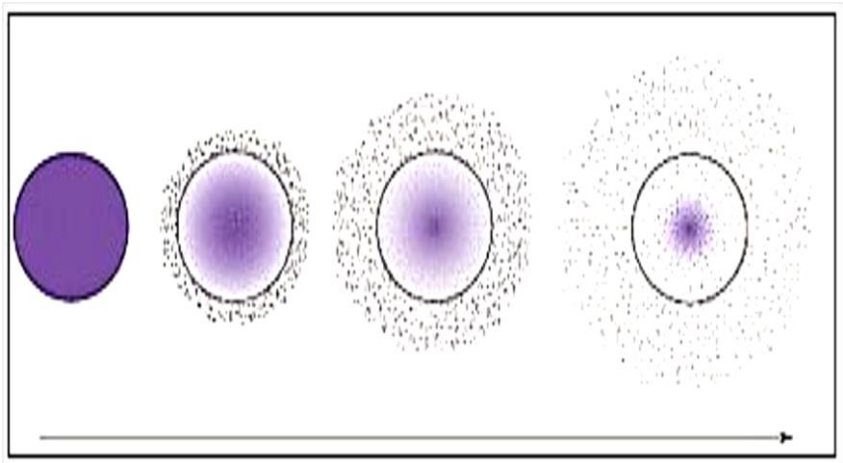


Figure 1.16. Libération par diffusion [75].

I.8.6.2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion

Il est également possible qu'un système de libération soit conçu de sorte qu'il soit incapable de libérer son agent jusqu'à ce qu'il soit placé dans un environnement biologique approprié [75]**.** Les systèmes de libération contrôlée par gonflement sont initialement secs et quand ils sont placés dans le corps, ils absorberont l'eau ou autre fluides du corps et gonfleront. Ces systèmes permettent la diffusion du principe actif à travers le réseau gonflé dans l'environnement externe [75]**.**

Les exemples de ces systèmes sont (***Figure 1.17***) :

a. Les systèmes réservoir

b. Les systèmes matriciels

La plupart des matières utilisées pour ces systèmes sont les hydrogels qui absorbent de l'eau ou autres fluides sans être dissous [75].

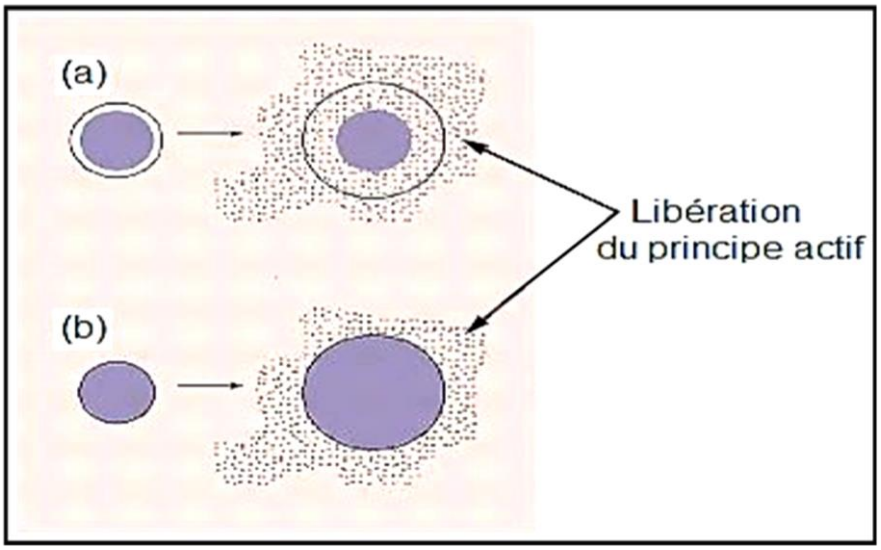


Figure 1.17. Libération du principe actif à partir des systèmes à gonflement contrôlé: système réservoir, **(b)** système matriciel [75].

I.8.6.3. Libération par dégradation

La plupart des polymères biodégradables se dégradent par hydrolyse en composés de taille de plus en plus faible biologiquement éliminable. Dans certains cas les produits de la dégradation entrent dans un processus métabolique [75]. La dégradation peut s'effectuer selon deux phénomènes ***(Figure 1.18)*** :

a. Une hydrolyse en masse : la dégradation est uniforme dans toute la matrice polymère).

b. Une dégradation en surface : Pour quelques polymères dégradables, notamment les polyanhydrides et les polyorthoesters, la dégradation se produit uniquement sur la surface des polymères, ayant pour résultat un taux de rejet proportionnel à la surface du système de la libération de principe actif.

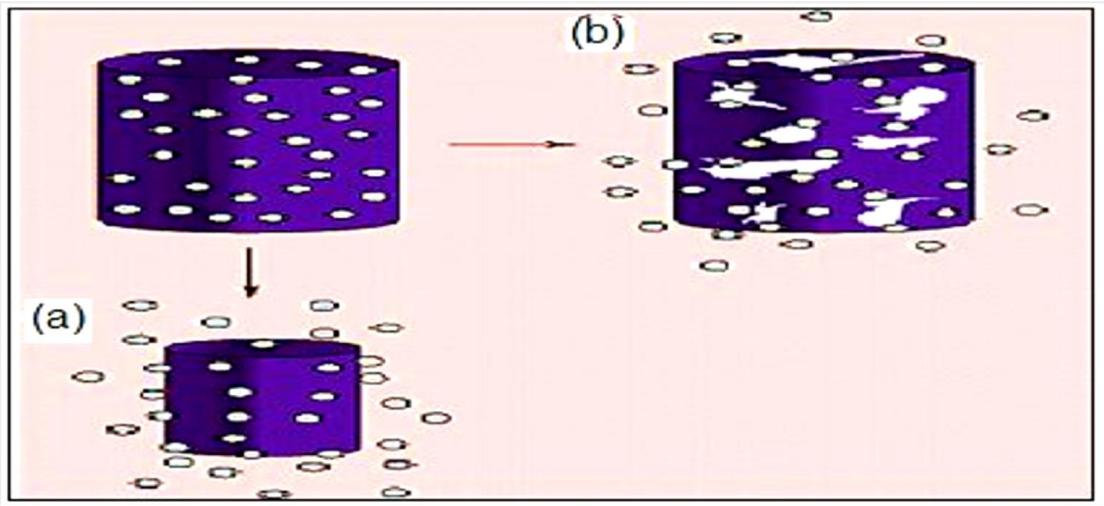


Figure 1.18. Libération par dégradation : **(a)** hydrolyse en masse, **(b)** dégradation en surface [75].

I.8.7. Paramètres influençant la libération d'un principe actif encapsulé

Il est à noter que les principaux paramètres influençant la libération d'un PA encapsulé Sont [76] :

- La solubilité du PA dans le milieu de libération et dans la paroi polymérique,
- Le taux d'encapsulation,
- Les interactions chimiques entre le PA et polymère,
- Les caractéristiques morphologiques du système de libération (porosité, tortuosité, surface, forme, etc.),
- Les caractéristiques du polymère tel que poids moléculaire.

I.8.8. Domaines d'application des microparticules

Les microparticules présentent un très large champ d'applications puisqu'il va du domaine pharmaceutique au domaine alimentaire en passant par la cosmétique, la parfumerie, les produits phytosanitaires, la chimie, le domaine biomédical, etc. [40].

Une des premières applications de la microencapsulation a été le papier autocopiant sans carbone à base de microcapsules d'encre sensibles à la pression [40].

Depuis les années80, la communication olfactive s'est développée sous forme d'encarts parfumés dans les magazines pour faire connaître un parfum ou un adoucissant. Des encres contenant des microcapsules enferment le parfum et le libèrent au moment opportun [45].
Récemment, le domaine du textile utilise les microparticules pour parfumer les tissus ou déposer sur la peau des actifs cosmétiques [45].

1.9. Conclusion

La vitamine C (acide ascorbique) est une molécule très instable : sensible à l'oxygène, la lumière, l'humidité, la chaleur et aux variations de pH. Cette instabilité réduit fortement sa biodisponibilité et sa durée de conservation dans les formulations pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques. Elle peut s'oxyder en déhydroascorbique, entraînant une perte d'activité biologique, d'où la nécessité de développer des systèmes d'encapsulation protecteurs.
Les stratégies modernes d'encapsulation de la vitamine C reposent principalement sur les liposomes, les microcapsules polymériques et les nanoparticules biodégradables. Ces systèmes permettent d'améliorer significativement la stabilité, la biodisponibilité et le contrôle de libération de la vitamine C, ouvrant la voie à des applications pharmaceutiques, nutraceutiques et dermiques avancées.

CHAPITRE II.
MATERIEL ET METHODES

II.1. Introduction

Malgré ses nombreuses propriétés biologiques, notamment antioxydantes et immunomodulatrices, et son large intérêt dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et parapharmaceutique, la vitamine C demeure un principe actif difficile à formuler. Sa forte sensibilité aux facteurs environnementaux tels que l'oxygène, la lumière, la chaleur et l'humidité entraîne une dégradation rapide, compromettant ainsi sa stabilité et son efficacité thérapeutique.

Face à ces contraintes, le développement de systèmes d'encapsulation adaptés apparaît comme une stratégie pertinente pour améliorer la stabilité de l'acide ascorbique, limiter sa dégradation et contrôler sa libération.

Dans ce contexte, le présent travail vise à formuler et caractériser des capsules à base d'alginate de sodium destinées à l'encapsulation de la vitamine C par la technique de gélification ionotropique. L'alginate, biopolymère naturel reconnu pour sa biocompatibilité et sa capacité à former des hydrogels en présence d'ions divalents, constitue un matériau particulièrement adapté à la formation de microbilles (capsules) encapsulant le principe actif. Par ailleurs, afin d'améliorer davantage la protection du composé encapsulé, une formulation combinant l'alginate et la cire d'abeille a également été envisagée, dans le but de renforcer la barrière contre les agents environnementaux et de moduler le profil de libération. Ainsi, la partie expérimentale s'articule autour de deux axes principaux :

1. **Préformulation** : Cette étape consiste en la caractérisation physicochimique des matières premières utilisées (alginate de sodium, vitamine C, cire d'abeille), ainsi qu'en l'étude de leur compatibilité, préalable indispensable à toute démarche de formulation.
2. **Formulation et caractérisation des capsules** : Cette partie est consacrée à la mise au point du procédé d'encapsulation par gélification ionotropique, ainsi qu'à la caractérisation physicochimique et biopharmaceutique des microcapsules obtenues (rendement d'encapsulation, morphologie, stabilité, étude de libération, etc.).
3. **Formulation d'un gel contenant les capsules** : Cette dernière partie porte à obtenir une forme pharmaceutique à usage topique innovante et performante stable, permettant un bon étalement, avec une libération prolongée de la vitamine C, adaptée à des applications dermatologiques.

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1.Matériel

Toutes les manipulations ont été réalisées en utilisant des équipements résumés dans le Tableau **2.1.**

Tableau 2.1. Liste du matériel utilisé

Matériel	Marque
Balance électrique	KERN & SOHN GmbH
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	Infitek
pH-mètre	Sartorius
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier(FTIR)	FTIR-8400 SHIMADZU
Spectrophotomètre UV visible	UVmini-1240 SHIMADZU
Viscosimètre rotatif	HAAKE, ViscoTester VT5
Dissolutest	Sotax AT 7 ID-Nr:16887
Micromètre digital	MDC-25S Mitutoyo
Agitateur mécanique (à hélice)	Infitek
Agitateur ultraturax	IKA T18 basic

II.2.2. Réactifs utilisés

Tous les réactifs utilisés lors de cette étude sont identifiés par la formule brute, l'origine, et la pureté et résumés dans le tableau **2.2.**

Tableau 2.2. Liste des réactifs utilisés

Produit	Formule	Fournisseur	Pureté (%)	Masse Molaire (g/mol)
Acide chlorhydrique	HCl	Riedel-de Haën	36.5 – 38	36.46
Disodiumhydrogeno Phosphateanhydre	$Na_2HPO_4.2H_2O$	Riedel-de Haën	98.5–101	177.99
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	Riedel-de Haën	99	110,984
Chlorure de Sodium	NaCl	Scharlau	99.5	58.44
Chlorure de potassium	KCl	Riedel-de Haën	99.5	74.55
Acide phosphorique	H_3PO_4	PROLabo	85	98
Hydroxyde de sodium	NaOH	Chem-Lab NV	98	40
Sodiumdihydrogeno Phosphateanhydre	$NaH_2PO_4.2H_2O$	Riedel-de Haën	98.5	156.01

II.3. Préformulation

L'étape de préformulation constitue une phase essentielle dans le développement d'un système d'encapsulation. Elle doit être consacrée à une connaissance approfondie des matières premières utilisées, tant sur le plan physicochimique que fonctionnel.

Avant d'entreprendre la mise au point des capsules, il est indispensable de rassembler un ensemble de données préalables qui serviront de base au développement de la formulation et orienteront les choix technologiques ultérieurs.

L'étude des interactions potentielles entre la vitamine C (principe actif) et les excipients employés, notamment l'alginate de sodium, représente un paramètre déterminant. Elle permet d'évaluer la compatibilité et l'inertie physicochimique de ces derniers vis-à-vis de la substance active, afin de prévenir toute interaction susceptible d'altérer sa stabilité, son efficacité ou ses propriétés biopharmaceutiques.

Dans ce travail, l'étude des interactions a été réalisée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Cette technique permet d'identifier les principaux groupements fonctionnels des matières premières et de détecter d'éventuelles interactions physicochimiques à travers l'apparition, le déplacement ou la modification de bandes caractéristiques dans les spectres des mélanges par comparaison avec ceux des composants purs. L'analyse des spectres FTIR constitue ainsi un outil pertinent pour évaluer la compatibilité entre la vitamine C et les excipients retenus dans la formulation.

II.3.1. L'acide L-ascorbique

L'acide L-ascorbique (vitamine C) est une molécule hydrosoluble largement utilisée dans les formulations pharmaceutiques et nutraceutiques en raison de ses propriétés antioxydantes et biologiques. Sur le plan chimique, il s'agit d'un dérivé lactonique présentant une structure polyhydroxylée, responsable de sa forte polarité et de sa grande solubilité dans l'eau [12].

La molécule possède un système énediol conjugué, à l'origine de son activité réductrice mais également de sa sensibilité à l'oxydation. En solution aqueuse, la vitamine C est particulièrement instable en présence d'oxygène, de lumière, de températures élevées et à pH alcalin. Sa stabilité est maximale en milieu acide.

Du point de vue acido-basique, l'acide L-ascorbique est un acide faible diprotique présentant deux constantes de dissociation ($pKa_1 \approx 4{,}1$ et $pKa_2 \approx 11{,}6$). Cette propriété

influence son comportement en solution et son interaction éventuelle avec des polymères ioniques tels que l'alginate de sodium [12].

À l'état solide, la vitamine C se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche ou légèrement jaunâtre, inodore, au goût acide. Elle est hygroscopique et sensible à l'humidité, ce qui peut accélérer sa dégradation.

La connaissance de ces paramètres physicochimiques est essentielle dans le cadre du développement d'un système d'encapsulation, notamment pour anticiper les phénomènes de dégradation, d'interaction ou de diffusion au sein des matrices polymériques.

Tableau 2.3. Caractéristiques physicochimiques de l'acide L-ascorbique [12]

Paramètre	**Valeur / Description**
Dénomination	Acide L-ascorbique
Synonyme	Vitamine C
Formule brute	$C_6H_8O_6$
Masse molaire	176,12 g·mol^{-1}
Structure chimique	Lactone avec système énediol
Aspect	Poudre cristalline blanche à légèrement jaunâtre
Odeur	Inodore
Goût	Acide
Solubilité	Très soluble dans l'eau ; peu soluble dans l'éthanol ; insoluble dans les solvants apolaires
pKa_1	≈ 4,1
pKa_2	≈ 11,6
Point de fusion	190–192 °C (avec décomposition)
Stabilité	Sensible à l'oxygène, à la lumière, à la chaleur et à l'humidité
Sensibilité au pH	Stable en milieu acide, instable en milieu alcalin
Propriété chimique majeure	Agent réducteur puissant (antioxydant)

II.3.1.1.Dosage de la vitamine C par spectrophotométrie UV-Visible

- **Principe :** Le dosage de la vitamine C a été réalisé par spectrophotométrie UV-Visible, méthode analytique basée sur l'absorption d'un rayonnement électromagnétique par la molécule à une longueur d'onde spécifique.

L'acide L-ascorbique présente une absorption caractéristique dans le domaine UV, généralement autour de 243–265 nm selon le milieu et le pH. La quantification repose sur la loi de Beer-Lambert :

$$A=\varepsilon \cdot l \cdot C \qquad \textbf{(2.1)}$$

où :**A** est l'absorbance, **ε** le coefficient d'extinction molaire, **l** l'épaisseur de la cuve (1 cm),**C** la concentration.

La relation linéaire entre l'absorbance et la concentration permet l'établissement d'une courbe d'étalonnage utilisée pour déterminer les concentrations inconnues lors des études d'encapsulation et de libération.

- **Préparation des solutions :**

a) Solution mère : Une solution mère de vitamine C a été préparée en dissolvant une quantité précisément pesée d'acide L-ascorbique dans de l'eau distillée, puis complétée à 100 mL dans une fiole jaugée afin d'obtenir une concentration de 10 % p/p).

La solution a été protégée de la lumière et utilisée immédiatement afin d'éviter toute dégradation.

b) Solutions filles : À partir de la solution mère, une série de dilutions appropriées a été réalisée afin d'obtenir des concentrations comprises entre 1% et 7 %.

Les dilutions ont été préparées séparément dans :

- Eau distillée
- Solution tampon pH 1,2
- Solution tampon pH 7,4

c) Préparation des solutions tampons

- **Préparation de la solution tampon pH=1,2 à base de KCl 0.2M et HCl 0.2M :**25ml de la solution de chlorure de potassium à 0.2 M sont mélangées avec 42.5ml de la solution d'acide chlorhydrique à 0.2M, puis on complète à l'eau distillée jusqu'à 200 mL. On ajuste le pH avec une solution d'acide chlorhydrique à 0.2M jusqu'à la valeur de 1.2 [77].
- **Préparation de solution tampon pH 7.4 :** Dissoudre2.3156 g de sodium dihydrogeno phosphate anhydre et 4.3582 g de disodiumhydrogenophosphate anhydre dans 800 ml d'eau distillée. Compléter le volume à 1000ml à l'aide d'eau distillée. Le pH de la solution finale est ajusté avec une solution d'acide phosphorique ou une solution de NaOH à 0.1M [77].
- **Détermination de la longueur d'onde maximale (λmax) :** Un balayage spectral a été réalisé entre 200 et 400 nm afin de déterminer la longueur d'onde maximale

d'absorption (λmax) de la vitamine C dans chaque milieu. La longueur d'onde retenue pour le dosage correspond au maximum d'absorption observée selon le milieu.

- **Établissement des courbes d'étalonnage :** Pour chaque milieu (eau distillée, pH 1,2 et pH 7,4) :

1. Le blanc a été réalisé avec le solvant correspondant.
2. L'absorbance des différentes solutions étalons a été mesurée à la λmax déterminée.
3. Les mesures ont été effectuées en cuves quartz de 1 cm.
4. Chaque mesure a été réalisée au moins en triplicat afin d'assurer la reproductibilité.

Une courbe d'étalonnage a été tracée en représentant l'absorbance en fonction de la concentration.

L'équation de la droite de régression ($y = ax + b$) ainsi que le coefficient de corrélation (R^2) ont été déterminés afin d'évaluer la linéarité du système.

- **Exploitation des résultats :** Les courbes d'étalonnage obtenues dans les trois milieux ont permis :

- de vérifier la linéarité du dosage,
- d'évaluer l'influence du pH sur l'absorption de la vitamine C,
- d'utiliser l'équation de régression pour déterminer les concentrations lors des études de libération des capsules.

Un coefficient de corrélation R^2 supérieur à 0,99 a été considéré comme indicateur d'une bonne linéarité.

II.3.2. L'alginate de sodium

L'alginate de sodium est un polysaccharide naturel extrait principalement des algues brunes (Phaeophyceae). Il est constitué d'unités répétitives d'acide β-D-mannuronique (M) et d'acide α-L-guluronique (G) reliées par des liaisons glycosidiques β-(1→4).

La proportion relative des blocs M et G influence fortement les propriétés rhéologiques et gélifiantes de l'alginate. En présence d'ions divalents, notamment Ca^{2+}, l'alginate forme des hydrogels tridimensionnels selon le modèle dit de la « boîte à œufs » (egg-box model), reposant sur l'association des blocs G avec les ions calcium.

Sur le plan physicochimique, l'alginate de sodium est une poudre blanche à jaunâtre, hydrophile, soluble dans l'eau et capable de former des solutions visqueuses. Il est insoluble dans les solvants organiques usuels. Sa viscosité dépend de sa masse molaire, de sa concentration et du pH du milieu [78].

Étant un polymère anionique porteur de groupements carboxylates ($–COO^-$), l'alginate peut interagir avec des espèces chargées ou des molécules polaires, ce qui rend son étude de compatibilité essentielle lors de la formulation avec des principes actifs hydrosolubles comme la vitamine C.

Tableau 2.4. Caractéristiques physicochimiques de l'alginate de sodium [78]

Paramètre	Valeur / Description
Dénomination	Alginate de sodium
Origine	Extrait d'algues brunes
Nature chimique	Polysaccharide anionique
Unités structurales	Acide mannuronique (M) et acide guluronique (G)
Masse molaire	Variable (50 000 – 500 000 $g \cdot mol^{-1}$ selon qualité)
Aspect	Poudre blanche à jaunâtre
Solubilité	Soluble dans l'eau ; insoluble dans solvants organiques
pKa (groupes –COOH)	≈ 3,4 – 3,7
Propriété majeure	Formation d'hydrogels en présence d'ions Ca^{2+}
Sensibilité au pH	Précipite en milieu très acide (formation d'acide alginique)
Rôle en formulation	Agent gélifiant et matrice d'encapsulation

II.3.3. La cire d'abeille

La cire d'abeille est une substance naturelle sécrétée par les abeilles (*Apis mellifera*). Elle est constituée principalement d'esters d'acides gras et d'alcools à longue chaîne, ainsi que d'hydrocarbures, d'acides gras libres et d'alcools libres [78].

Sur le plan physicochimique, la cire d'abeille se présente sous forme solide, de couleur jaune pâle à brun clair, hydrophobe et insoluble dans l'eau. Elle est légèrement soluble dans l'éthanol chaud et soluble dans les solvants organiques apolaires (chloroforme, éther, hexane).

Sa nature lipophile lui confère un intérêt particulier dans les systèmes d'encapsulation, notamment pour améliorer la protection contre l'humidité et moduler la libération des substances hydrosolubles. Dans votre cas, l'association alginate/cire d'abeille permet d'introduire une composante hydrophobe susceptible de limiter la diffusion rapide de la vitamine C et d'améliorer sa stabilité vis-à-vis de l'oxydation [78].

Tableau 2.5. Caractéristiques physicochimiques de la cire d'abeille [78].

Paramètre	Valeur / Description
Dénomination	Cire d'abeille
Origine	Sécrétion naturelle des abeilles
Composition principale	Esters d'acides gras et alcools à longue chaîne
Aspect	Solide jaune pâle à brun
Odeur	Caractéristique, légère
Point de fusion	62 – 65 °C
Solubilité	Insoluble dans l'eau ; soluble dans solvants organiques apolaires
Nature chimique	Lipophile (hydrophobe)
Stabilité	Stable à température ambiante
Rôle en formulation	Agent hydrophobe modulateur de libération

II.3.4. Analyse des interactions par spectroscopie FTIR

L'étude des interactions entre la vitamine C et les excipients (alginate de sodium et cire d'abeille) a été réalisée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), en utilisant la méthode des pastilles de bromure de potassium (KBr).

Les spectres infrarouges de la vitamine C, de l'alginate de sodium, ainsi que de leurs mélanges physiques ont été enregistrés. Pour la préparation des échantillons, une quantité appropriée de chaque poudre (environ 1 à 2 mg) a été finement broyée et homogénéisée avec du bromure de potassium anhydre (environ 100 à 200 mg) préalablement séché. Le mélange a ensuite été comprimé sous pression afin d'obtenir une pastille translucide.

Les spectres ont été enregistrés dans une gamme de nombres d'onde comprise entre 4000 et 400 cm^{-1}, avec une résolution de 4 cm^{-1} et un nombre de scans suffisant (généralement 16 à 32) pour améliorer le rapport signal/bruit.

L'analyse des spectres a consisté à comparer les bandes caractéristiques des groupements fonctionnels de la vitamine C avec celles observées dans les mélanges physiques. Une attention particulière a été portée aux éventuels déplacements de bandes, à l'apparition ou à la disparition de pics, ainsi qu'aux variations d'intensité, susceptibles de traduire l'existence d'interactions physicochimiques entre le principe actif et les excipients.

II.4. Formulation des capsules

La formulation pharmaceutique consiste à sélectionner qualitativement et quantitativement les principes actifs et les excipients, en tenant compte de leur nature chimique, de leur état physique et de leurs caractéristiques organoleptiques, en fonction de la forme galénique visée et des opérations technologiques nécessaires à sa mise au point.

Un produit formulé résulte de l'association et du mélange de différentes matières premières, d'origine naturelle ou synthétique. On distingue généralement :

- Les **matières actives**, responsables de l'effet thérapeutique recherché ;
- Les **excipients**, qui assurent des fonctions technologiques telles que la stabilisation, la protection, la modulation de la libération ou l'amélioration des propriétés mécaniques et biopharmaceutiques du système.

Dans le cadre de ce travail, l'objectif est de développer des microcapsules à base d'alginate de sodium destinées à l'encapsulation de la vitamine C, en présence ou en absence de cire d'abeille, afin d'améliorer sa stabilité et de moduler son profil de libération.

II.4.1. Principe de la méthode

La méthode retenue repose sur la technique de gélification ionotropique. Elle consiste à extruder goutte à goutte une solution polymérique d'alginate de sodium contenant la vitamine C dans un bain de chlorure de calcium ($CaCl_2$), où se produit instantanément la gélification par réticulation ionique (**Figure 2.1**).

- Dans un premier temps, la solution d'alginate de sodium est préparée puis mélangée au principe actif à encapsuler. Selon la formulation étudiée, la cire d'abeille est incorporée afin d'introduire une phase hydrophobe susceptible d'améliorer la protection du principe actif.
- Le mélange obtenu est ensuite extrudé goutte à goutte dans la solution de $CaCl_2$. Les gouttelettes formées se transforment en capsules sous l'effet de la réticulation des groupements carboxylates de l'alginate par les ions Ca^{2+}.
- Les capsules formées sont maintenues dans la solution de $CaCl_2$ pendant environ une heure afin d'assurer une gélification complète, puis récupérées par filtration, lavées avec un volume déterminé d'eau distillée afin d'éliminer l'excès d'ions calcium, et enfin séchées à l'air libre.

- Les capsules obtenues présentent généralement une morphologie sphérique et une taille relativement homogène. Leur diamètre peut varier en fonction des paramètres opératoires (concentration en polymère, diamètre de l'aiguille, vitesse d'extrusion), et se situe généralement dans une gamme comprise entre 100 µm et 300 µm.

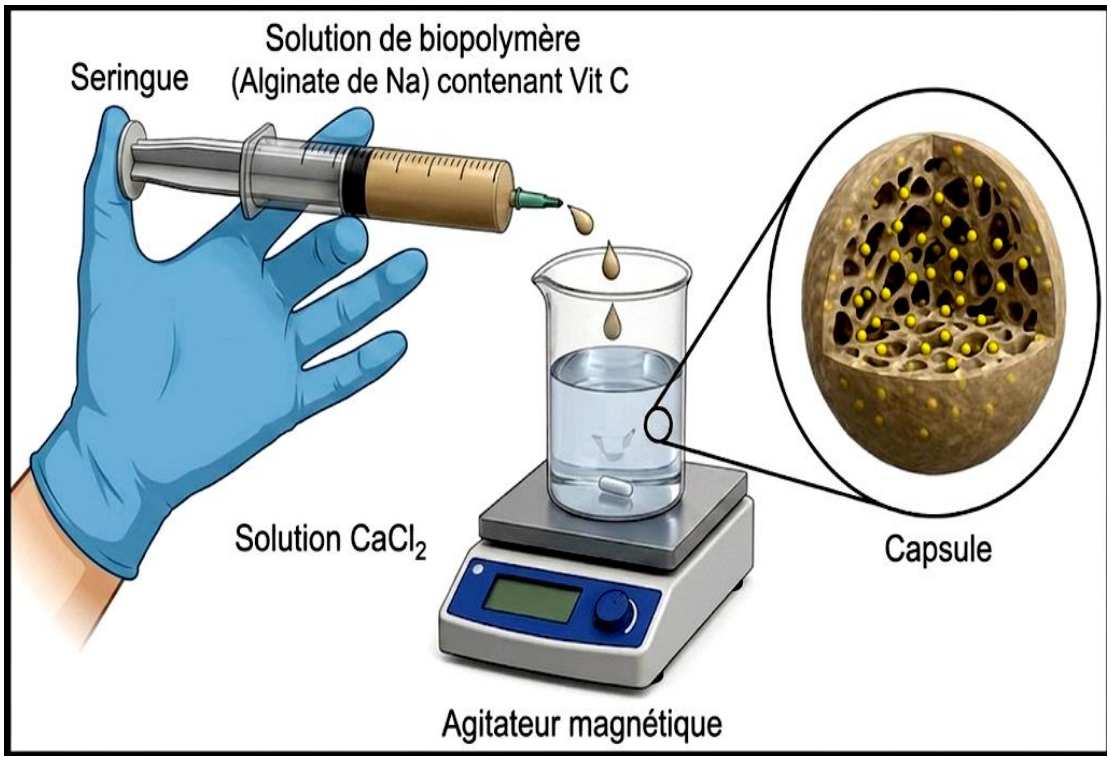


Figure 2.1. Schéma représentatif de la méthode de préparation des capsules par gélification ionotropique.

II.4.2. Composition des capsules à formuler

La composition qualitative des capsules développées dans cette étude est résumée dans le **Tableau 2.6**. Au total, six (06) formulations différentes ont été élaborées afin d'optimiser les paramètres physicochimiques et biopharmaceutiques du système d'encapsulation. Les variations apportées à la composition ont concerné principalement les proportions d'alginate de sodium, la présence ou l'absence de cire d'abeille à différentes concentration.

Tableau 2.6. Composition des capsules développées.

Composants	Rôle	Concentration (p/p)
Vitamine C (Acide ascorbique)	Principe actif	5%
Alginate de sodium	polymère gélifiant	(2 - 2.5)%
Cire d'abeilles	excipient lipophile	(10 - 20) %
Huile de vaseline	excipient lipophile	30 %
Chlorure de calcium dihydraté	agent de réticulation	3.0 %
α-tocophérol (Vitamine E)	antioxydant lipophile	0.1%
Tween 80	agent émulsifiant	0.5%
Span 60	agent émulsifiant	0.5%
Eau distillée	Solvant	QSP

L'objectif de cette approche comparative est d'identifier la formulation optimale, capable d'assurer à la fois une meilleure protection de la vitamine C vis-à-vis des facteurs de dégradation et un profil de libération adapté. Les différentes compositions étudiées sont présentées dans le **Tableau 2.7**.

Tableau 2.7. Composition des différentes Formulations des capsules chargées en Vit C

Formules	Composition en % (p/p)					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Vitamine C (acide ascorbique)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Alginate de sodium	2.0	2.5	2.0	2.5	2.0	2.5
Cire d'abeilles	-	-	10.0	10.0	20.0	20.0
Huile de vaseline	-	-	30	30	30	30
Chlorure de calcium dihydraté	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
α-tocophérol (Vitamine E)	-	-	0.1	0.1	0.1	0.1
Tween 80	-	-	0.5	0.5	0.5	0.5
Span 60	-	-	0.5	0.5	0.5	0.5
Eau distillée	QSP	QSP	QSP	QSP	QSP	QSP

II.4.3. Protocole de formulation

Les différentes formulations ont été élaborées selon la méthode de gélification ionotropique, reposant sur la réticulation des groupements carboxylates de l'alginate de sodium par les ions calcium (Ca^{2+}). Les paramètres opératoires ont été soigneusement contrôlés afin d'assurer la reproductibilité du procédé ainsi que l'homogénéité des capsules obtenues.

Deux types de formulations ont été développés :

- Des capsules à base d'alginate seul (F1–F2)
- Des capsules associant l'alginate de sodium et la cire d'abeille (F3–F6).

Les protocoles détaillés correspondants sont décrits ci-après.

II.4.3.1. Protocole de formulation des capsules à base d'Alginate

Ce protocole s'applique à la formulation des capsules (F1 et F2). L'ensemble des manipulations impliquant la vitamine C a été réalisé à l'abri de la lumière afin de limiter son oxydation (**Figure 2.2**).

Étape 1 : Solution d'alginate

1. Préparer une solution d'alginate de sodium2 à 2,5% (p/p).
2. Agiter jusqu'à hydratation complète (repos 1–2 h).
3. Chauffer légèrement la solution à 40–50 °C.

Étape 2 : Incorporation de la Vit C dans le gel d'Alginate de sodium

1. Ajouter la vitamine C en poudre fine progressivement :
2. Agiter vigoureusement jusqu'à obtention d'une dispersion homogène.

Étape 3 : Gélification ionotropique (formation des capsules)

1. Préparer une solution de $CaCl_2$ à3%.
2. À l'aide d'une seringue, extruder la solution d'alginate contenant la vitamine C dans la solution de $CaCl_2$.
3. La solution de $CaCl_2$ est maintenue à température ambiante (25 ± 2 °C).
4. L'extrusion a été réalisée à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille de diamètre interne compris entre 0,6 et 0,8 mm.
5. La distance entre l'extrémité de l'aiguille et la surface de la solution de $CaCl_2$ a été maintenue à environ 10 cm afin d'obtenir des billes sphériques.
6. Maintenir sous agitation douce.
7. Temps de réticulation : 01 heure.
8. Les capsules se solidifient immédiatement.

Étape 4 : Lavage et durcissement

1. Filtrer les capsules.
2. Laver 2 fois avec eau distillée froide.

Étape 5 : Séchage

1. Séchage à l'air libre pendant 24 à 48 h.

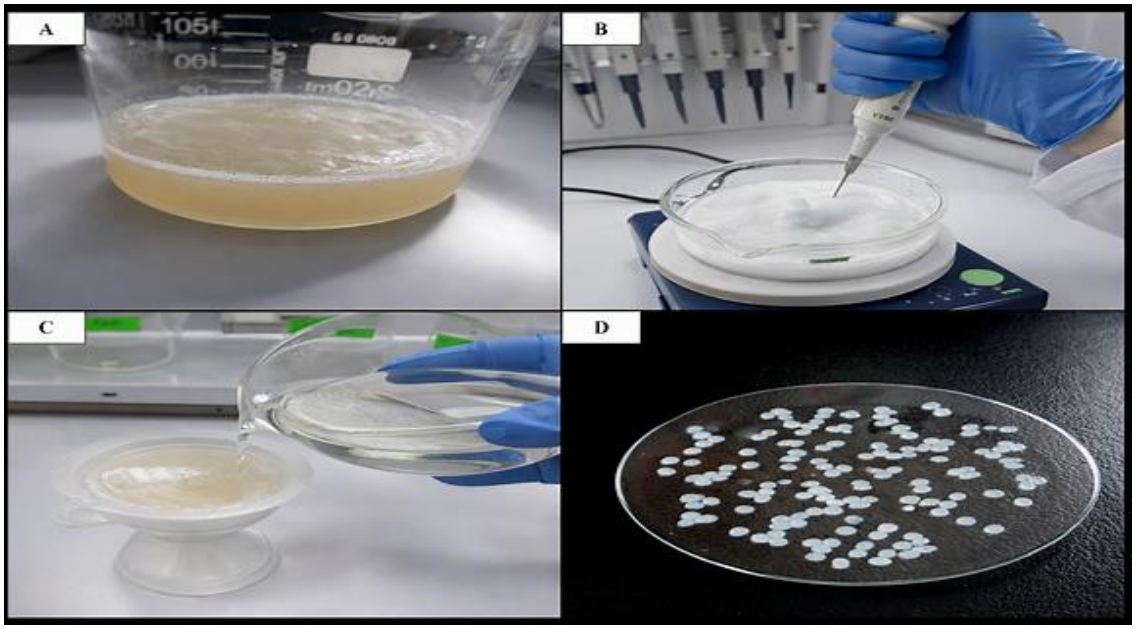


Figure 2.2. Etapes de formulation des capsules à base d'alginate **: (A)** Incorporation de la Vitamine C dans le gel d'Alginate de sodium, **(B)** Gélification ionotropique, (**C)** Filtration des capsules, **(D**) Séchage à l'air libre.

II.4.3.2. Protocole de formulation des capsules d'Alginate avec la Cire d'abeilles

Ce protocole s'applique à la formulation des capsules (F3- F6). L'ensemble des manipulations impliquant la vitamine C a été réalisé à l'abri de la lumière afin de limiter son oxydation (**Figure 2.3**).

Étape 1 : Dispersion solide-lipide (Vit C / cire)

La Préparation de la dispersion lipidique de vitamine C suit les étapes suivantes :

1. La cire d'abeilles est fondue à une température comprise entre **65 et 70 °C** à l'aide d'un bain-marie thermostatique, en présence d'huile de vaseline et de span 60.
2. La vitamine C, sous forme de poudre fine, est incorporée progressivement dans la cire fondue sous agitation continue, afin d'obtenir une dispersion homogène solide -lipide.

3. La dispersion obtenue est maintenue sous agitation douce afin d'éviter la sédimentation des particules solides.
4. Un antioxydant lipophile (α-tocophérol, 0,1 % m/m par rapport à la cire) est ajouté afin de limiter l'oxydation de la vitamine C.

Étape 2 : Solution d'alginate

La Préparation de la solution d'alginate de sodium suit les étapes suivantes :

1. L'alginate de sodium est dissous dans de l'eau distillée à une concentration de 2 à 2,5% (p/p)sous agitation magnétique, à température ambiante.
2. La solution est ensuite laissée au repos pendant 2 heures afin d'assurer une hydratation complète du polymère.
3. Avant l'étape d'émulsification, la solution d'alginate est portée à une température de 50 °C**.**

Étape 3 : Emulsification cire / Alginate

L'émulsification de la dispersion lipidique dans la solution d'alginate suit les étapes suivantes :

1. La dispersion lipidique fondue contenant la vitamine C est ajoutée lentement à la solution d'alginate préchauffée, sous agitation mécanique rapide (environ 1200 tr/min**).**
2. Le Tween 80 est incorporé à une concentration de 0,5 % (p/p) par rapport à la phase aqueuse totale.
3. Le système est maintenu à une température d'environ 50 °C afin d'éviter la solidification prématurée de la cire d'abeilles.
4. Une émulsion huile-dans-eau stable est ainsi obtenue.

Étape 4 : Gélification ionotropique (formation des capsules)

La formation des billes d'alginate réticulées au calcium suit les étapes suivantes :

1. L'émulsion obtenue est extrudée goutte à goutte à l'aide d'une seringue dans une solution de $CaCl_2$ à 3%**,** maintenue sous agitation douce.
2. La solution de $CaCl_2$ est maintenue à température ambiante (25 ± 2 °C).
3. L'extrusion a été réalisée à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille de diamètre interne compris entre 0,6 et 0,8 mm.

4. a distance entre l'extrémité de l'aiguille et la surface de la solution de $CaCl_2$ a été maintenue à environ 10 cm afin d'obtenir des billes sphériques.
5. La gélification ionotropique est produite instantanément par interaction entre les ions calcium et les groupements carboxylates de l'alginate.
6. Les billes sont laissées en contact avec la solution de $CaCl_2$ pendant 01 heure afin d'assurer une réticulation complète.

Étape 5 : Lavage et durcissement

Le lavage et séchage des billes suit les étapes suivantes :

1. Les billes d'alginate sont récupérées par filtration puis lavées deux fois à l'eau distillée afin d'éliminer l'excès d'ions calcium non liés.
2. Les échantillons sont ensuite séchés à l'air librependant 24 heures pour les études de caractérisation ultérieures.

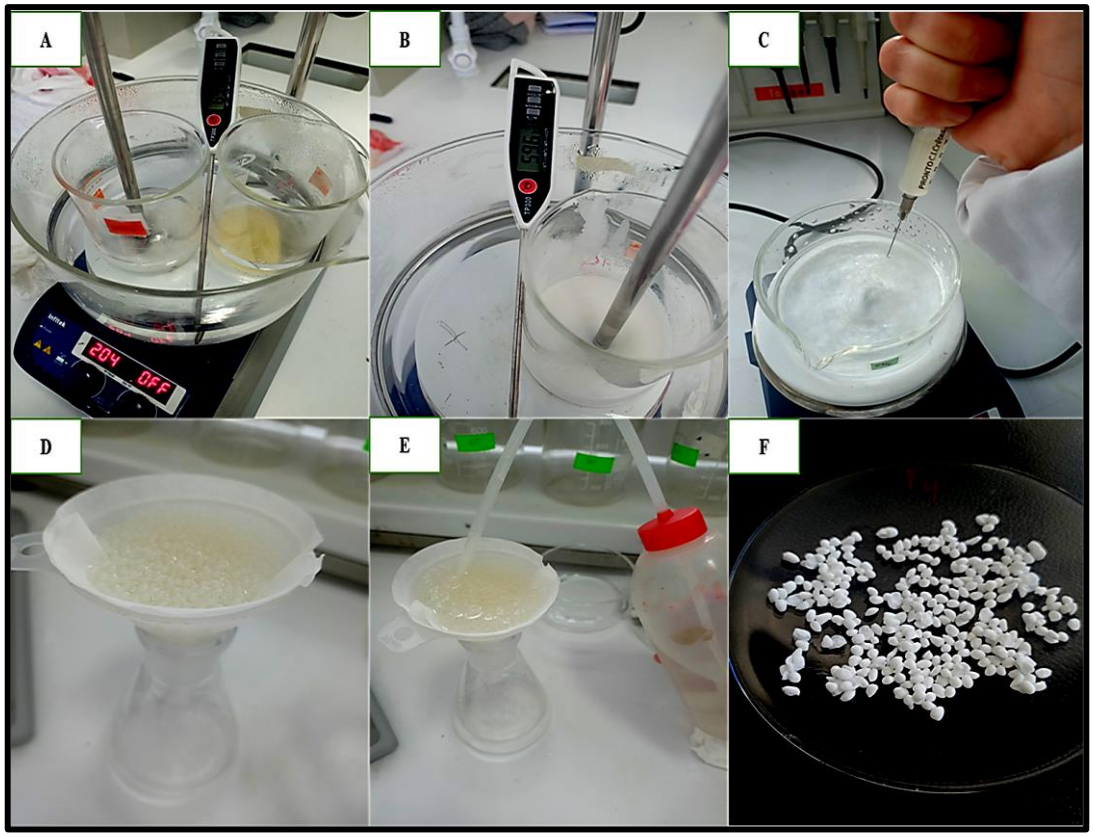


Figure 2.3. Etapes de formulation des capsules à base d'alginate/Cire d'abeilles**:** **(A)**Dispersion solide-lipide (Vit C / cire) et solution d'alginate dans un bain-marie thermostatée, **(B)** Émulsification (Cire d'abeilles/ Alginate), **(C)** Gélification ionotropique, **(D)** Filtration des capsules**,(E)** Lavage des capsules, **(F)** Séchage à l'air libre.

II.4.3.3. Formulation du gel contenant les microcapsules

L'objectif de cette partie est de développer un système topique combiné basé sur :

- Un gel hydrophile (phase continue)
- Des microcapsules (phase dispersée) contenant la vitamine C

Combiner les deux polymères l'Hydroxypropylméthyl cellulose (HPMC**)** et le Carbopol 934est une stratégie utilisée pour obtenir un gel très visqueux, stable et agréable à l'application cutanée. Les deux polymères sont complémentaires :

- L'HPMC offre une texture, un pouvoir filmogène et une douceur parfaite.
- Le Carbopol offre une forte viscosité avec un effet épaississant puissant recherché.

L'incorporation des microcapsules dans une matrice gélifiée permet de concevoir une excellente capacité de suspension des microcapsules dans un système de libérationadapté(**Tableau 2.8**) **:**

1. Rôle du gel (phase continue) :

- Assure une adhésion à la peau (bioadhésion) **.**
- Maintient un environnement hydraté favorable à la diffusion.

2. Rôle des microcapsules :

- Protègent la vitamine C contre l'oxydation, la lumière et les variations de pH.
- Contrôlent la diffusion initiale de la vitamine C.
- Permettent une libération prolongée (diffusion et érosion) de la vitamine C.

3. ***Effet combiné :***Le système agit selon deux mécanismes :

- Diffusion à travers le gel
- Diffusion/ relargage depuis les capsules

Cela conduit à une cinétique de libération contrôlée et prolongée, idéale pour les applications dermatologiques.

▪ Mode opératoire

Étape 1 : Préparation du gel à base de Carbopol 934

1. Disperser le Carbopol 934 dans 70 % de l'eau distillée sous agitation douce.
2. Éviter la formation de grumeaux (ajout en pluie).
3. Laisser hydrater pendant 24 h pour une viscosité maximale.

Étape 2 : Préparation du gel à base d'HPMC

1. Chauffer 30 % de l'eau à 70–80 °C.
2. Incérer les conservateurs.
3. Disperser la HPMC sous agitation.
4. Refroidir progressivement jusqu'à formation du gel.
5. Ajouter le glycérol.

Étape 3 : Mélange des deux gels

1. Ajouter lentement la phase HPMC dans la phase Carbopol 934.
2. Agiter doucement jusqu'à homogénéisation complète.
3. Éviter l'incorporation d'air.

Étape 4 : Neutralisation

1. Ajouter goutte à goutte la triéthanolamine.
2. Mesurer le pH en continu.
3. Ajuster à pH = 5.5 – 6 avec une augmentation importante de la viscosité**.**

Étape 5 : Incorporation des microcapsules F4

1. Incorporer la Vitamine E.
2. Ajouter les capsules lentement**.**
3. Mélanger à faible vitesse.
4. Éviter toute rupture mécanique.

Tableau 2.8. Composition du gel contenant les microcapsules.

Composants	Rôle	Concentration (p/p)
HPMC	Agent texturant	0.5 %
Carbopol 934	Agent gélifiant	0.5 %
Glycérol	Agent humectant	5.0 %
Parahydroxybenzoate de méthyl	Conservateur	0.1%
Parahydroxybenzoate de Propyl	Conservateur	0.01%
α-tocophérol (Vitamine E)	antioxydant lipophile	0.1%
Triéthanolamine	Agent neutralisant	q.s.p (pH 5.5 – 6)
Eau distillée	Solvant	q.s.p. 100 %
Capsules F4	Microcapsules	3.0 %

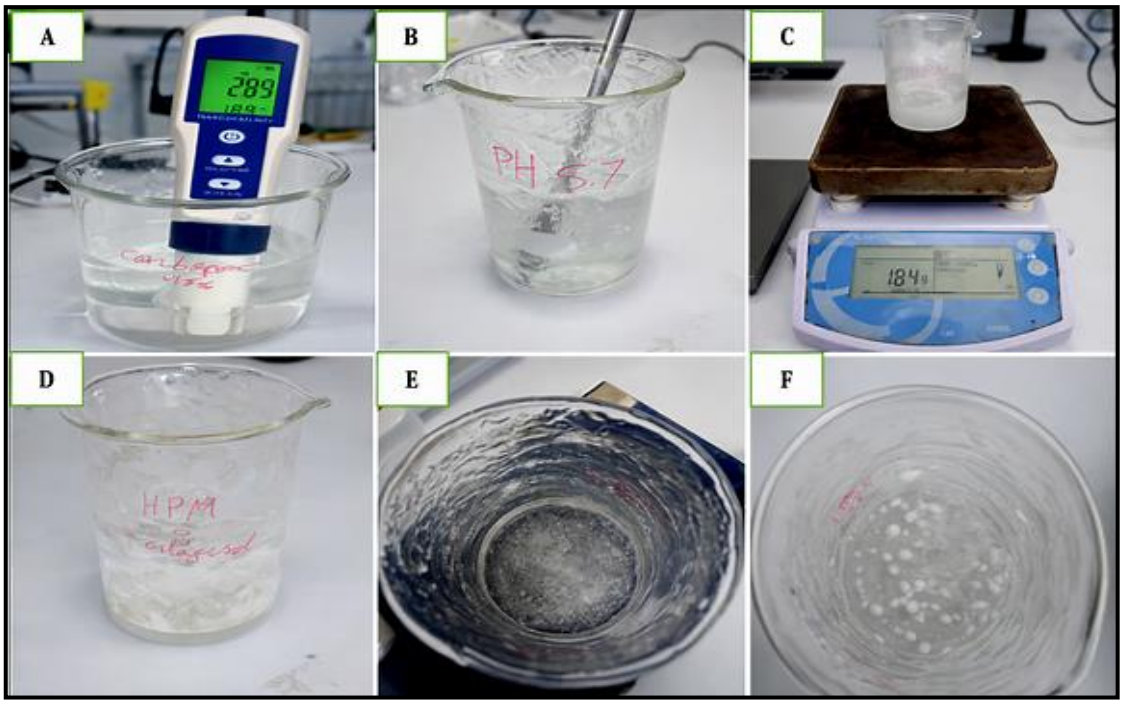


Figure 2.4. Etapes deFormulation du gel contenant les microcapsules : **(A)**Preparation du gel de Carbopol, **(B)** gel de carbopol, **(C)** Préparation du gel d'HPMC, **(D)** Ajout du glycérol dans le gel d'HPMC, **(E)** Homogénéisation des deux gel (Carbopol et HPMC), **(F)**Incersion des capsules F4 dans le gel.

II.5.Caractérisation des capsules formulées

La caractérisation des capsules élaborées constitue une étape essentielle afin d'évaluer leur qualité technologique et leur aptitude à assurer la protection et la libération contrôlée de la vitamine C.

Les paramètres étudiés comprennent notamment la taille des capsules et le pH de surface, le taux d'encapsulation, le taux de gonflement, qui influencent respectivement la cinétique de libération du principe actif et la compatibilité du système avec le milieu biologique.

II.5.1. Morphologie des capsules humides et sèches

La morphologie des capsules obtenues a été évaluée à l'état humide, immédiatement après leur formation, puis à l'état sec après séchage à l'air libre pendant 24 heures.

L'observation à l'œil nu a permis d'examiner leur aspect général, notamment leur forme, leur homogénéité, leur régularité ainsi que la présence éventuelle de défauts de surface (fissures, déformations ou agglomérations).

Cette analyse comparative entre l'état humide et l'état sec permet d'apprécier l'effet du séchage sur l'intégrité structurale des capsules, ainsi que leur capacité à conserver une morphologie sphérique et homogène après élimination de l'eau.

II.5.2.Taille des capsules

La taille des capsules est un paramètre déterminant, car elle influence la surface spécifique, la diffusion du principe actif et la vitesse de libération. Elle dépend principalement de la concentration en alginate, du diamètre de l'aiguille, de la viscosité de la solution et des conditions d'extrusion.

- **Méthode :** La taille des capsules a été déterminée à l'aide d'un pied à coulisse numérique (**Figure 2.2**). Pour chaque formulation, un échantillon représentatif de capsules (n = 20) a été sélectionné aléatoirement. Le diamètre a été mesuré individuellement, puis la taille moyenne ± écart-type (SD) a été calculée. La distribution granulométrique a permis d'évaluer l'homogénéité des capsules obtenues.

Les résultats sont exprimés sous la forme : Diamètre moyen (µm) ± SD

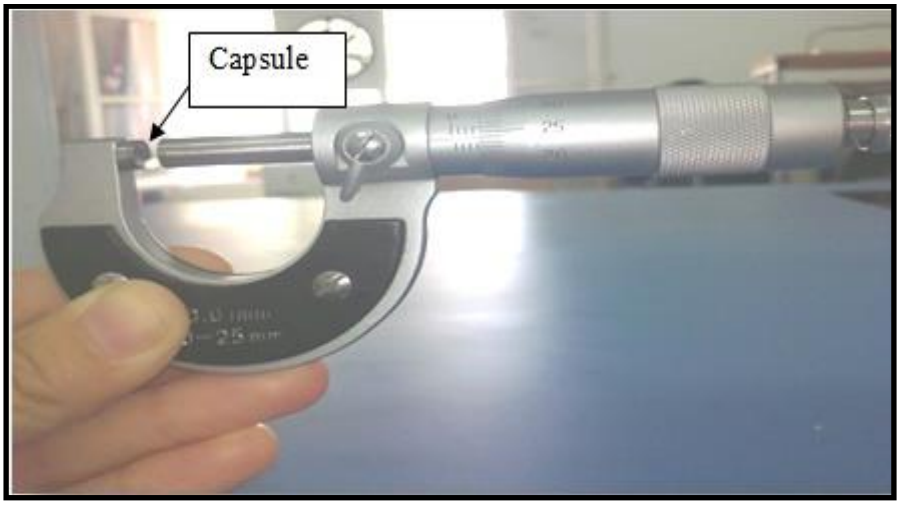


Figure 2.5. Mesure de la taille des capsules
à l'aide d'un pied à coulisse numérique (MDC-25S Mitutoyo)

II.5.3. pH de surface

- **Principe :** Le pH de surface des capsules constitue un paramètre important, notamment pour des applications pharmaceutiques orales, car il peut influencer la stabilité du principe actif ainsi que la tolérance biologique [79]. Un pH trop acide ou trop alcalin peut provoquer une irritation ou accélérer la dégradation de la vitamine C.
- **Méthode :**

- Le pH de surface a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre calibré.
- Une quantité déterminée de capsules (1 g) a été dispersée dans un volume défini d'eau distillée (10 mL).
- Le système a été laissé au repos pendant une durée déterminée de 30 minutes afin d'atteindre un équilibre.
- Le pH a ensuite été mesuré directement dans la dispersion.
- Les mesures ont été réalisées en triplicata et exprimées sous forme de moyenne ± écart-type.

II.5.4. Etude du gonflement des capsules

- **Principe :** L'étude du gonflement permet d'évaluer la capacité des capsules à absorber un liquide et à augmenter de volume en fonction du temps. Ce paramètre est particulièrement important car il conditionne la pénétration du milieu de dissolution dans la matrice polymérique et influence directement la cinétique de libération de la vitamine C encapsulée.

L'analyse de la cinétique de gonflement est basée sur une méthode gravimétrique, consistant à mesurer la variation de masse des capsules après immersion dans différents milieux de dissolution, jusqu'à l'atteinte de l'équilibre [80].

Trois milieux simulant différentes conditions physiologiques ont été étudiés :

- **Milieu 1 :** Solution tampon pH 1,2 (milieu gastrique simulé)
- **Milieu 2 :** Solution tampon pH 7,4 (milieu intestinal simulé)
- **Milieu 3 :** Eau distillée

- **Mode opératoire**

- Peser avec précision environ 50 mg de capsules sèches (masse initiale m_0) à l'aide d'une balance analytique.

- Immerger les capsules dans 25 mL du milieu de dissolution choisi, maintenu à température 37 °C.
- À des intervalles de temps prédéterminés, retirer les capsules du milieu.
- Éliminer délicatement l'excès de liquide en les déposants sur du papier absorbant sans exercer de pression.
- Peser immédiatement les capsules gonflées afin d'obtenir la masse au temps t (m_t).
- Les mesures sont réalisées jusqu'à stabilisation de la masse, correspondant à l'état d'équilibre du gonflement.

Le taux de gonflement (TG %) est calculé selon la formule suivante [80,81] :

$$\textbf{Tauxdegonflement}\ (\%) = \frac{\mathbf{m_t - m_0}}{\mathbf{m_o}} \times \mathbf{100} \qquad (\mathbf{2.2})$$

- m_0 est la masse initiale des capsules sèches (au temps t_0)
- m_t est la masse des capsules au temps t.

II.5.5. Détermination du rendement d'encapsulation

Le rendement d'encapsulation (RE%) correspond au pourcentage de vitamine C effectivement encapsulée dans les billes d'alginate par rapport à la quantité initialement introduite lors de la formulation.

- **Principe**

Les capsules d'alginate sont dissoutes dans une solution de citrate de sodium, qui chélate les ions Ca^{2+} responsables de la réticulation de l'alginate. La rupture du réseau d'alginate entraîne la libération de la vitamine C encapsulée. Celle-ci est ensuite quantifiée par spectrophotométrie UV-Visible à partir d'une courbe d'étalonnage [82].

- **Mode opératoire**

1. Une masse connue de capsules sèches (environ 100 mg) est précisément pesée.
2. Les capsules sont dispersées dans 50 mL d'une solution de citrate de sodium (0,1 M, pH ≈ 6,8)afin de décomplexer les ions calcium et de dissoudre la matrice d'alginate.
3. La suspension est agitée pendant 30 minutes à température ambiante afin d'assurer la dissolution complète des capsules et la libération de la vitamine C encapsulée.

- ***Cas des capsules d'alginate sans cire d'abeille :*** La solution obtenue est directement centrifugée (4000 tr/min pendant 10 min), puis filtrée afin d'éliminer les éventuelles particules insolubles.

- ***Cas des capsules d'alginate contenant de la cire d'abeille :*** Afin de séparer la phase lipidique, 20 mL d'éthanol sont ajoutés à la suspension, suivis d'une agitation vigoureuse. La dispersion est ensuite centrifugée **(**4000 tr/min pendant 10 min**)** afin de séparer la phase lipidique.

4. Après centrifugation, la phase aqueuse contenant la vitamine C libérée est récupérée pour le dosage par spectrophotométrie UV-Visible.
5. La teneur en vitamine C est déterminée par spectrophotométrie UV-Visible à λ = 265 nm**,** à partir d'une courbe d'étalonnage préalablement établie.

Calcul du rendement d'encapsulation :

$$\mathbf{RE}(\%) = \frac{\boldsymbol{QuantitédeVitamineCencapsulée}}{\boldsymbol{QuantitédeVitamineCintroduite}} \boldsymbol{x}\ \mathbf{100} \qquad \textbf{(2.3)}$$

II.5.6. Étude de la libération du principe actif à partir des capsules

- **Principe :** L'encapsulation de la vitamine C dans des matrices polymériques vise à améliorer sa stabilité et sa biodisponibilité tout en permettant une libération contrôlée et progressivedu principe actif lors de son utilisation.

L'étude de la cinétique de libération in vitro dans des milieux physiologiques simulés constitue une étape essentielle pour évaluer le comportement des systèmes d'encapsulation. Plusieurs paramètres peuvent influencer la libération du principe actif, notamment :

- Le pH du milieu de dissolution ;
- La nature du polymère utilisé ;
- La taille des microparticules ou capsules**.**

Cette étude a pour objectif d'évaluer la cinétique de libération in vitro de la vitamine C à partir des microcapsules d'alginate contenant de la cire d'abeille et de comparer leurs profils de libération à ceux obtenus avec des capsules constituées uniquement d'alginate.

Pour suivre la libération du principe actif, la méthode du test de dissolution (dissolutest)est largement utilisée. Elle permet d'étudier la cinétique de libération du principe actif dans des conditions simulant l'environnement physiologique.

Dans ce travail, l'étude de la libération est réalisée dans trois milieux de dissolution simulant différentes conditions physiologiques :

- Un milieu acide simulant le milieu gastrique (pH = 1.2) **;**
- Un milieu tampon simulant le milieu intestinal (pH = 7.4) **;**
- Un milieu neutre représenté par l'eau distillée**.**

Le choix de l'appareillage dépend des caractéristiques physicochimiques de la forme étudiée. Dans ce travail, l'appareil à panier est utilisé, car il permet de maintenir les capsules tout en assurant une diffusion homogène du principe actif dans le milieu de dissolution (**Figure 2.4**).

Les parties de l'appareil susceptibles d'entrer en contact avec l'échantillon ou le milieu de dissolution sont constituées de matériaux chimiquement inertes, afin d'éviter toute interaction avec la substance à analyser ou toute adsorption du principe actif.

Le dissolutest permet ainsi d'obtenir les profils de dissolution, qui représentent la quantité de principe actif libérée en fonction du temps.

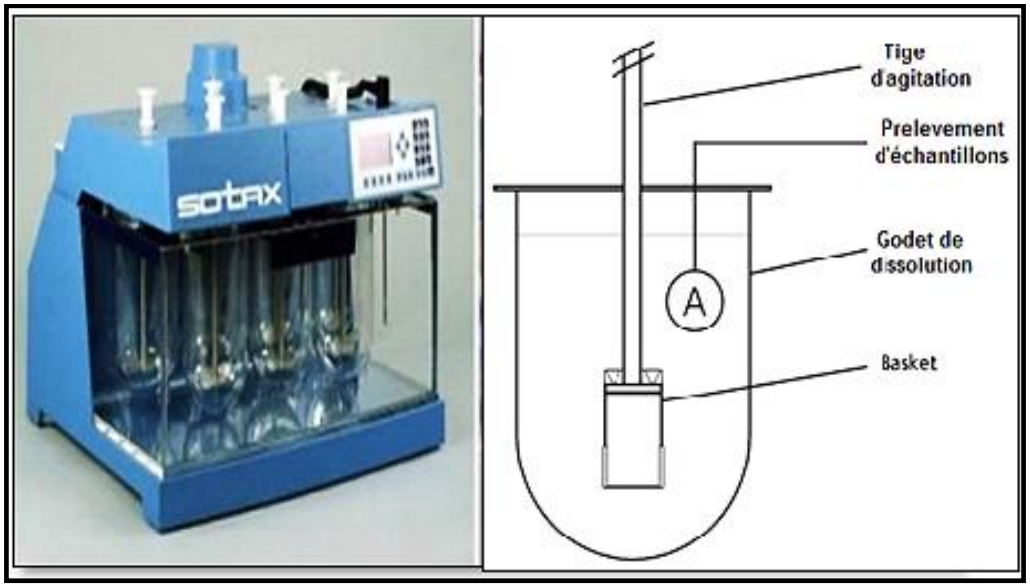


Figure 2.6. Test de dissolution SOTAX.

▪ **Mode opératoire :** Le test de dissolution in vitro est réalisé selon les recommandations de la British Pharmacopée [77]**.**

1. L'essai est effectué dans un récipient contenant 900 mL de milieu de dissolution (pH 1,2 ; pH 7.4 ou eau distillée).
2. Le dissolutest est maintenu à unetempérature de 37 ± 0,5 °C, avec unevitesse d'agitation de 100 tr/min**.**

3. Une masse de 100 mg de microcapsules est introduite dans le panier, qui est ensuite placé dans le dissolutest contenant le milieu de dissolution.
4. À des intervalles de temps prédéterminés, 10 mL du milieu de dissolution sontprélevés**,** puis immédiatement filtrés à l'aide d'un filtre seringue de porosité 0,45 µm**.** Le volume prélevé est remplacé par une quantité équivalente de milieu de dissolution frais afin de maintenir un volume constant dans le récipient**.**
5. Les échantillons recueillis sont ensuite analysés par spectrophotométrie UV-Visible à 265 nm**,**afin de déterminer la quantité de vitamine C libérée.

Calcul de la libération cumulée :

$$\textbf{Taux libération}(\%) = \frac{\boldsymbol{QuantitédeVitamineClibérée\ en\ temps\ t}}{\boldsymbol{QuantitédeVitamineCtotale\ encapsulée}}\boldsymbol{x\ 100} \qquad \textbf{(2.4)}$$

II.6. Contrôle qualité du gel contenant les microcapsules

II.6.1. Aspect macroscopique

- **Principe :** L'examen de l'aspect macroscopique permet d'évaluer la qualité visuelle et l'homogénéitédu gel final. Il constitue un indicateur important de la stabilité physique et de l'acceptabilité du produit pour une application topique.
- **Méthodologie :** Une quantité suffisante de gel contenant les microcapsules est prélevée et observée à l'œil nu, éventuellement à l'aide d'une loupe, afin d'évaluer les paramètres suivants : couleur, homogénéité, présence d'agrégats ou de grumeaux, distribution des microcapsules, présence éventuelle de bulles d'air, texture (lisse, granuleuse, visqueuse)

II.6.2. Mesure du pH

- **Principe :** La mesure du pH est essentielle pour garantir :
  - La compatibilité cutanée du gel
  - La stabilité de la vitamine c
  - La stabilité du système polymérique

Un pH adapté permet d'éviter les irritations cutanées et de maintenir l'intégrité des microcapsules.

- **Méthodologie :** Le pH du gel est mesuré à l'aide d'un pH-mètre calibré [12].

1. Prélever une quantité de gel d'environ 1 g.
2. La disperser dans 100 mL d'eau distillée.
3. Homogénéiser légèrement.
4. Mesurer le pH à température ambiante.

II.6.3. Étude de l'étalement

- **Principe :** L'étalement permet d'évaluer la facilité d'application du gel sur la peau. Un bon étalement garantit une répartition uniforme du produit et améliore son acceptabilité par l'utilisateur.
- **Mode opératoire**

La méthode utilisée est celle des deux plaques de verre[79] :

1. Déposer une quantité définie de gel (0.5 g) au centre d'une plaque de verre.
2. Recouvrir avec une seconde plaque de verre sans glissement des plaques.
3. Appliquer un poids standard (500 g) sur la plaque supérieure.
4. Après 1 min, retirer le poids.
5. Mesurer le diamètre (*d*)d'étalement de l'échantillondu gel.

Les résultats sont exprimés en termes de surface d'étalement selon l'équation (2.5) :

$$S = d^2 . \frac{\pi}{4} \qquad (2.5)$$

Dans laquelle **S** est la surface d'étalement (cm^2) résultant de la masse appliquée, et **d** est le diamètre moyen (cm) atteint par l'échantillon.

II.6.4. Étude de la viscosité du gel contenant les capsules

- **Principe :** La viscosité est une propriété rhéologique fondamentale qui traduit la résistance d'un fluide à l'écoulement sous l'effet d'une contrainte appliquée. Dans le cas des gels polymériques contenant des capsules, elle reflète directement les interactions entre les chaînes macromoléculaires, la structure du réseau tridimensionnel et la dispersion des capsules au sein du système.

L'étude viscosimétrique permet de :

- Caractériser le comportement d'écoulement du gel (newtonien ou non newtonien),
- Evaluer l'effet de la concentration en polymère et de la présence des capsules,
- Déterminer la stabilité et l'applicabilité du gel (notamment pour un usage topique).

- ***Mode opératoire*** **:**Un viscosimètre rotatif de type HAAKE Visco-Tester VT5 a été utilisé pour l'étude viscosimétrique du gel. Les mesures ont été réalisées à l'aide du mobile SP3**,** adapté aux systèmes semi-solides.Les valeurs de viscosité ont été déterminées pour des vitesses de rotation comprises entre 0.3 et 10 tr/min, permettant d'explorer le comportement rhéologique du gel sur une plage de cisaillement étendue. Le protocole expérimental est le suivant :

1. **Préparation de l'échantillon :** Le gel contenant les capsules est préparé selon la formulation choisie, puis homogénéisé afin d'assurer une distribution uniforme des capsules.
2. **Mise en place de l'échantillon :** Une quantité suffisante de gel est introduite dans le récipient du viscosimètre, en évitant la formation de bulles d'air susceptibles d'altérer les mesures.
3. **Choix du mobile :** Le mobile approprié (SP3) est sélectionné en fonction de la consistance du gel afin d'assurer une bonne sensibilité de mesure.
4. **Conditions expérimentales** :
   - Température : température ambiante (≈ 25 °C)
   - Vitesse de rotation : variation progressive entre 0.3 et 10 tr/min
5. **Procédure de mesure**
   - Le mobile est immergé dans l'échantillon sans toucher les parois.
   - La viscosité est mesurée à différentes vitesses de rotation croissantes.
   - À chaque vitesse, on attend la stabilisation de la lecture avant d'enregistrer la valeur.

Les résultats obtenus sont exprimés en Pa.s (Pascal. seconde) et permetteront de tracer la courbe viscosité en fonction de la vitesse de rotation**,** afin de mettre en évidence le type d'écoulement caractérisant le gel étudié.

II.6.5. Étude de la diffusion in vitro

- **Principe :** L'étude de libération in vitro permet d'évaluer la cinétique de diffusion de la vitamine C à partir du gel contenant les capsules [77].

- **Mode opératoire**

1. Placer la membrane en cellulose entre le compartiment donneur (gel) et le compartiment récepteur (solution tampon pH 7.4).
2. Maintenir la température à 32 °C (température cutanée)**.**

3. Agiter doucement le milieu récepteur.
4. Prélever des échantillons à temps réguliers.
5. Analyser la vitamine C par spectroscopie UV-Vis.

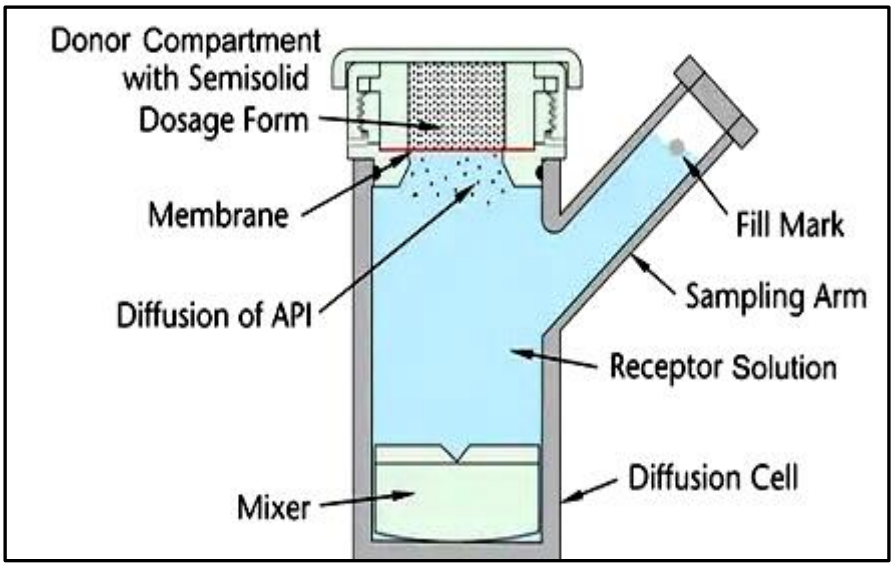


Figure 2.7. Cellule de Frantz pour le test de Diffusion in vitro [77].

II.6.6. Contrôle de la qualité microbiologique du gel

Le contrôle microbiologique permet de détecter toute anomalie qualitative et quantitative de la population microbienne pouvant altérer la qualité du gel contenant les capsules de Vitamine C. Différents tests sont réalisés dans le but de rechercher et de dénombrer les microorganismes suivants [12]:

- Des germes aérobies mésophiles, ce sont des microorganismes aptes à se multiplier à des températures ambiantes.
- Des levures et des moisissures, qui sont responsables de nombreux phénomènes d'altération d'enzymes hydrolytiques.
- Des germes spécifiques «*PseudomonasAeruginosa* ».

La recherche de ces microorganismes proposée par la pharmacopée européenne sur le gel contenant les capsules de Vitamine C est basée sur la mise en culture, en utilisant la méthode de dénombrement sur plaque [12]. Il s'agit du dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT), des moisissures et levures totales (DMLT) et la recherche des micro-organismes spécifiques qui concerne les germes *Pseudomonas Aeruginosa*.

Tous les tests sont réalisés dans des conditions permettant d'éviter toute contamination microbienne extrinsèque du produit à examiner, sous hotte à flux laminaire, en utilisant un matériel et des milieux de culture stériles.

Tableau 2.9. Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes semi-solides non stériles administrée par voie cutanée [12].

Type de germes à dénombrer	Normes
DGAT (UFC.g-1 ou ml-1)	10^2
DMLT (UFC.g-1 ou ml-1)	10^1
Microorganismes spécifiés : *Pseudomonas aeruginosa*(1 g ou 1 ml d'échantillon)	Absence

La qualité microbiologique du gel étudié contenant les capsules chargées en Vitamine C a été évaluée selon les normes de la pharmacopée européenne [12] suivant les étapes suivantes :

a. Préparation des échantillons : Une prise d'essai de 10 g du gel a été désinfectée avec l'éthanol, et exposée à la lumière UV sous une hôte à flux laminaire pendant 20 min. Puis, le gel a été dilué dans 100 ml de myristate d'isopropyle (stérilisé par filtration additionné à 1 g/l de tween 80) et chauffée à 40 ± 0.5 °C (Solution A).

b. Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) et des moisissures et levures totales (DMLT) : A partir de la solution préparée (Solution A), 0.1 ml est prélevé puis étalé à la surface de deux boites de Pétri, dont la première contient un milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (TSA) pour le dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT), et la deuxième contient un milieu sabouraud dextrose gélosé (SAB) pour le dénombrement des moisissures et levures totales (DMLT). Les boites TSA sont incubées à 30-35 °C pendant 3 à 5 jours et les boites SGG à 20-25 °C pendant 5 à 7 jours. Le dénombrement se fait à l'aide du compteur de colonies(UFC) après incubation [12].

c. Recherche des germes spécifiques (*Pseudomonas Aeruginosa) :* 10 ml de l'échantillon (Solution A) ont été transférés dans 90 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja. Le flacon est incubés à 33°C pendant 24 h Ensuite, 0.1ml a été ensemencé sur des boites de pétri contenant le milieu gélosé Cetrimide agar base (CAB), l'incubation a été réalisée à 33°C pendant 72 h [12].

II.7. Conclusion

Dans ce chapitre, le matériel ainsi que les différents réactifs utilisés dans les étapes de préformulation et de formulation ont été présentés. Les méthodes expérimentales mises en œuvre pour la préparation des capsules ainsi que les différentes techniques de caractérisation physico-chimiques employées pour l'évaluation des systèmes obtenus ont également été décrites.

Ces méthodes permettront d'analyser les propriétés des capsules élaborées et d'évaluer leurs performances en termes d'encapsulation et de libération du principe actif. Les résultats expérimentaux obtenus à partir de ces analyses seront présentés et discutés dans le chapitre suivant.

CHAPITRE III.
RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Introduction

Le présent chapitre est consacré à la présentation et à la discussion approfondie des résultats obtenus au cours des différentes étapes de développement de la formulation de la vitamine C, depuis la phase de préformulation jusqu'à la mise au point du système final à usage topique.

Dans un premier temps, les résultats relatifs à la préformulation sont exposés, incluant la caractérisation physicochimique des matières premières ainsi que l'étude de compatibilité réalisée par spectroscopie FTIR. Cette étape préliminaire a permis de vérifier l'absence d'interactions physicochimiques susceptibles d'altérer la stabilité du principe actif, garantissant ainsi la faisabilité de la formulation envisagée.

Dans un second temps, les résultats liés à la formulation des microcapsules à base d'alginate, seules puis associées à la cire d'abeilles, sont présentés et analysés. Les différents contrôles physicochimiques effectués, tels que la mesure du pH, la cinétique de gonflement des capsules à différents pH, le rendement d'encapsulation et la cinétique de libération *in vitro* de la Vitamine C à partir des capsules, ont permis d'apprécier la qualité, la performance et la stabilité des systèmes développés. Une attention particulière a été portée à l'influence de la composition sur les propriétés morphologiques et fonctionnelles des capsules.

Dans un troisième temps, une approche innovante a été adoptée consistant à incorporer les microcapsules optimales dans une matrice gélifiée à base de polymères (HPMC et Carbopol 934), en vue d'une application dermique. Les résultats relatifs à cette formulation combinée (gel + microcapsules) sont présentés et discutés, notamment en termes d'aspect, de pH, de propriétés d'étalement, de stabilité et de comportement de diffusion *in vitro*. Cette stratégie vise à améliorer la stabilité de la vitamine C et à assurer une libération contrôlée au niveau cutané.

Enfin, l'ensemble des résultats est analysé de manière critique afin d'évaluer la pertinence du procédé d'encapsulation, l'apport de la cire d'abeilles dans la stabilisation du système, ainsi que l'intérêt de l'association capsules–gel dans l'optimisation de la délivrance de la vitamine C.

III.2. Préformulation

Les résultats de la phase de préformulation sont présentés dans cette section. Cette phase a permis de générer un ensemble de résultats essentiels pour la suite du développement. Elle comprend l'étude analytique du dosage de la vitamine C par spectrophotométrie UV-Visible, l'établissement des courbes d'étalonnage dans l'eau distillée, le milieu acide (pH 1,2) et le milieu tamponné (pH 7,4), ainsi que l'investigation des interactions potentielles entre la vitamine C et l'alginate de sodium par analyse FTIR.

III.2.1. Dosage de la vitamine C par spectrophotométrie UV-Visible

Un balayage dans le domaine UV-Vis a été effectué afin de déterminer la longueur d'onde optimale λ_{max}, correspondant à l'absorption de la molécule de Vit C dans différents milieux de dissolution. Pour la détermination de λmax, les solutions de Vit C sont préparées dans les solutions tampon à pH 1,2 et à pH 7.4 et l'eau distillée à une concentration de 5% (p/p). Les résultats montrent des pics d'absorptions maximums définis à une longueur d'onde λ_{max}= 262 nm (**Figure 3.1**).

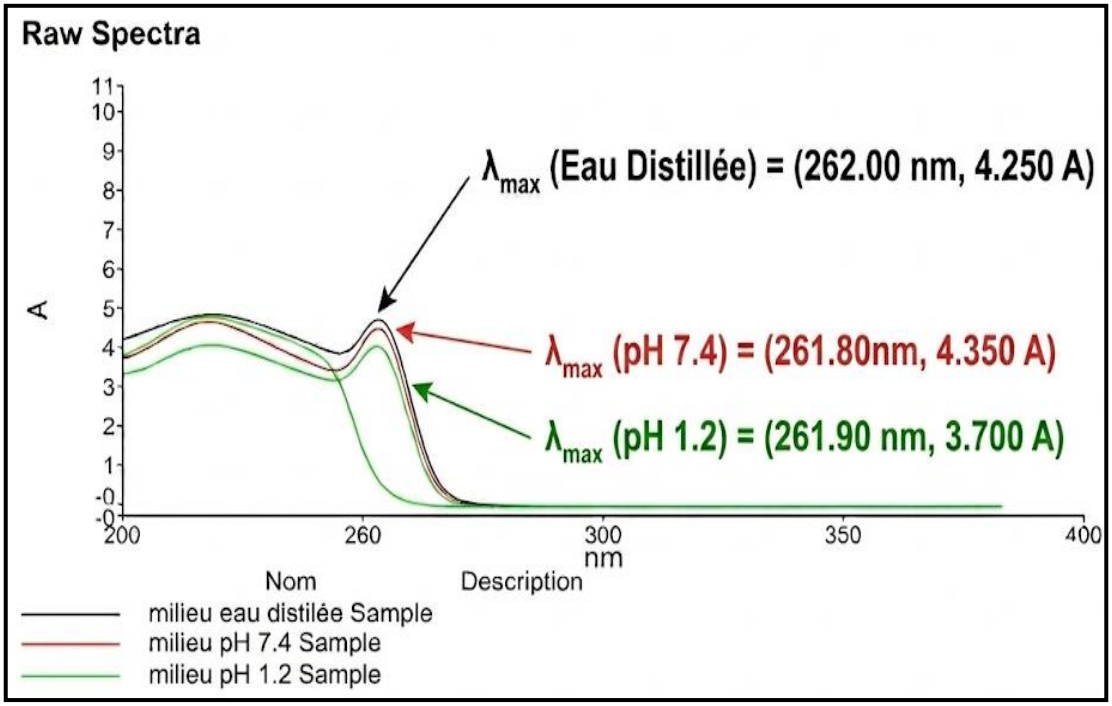
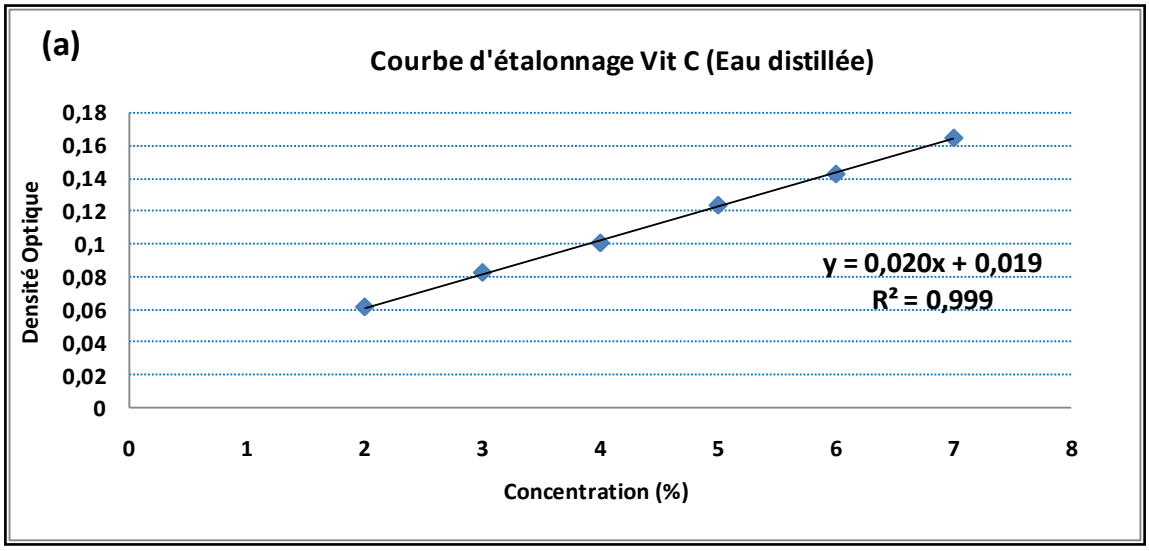


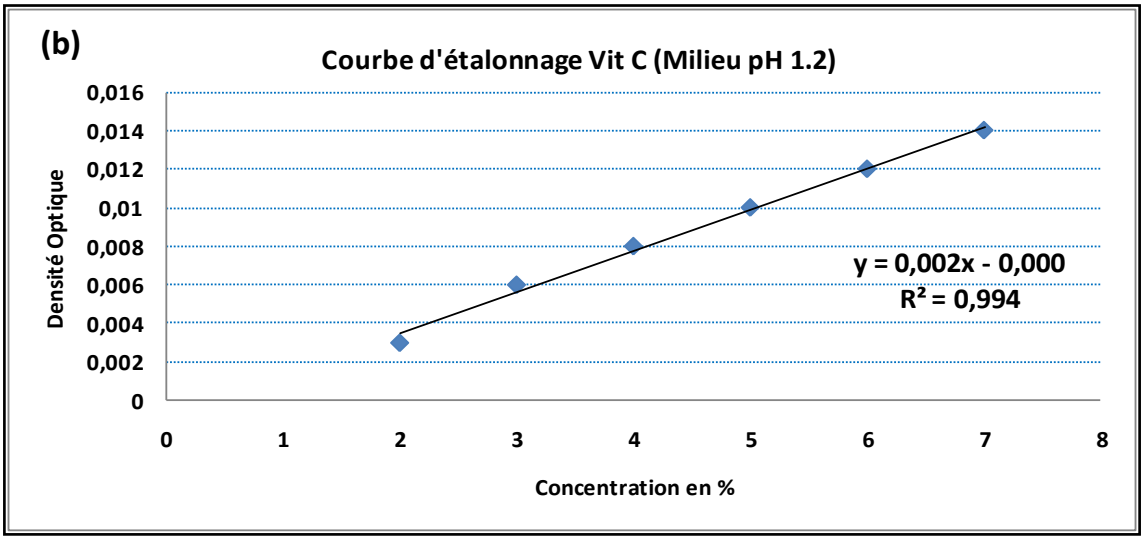
Figure 3.1. Spectres d'absorption UV des solutions de la Vit C dans :

L'eau distillée, Milieu tampon pH 1,2 Milieu tampon pH 7.4

III.2.2.Détermination de la courbe d'étalonnage

Les courbes d'étalonnage sont réalisées dans des solutions tampons différentes qui sont le tampon pH 1,2, le tampon pH 7.4 et l'eau distillée. Les trois courbes d'étalonnage (DO = f(c)) ont été réalisées par la mesure de la densité optique (DO) à λ =262 nm de différentes solutions de Vit C à des concentrations comprises entre 2% (p/p) et 7% (p/p). Les résultats sont représentés sur la **Figure 3.2.**





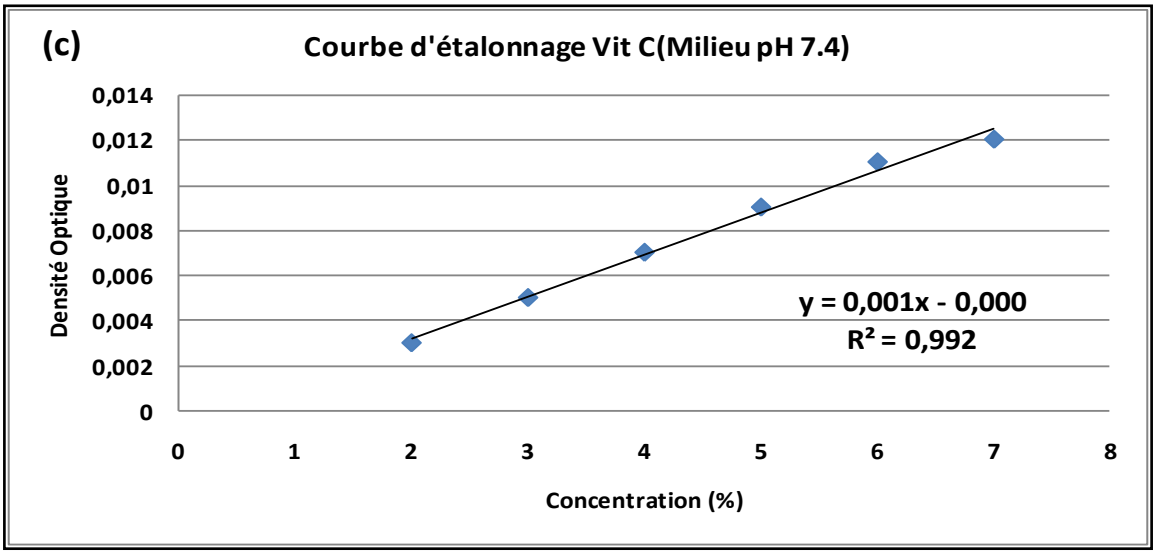


Figure 3.2. Courbe d'étalonnage de la Vit Cpar spectroscopie UV-Vis, àλmax =262 nm dans: **(a)** l'eau distillée, **(b)** Milieu tampon pH 1.2, **(c)** Milieu tampon pH 7.4

Le **Tableau 3.1**. résume les résultats obtenus des courbes d'étalonnage à savoir les équations des droites d'étalonnage et les coefficients de corrélation correspondants.

Tableau 3.1. Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage de la Vit C.

Milieux de dissolution	Longueur d'onde optimale (nm)	Equation de la droite d'étalonnage	Coefficients de corrélation R^2
Milieu Tampon pH 1.2	262.0	y=0.002 x+0,000	0,994
Milieu Tampon pH 7.4	262.0	y=0.001x-0.000	0,992
Eau distillée	262.0	y=0.020 x+0,019	0,999

Les courbes d'étalonnage obtenues dans les trois milieux présentent une excellente linéarité avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,99, confirmant la validité de la méthode spectroscopique pour le dosage de la vitamine C. Une légère variation de la pente est observée selon le pH du milieu, traduisant l'influence de l'ionisation de la molécule sur son absorption UV.

III.2.3. Analyse des interactions par spectroscopie FTIR

L'étude de la compatibilité de la vitamine C avec le biopolymère choisi pour son encapsulation, à savoir l'alginate de sodium, a été réalisée par spectroscopie FTIR. Les résultats obtenus sont présentés et discutés dans la section suivante (**Figure 3.3**). Cette étude repose sur l'analyse comparative de leurs spectres d'absorption individuels et de celui du mélange physique (vitamine C / Alginate de sodium).

Le spectre FTIRde la vitamine C, représenté par la **Figure 3.3(a)**, montre des bandes caractéristiques à 1751 cm^{-1} et 1658 cm^{-1}, attribuées respectivement à l'étirement de la fonction cétone (C=O) ainsi qu'aux vibrations d'étirement de la liaison C=C, du cycle lactone à cinq chaînons. La bande de faible intensité située aux alentours de 1435 cm^{-1} est attribuée, quant à elle, au cisaillement du groupement méthyl (CH_2). Le spectre d'absorption met également en évidence plusieurs bandes dans la région de 1000–1300 cm^{-1}, caractéristiques des vibrations d'élongation C–O (alcools et esters). Plus précisément, les bandes enregistrées à 1026cm^{-1} correspondant aux vibrations de la liaison C–O–H tandis que les pics à 1120 cm^{-1} et 1273 cm^{-1} sont attribués aux étirements de la liaison C–O–C. Les bandes comprises entre 990 et 1026 cm^{-1} sont, quant à elles, associées aux modes de déformation du cycle lactone [83]. Enfin, les pics observés à 3526 et 3411 cm^{-1} sont caractéristiques des étirements O–H, tandis que le pic intense à 3031 cm^{-1} est attribué à l'étirement C–H. Les bandes intenses dans la région 3216–3529 cm^{-1} sont assignées aux étirements O–H dus à la présence d'humidité dans l'échantillon [84].

Le spectre FTIR de l'alginate de sodium (**Figure 3.3(b))** met en évidence ses principales fonctions caractéristiques. Une large bande intense autour de 3425 cm^{-1} correspond aux vibrations d'élongation des groupements hydroxyles (–OH) impliqués dans des liaisons hydrogène. Une bande plus faible vers 2924 cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'élongation des liaisons C–H. Les signaux situés à 1620 cm^{-1}et1419 cm^{-1} traduisent respectivement les vibrations asymétriques et symétriques des groupements carboxylates ($–COO^-$), confirmant la présence de l'alginate sous forme de sel de sodium. Enfin, les bandes comprises entre 1000 et 1100 cm^{-1} sont associées aux vibrations des liaisons C–O–C et C–O, caractéristiques du squelette glycosidique [79].

Le spectre FTIR du mélange (Vitamine C / Alginate de sodium) est illustré sur la **Figure 3.3(c).** Toutes les bandes caractéristiques de la vitamine C sont clairement observées sur ce spectre, notamment celles attribuées aux étirements O–H, C=O et C–O. L'alginate de sodium se distingue par des bandes associées aux groupements carboxylate ($–COO^-$), en particulier les vibrations asymétriques et symétriques, ainsi que les étirements C–O–C du squelette polysaccharidique.

La conservation des principales bandes caractéristiques de chaque composé, sans apparition de nouvelles bandes significatives ni disparition notable, indique l'absence d'interactions chimiques et donc une bonne compatibilité entre les deux constituants. Toutefois, de légers déplacements de bandes ou des variations d'intensité peuvent être observés, traduisant des interactions faibles de type liaisons hydrogène entre les groupements hydroxyles de la vitamine C et les fonctions carboxylate de l'alginate ou encore un simple chevauchement de bandes apparaissant dans la même région suite à une superposition partielle ou totale.

Ainsi, les résultats de l'analyse FTIR suggèrent que la vitamine C est compatible avec l'alginate de sodium, ainsi que l'absence d'interactions chimiques majeures, indique une bonne compatibilité physicochimique, ce qui rend leur association favorable dans le système d'encapsulation étudié.

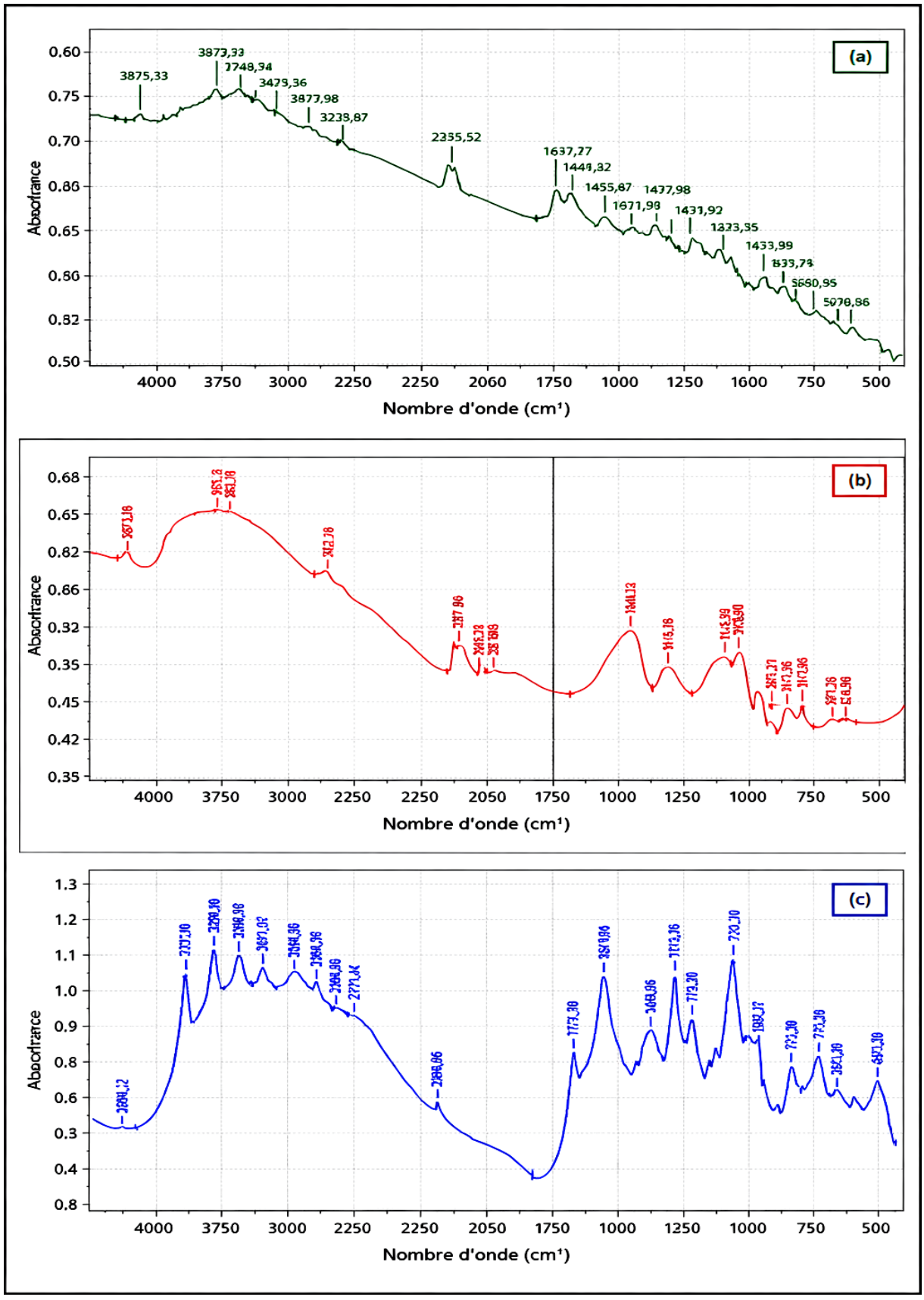


Figure 3.3. Spectres FTIR d'absorption : **(a)** Acide ascorbique, **(b)** Alginate de sodium, **(c)**mélange physique (Acide ascorbique/Alginate de sodium).

III.3. Caractérisation des capsules

III.3.1. Morphologie des capsules humides et sèches

Les capsules obtenues présentent globalement une morphologie sphérique à l'état humide, ce qui est caractéristique des systèmes préparés par gélification ionique de l'alginate. Cette forme régulière résulte principalement de la tension de surface des gouttelettes lors de leur extrusion dans la solution de réticulation.

Après séchage, une modification notable de la morphologie est observée. Les capsules, désormais dépourvues d'eau, subissent une contraction de leur réseau polymérique, ce qui entraîne une légère déformation et un allongement de leur forme initiale. Ce phénomène est attribué à la perte d'eau libre et liée, provoquant un resserrement des chaînes macromoléculaires d'alginate et une diminution du volume global.

Cependant, lorsque les capsules sèches sont réintroduites dans un milieu aqueux, elles présentent une capacité de regonflement significative. Elles absorbent rapidement l'eau et retrouvent une forme proche de leur état initial. Ce comportement met en évidence le caractère hydrophile et la structure réticulée du réseau d'alginate, capable de se réhydrater sans altération majeure de son intégrité structurale (**Figure 3.4**). Ce phénomène est particulièrement important pour les applications en libération contrôlée.

Par ailleurs, l'influence de la concentration en alginate sur la morphologie a été clairement mise en évidence. Les capsules formulées avec une concentration plus élevée en alginate (2,5 %) présentent une meilleure uniformité de forme et de taille comparativement à celles préparées à 2,0 %. Cela peut s'expliquer par une augmentation de la viscosité de la solution polymérique, conduisant à la formation de gouttelettes plus stables lors de l'extrusion, ainsi qu'à un réseau de gel plus dense et homogène après réticulation [79,80].

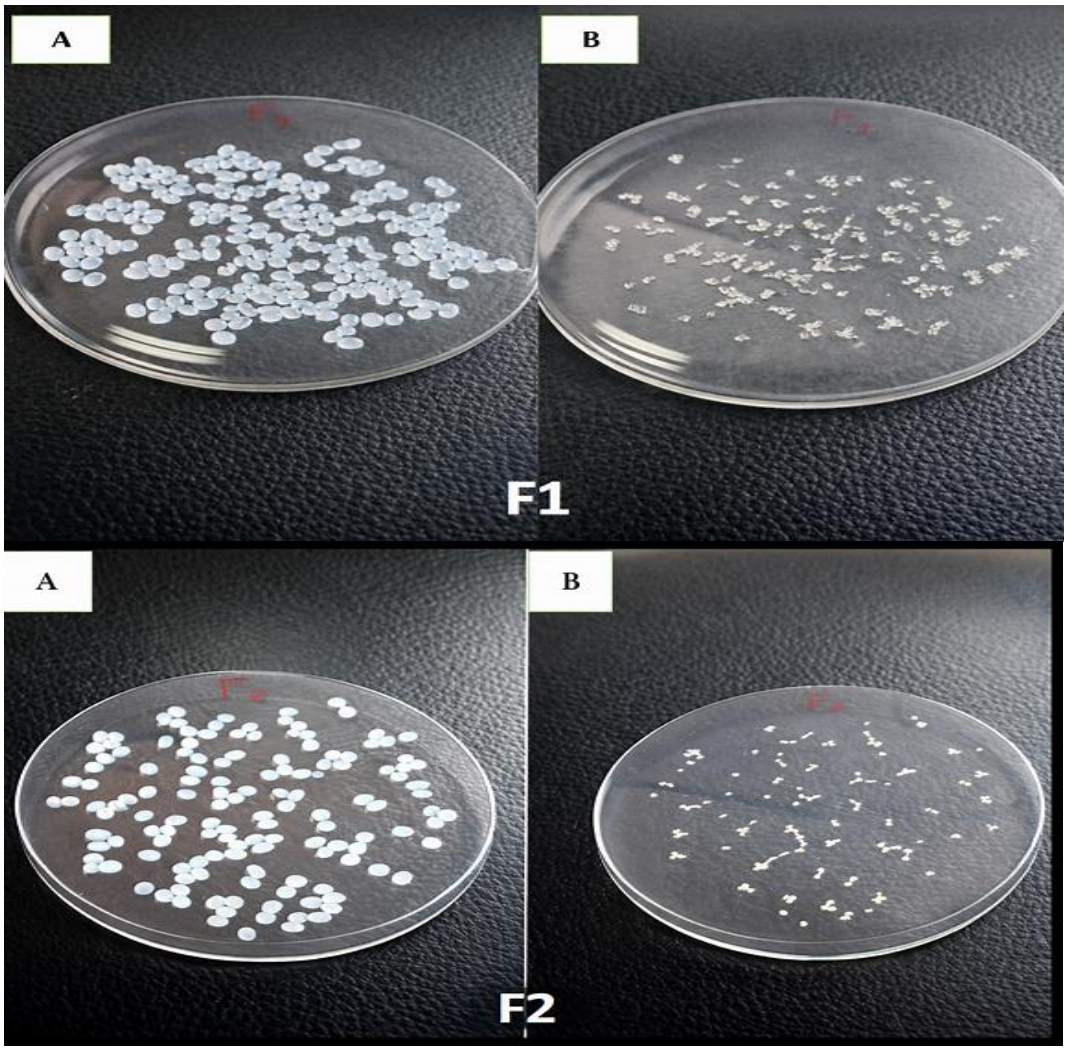


Figure 3.4. Formes et aspect des capsules à base d'Alginate (F1-F2) :
(A) Capsules humides, **(B)** Capsules sèches.

Concernant l'effet de l'incorporation de la cire d'abeilles, les capsules obtenues présentent une texture plus rigide et une consistance plus élevée que celles à base d'alginate seul (**Figure 3.5**). Cette observation peut être attribuée au caractère hydrophobe de la cire d'abeilles, qui agit comme une phase dispersée au sein du réseau polymérique. Elle contribue ainsi à renforcer la structure globale des capsules et à limiter leur déformation. De plus, la présence de cire peut réduire la mobilité des chaînes polymériques et diminuer la capacité de gonflement, ce qui peut influencer les propriétés mécaniques et de libération du principe actif [74].

Ainsi, les observations morphologiques confirment que la composition des formulations, notamment la concentration en alginate et l'ajout de cire d'abeilles, joue un rôle déterminant dans la structure, la stabilité et les propriétés fonctionnelles des capsules.

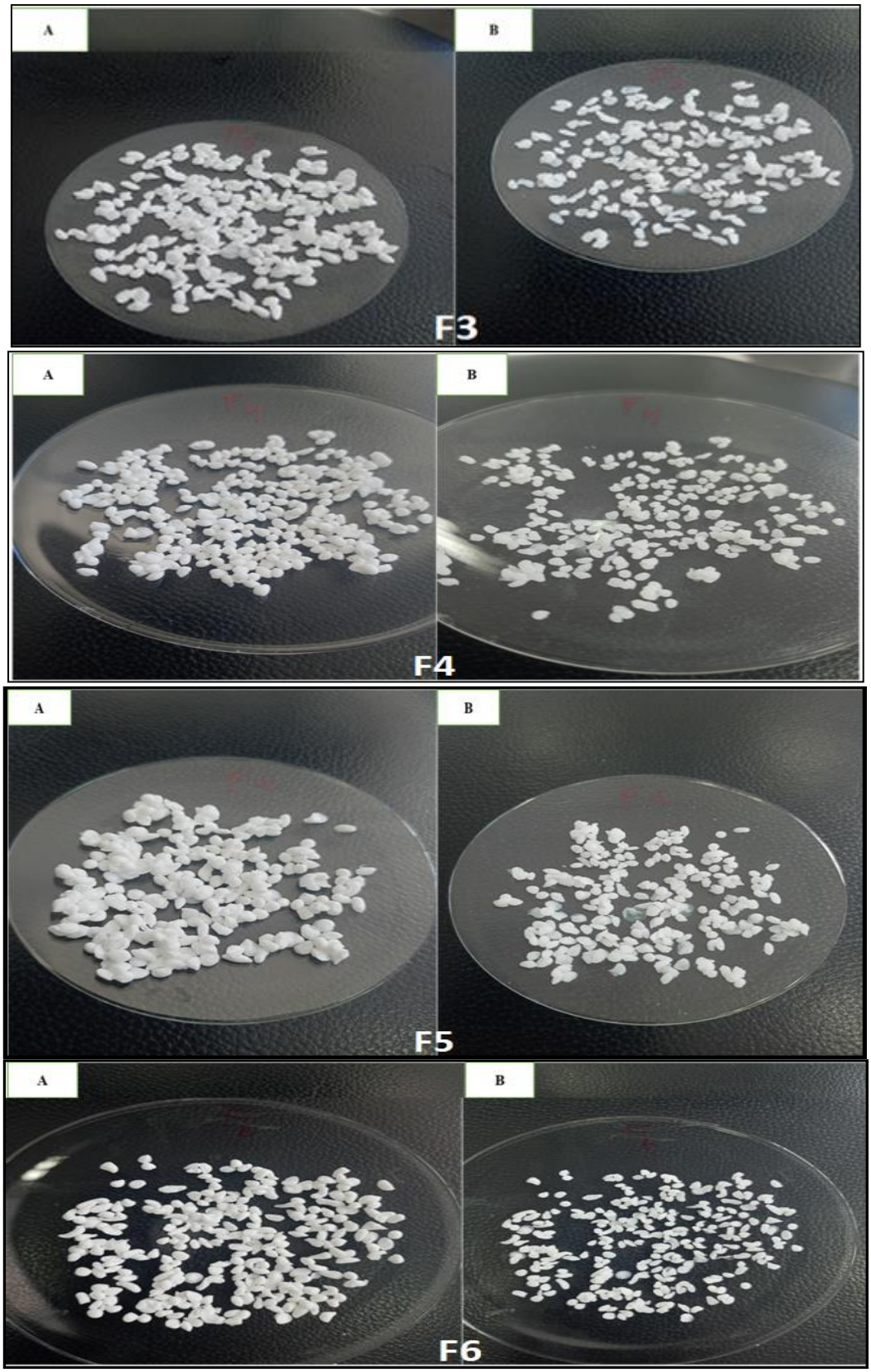


Figure 3.5. Formes et aspect des capsules à base d'Alginate/Cire d'beilles (F3-F6) : **(A)** Capsules humides, **(B)** Capsules sèches.

III.3.2.Taille des capsules

Les résultats des mesures de la taille des capsules (F1-F6) obtenus sont résumés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2. Taille des capsules obtenues

Capsules avant séchage		
Formule	**Diamètre moyen (µm)**	**CV*(%)**
F1	258.66	4.90
F2	205.65	3.84
F3	158.42	2.23
F4	142.53	2.16
F5	122.56	2.12
F6	121.43	2.14
Capsules après séchage		
N° Formule	**Diamètre moyen (µm)**	**CV*(%)**
F1	125.89	2.56
F2	110.85	2.01
F3	102.56	0.45
F4	85.69	0.25
F5	115.63	0.25
F6	117.63	0.24

* CV : Coefficient de variation.

L'analyse des données met en évidence une influence significative de la composition des formulations sur la dimension et la morphologie des capsules. Pour les capsules à base d'alginate seules (F1–F2), une diminution du diamètre est observée lorsque la concentration en alginate augmente, passant de 258.66 µm (F1, 2.0 %) à 205.65 µm (F2, 2.5 %) à l'état humide. Cette réduction peut être attribuée à l'augmentation de la viscosité de la solution d'alginate, qui favorise la formation de gouttelettes plus compactes lors du procédé de gélification ionique, conduisant ainsi à des capsules de taille plus petite [79].

Après séchage, une contraction importante des capsules est observée, avec des diamètres atteignant 125.89 µm pour F1 et 110.85 µm pour F2. Cette diminution est liée à la perte d'eau et à la réorganisation du réseau polymérique, provoquant un phénomène de rétraction. Ce comportement est typique des hydrogels d'alginate, dont la structure tridimensionnelle se densifie lors de la déshydratation [80].

Concernant les formulations contenant à la fois l'alginate et la cire d'abeilles (F3–F6), les diamètres des capsules humides varient entre 158.42 µm et 121.56 µm, tandis

qu'après séchage, ils se situent dans une plage plus restreinte (125 µm à 117.63 µm). La réduction de taille observée est moins prononcée que dans le cas des capsules sans cire, ce qui suggère que la cire d'abeilles joue un rôle structurant. En effet, la présence de cette phase hydrophobe pourrait limiter la perte d'eau et renforcer la rigidité de la matrice, réduisant ainsi le phénomène de rétraction.

De plus, l'incorporation de la cire d'abeilles améliore nettement la morphologie des capsules, qui deviennent plus sphériques et plus homogènes. Cette amélioration peut être expliquée par une meilleure stabilité des gouttelettes lors de la formation, probablement due à une modification des propriétés interfaciales du système [74]. Ainsi, la cire d'abeilles agit non seulement comme agent hydrophobe mais également comme stabilisant structural, contribuant à une meilleure uniformité dimensionnelle [78].

Ainsi, on peut déduire que la concentration en alginate influence principalement la taille initiale des capsules, tandis que l'ajout de cire d'abeilles permet d'améliorer leur stabilité dimensionnelle et leur morphologie, en limitant la contraction au séchage et en favorisant la formation de capsules plus régulières et sphériques.

La **Figure 3.6** illustre clairement la diminution des diamètres avant et après séchage pour l'ensemble des formulations. L'analyse statistique confirme la reproductibilité des résultats, avec un coefficient de variation inférieur à 5 %, indiquant une dispersion très faible des mesures. Cela témoigne de la fiabilité du procédé de préparation et du bon contrôle des paramètres expérimentaux.

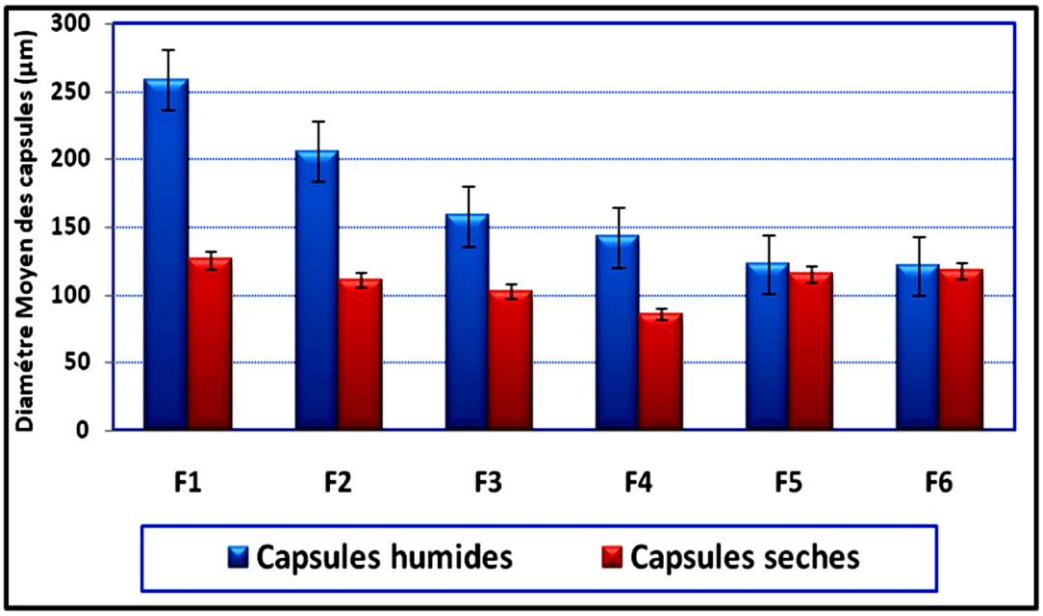


Figure 3.6. Diamètres moyens des capsules formulées (sèches et humides).

III.3.3. pH de surface

Le pH de surface des capsules constitue un paramètre essentiel dans le cadre d'une application topique. Il est généralement admis que le pH physiologique de la peau se situe entre 4,0 et 5,5, une plage optimale pour maintenir l'intégrité de la barrière cutanée et prévenir les irritations [86]. Ainsi, les formulations développées doivent présenter un pH proche de cette valeur afin d'assurer une bonne tolérance cutanée. Par ailleurs, un pH légèrement acide est favorable au maintien de la flore cutanée et à la protection contre les agents pathogènes [87].

Les valeurs de pH de surface obtenues pour les formulations F1 à F6, comprises entre 4.62 et 5,82, restent globalement compatibles avec une application topique (**Figure 3.7**). L'incorporation de la cire d'abeilles permet en outre de moduler ce pH vers des valeurs moins acides, améliorant ainsi la tolérance potentielle des capsules au niveau cutané.

Les formulations à base d'alginate seul présentent les valeurs de pH les plus faibles (pH entre 4.62 et 4.84), en raison d'une diffusion plus importante de la vitamine C vers la surface. En revanche, l'incorporation de la cire d'abeilles entraîne une augmentation du pH de surface (pH entre 5.25 et 5.82), attribuée à son caractère hydrophobe qui limite la migration du principe actif.

Les résultats obtenus montrent que les capsules présentent un pH de surface légèrement acide. Cette acidité est principalement due à la présence de l'acide ascorbique incorporé à une concentration de 5 % dans toutes les formulations (F1 à F6). En effet, l'acide ascorbique est un acide faible (pKa ≈ 4,1), capable de libérer des protons en milieu aqueux, ce qui contribue à abaisser le pH local au niveau de la surface des capsules.

L'alginate de sodium est un polymère faiblement acide, mais sous forme réticulée (alginate de calcium), il présente un comportement relativement neutre [76]. Une augmentation de la concentration en alginate (F2 vs F1)peut légèrementaugmenter le pH**,** en formant un réseau plus dense limitant la diffusion de l'acide ascorbique.

Les formulations contenant la cire d'abeilles présentent un pH de surface plus élevé (moins acide) que celles à base d'alginate seul. Cela s'explique par le caractère hydrophobede la cire, la réduction de la diffusion de la vitamine C vers la surface par la formation d'une barrière protectrice.

Du point de vue de la formulation galénique, les valeurs de pH obtenu peut contribuer à stabiliser la vitamine C (moins d'oxydation), et à améliorer sa conservation dans les capsules. Cependant, un pH trop acide pourrait être irritant, d'où l'intérêt de l'ajout de la

cire d'abeilles quiatténue l'acidité en surface, afin d'assurer une bonnetolérance cutanéepour la protection de la peau **[88].**

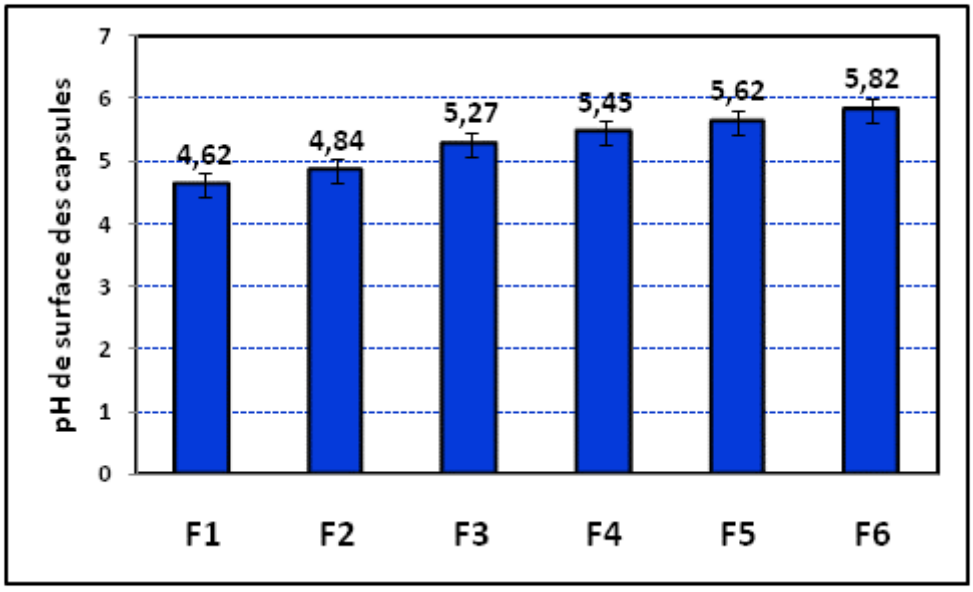


Figure 3.7. pH de surface des capsules formulées sèche et humide respectivement.

III.3.4. Étude du gonflement des capsules

L'étude du gonflement constitue un paramètre essentiel pour évaluer le comportement des capsules en milieu aqueux, notamment leur capacité d'absorption et leur aptitude à contrôler la libération du principe actif.

III.3.4.1. Étude du gonflement des capsules dans l'eau

Les résultats obtenus lors de l'étude de la cinétique de gonflement dans l'eau distillée montrent que les capsules à base d'alginate seul (F1 à 2,0 % et F2 à 2,5 %) présentent des taux de gonflement relativement élevés (**Figure 3.8**). Ce comportement s'explique par le caractère hydrophile de l'alginate de sodium, dont les groupements carboxylates ($-COO^-$) favorisent l'interaction avec les molécules d'eau. Ainsi, l'eau diffuse progressivement à l'intérieur du réseau polymérique, entraînant une expansion volumique des capsules [89].

Une influence notable de la concentration en alginate est observée. La formulation F2 (2,5 %) présente un taux de gonflement inférieur à celui de F1 (2,0 %). Cette diminution peut être attribuée à une densité de réticulation plus élevée à forte concentration en polymère, conduisant à un réseau plus compact et moins perméable à l'eau. En effet, l'augmentation du nombre de zones de jonction entre les chaînes polymériques limite l'espace disponible pour la diffusion du solvant [89].

Concernant les formulations contenant la cire d'abeilles (F3 à F6), une réduction significative du taux de gonflement est observée par rapport aux capsules d'alginate seul (**Figure 3.7**). Cette diminution est liée au caractère hydrophobe de la cire d'abeilles, qui agit comme une barrière à la pénétration de l'eau. La présence de cette phase lipidique au sein du réseau polymérique réduit la porosité globale du système et limite la diffusion du milieu aqueux [89,90].

Par ailleurs, l'augmentation de la teneur en cire d'abeilles (de 10 % à 20 %) entraîne une diminution progressive du gonflement. Ce phénomène peut être expliqué par une plus grande proportion de phase hydrophobe, renforçant l'effet barrière et diminuant l'affinité globale du système pour l'eau [90].

En combinant les effets de la concentration en alginate et de la teneur en cire, les formulations F5 et F6 (alginate 2,5 % avec cire d'abeilless) présentent les taux de gonflement les plus faibles, traduisant la formation d'un réseau polymérique dense associé à une phase hydrophobe limitant fortement l'absorption d'eau.

Ainsi, le comportement de gonflement des capsules est fortement dépendant de la composition des formulations. Une diminution du gonflement peut être favorable pour ralentir la libération de la vitamine C, tandis qu'un gonflement élevé favorise une diffusion plus rapide du principe actif.

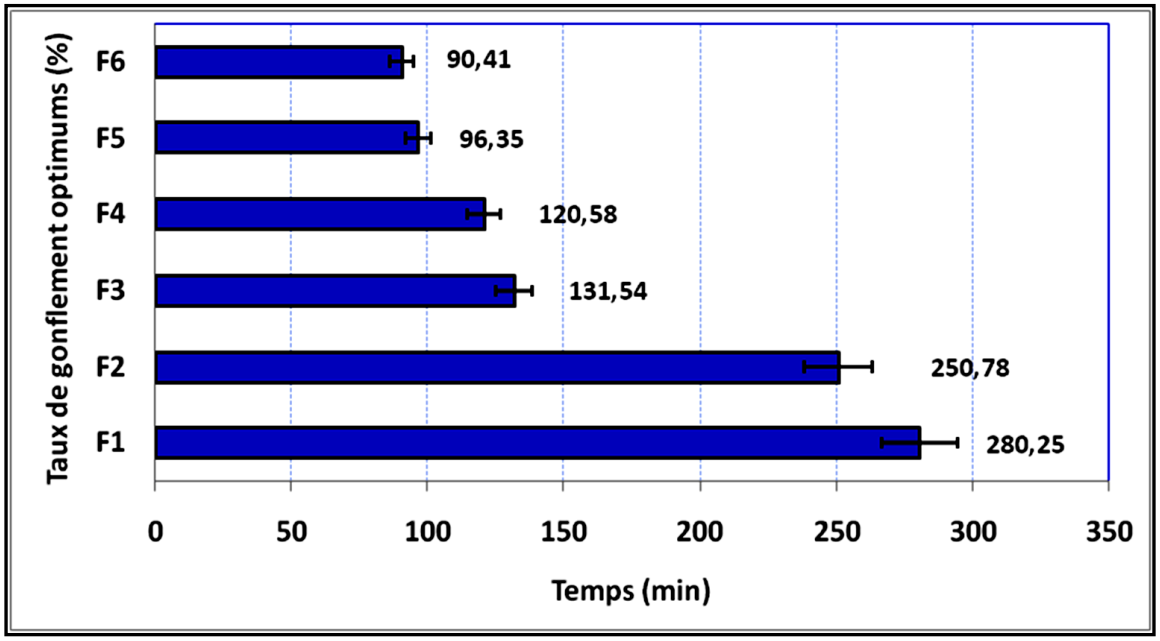


Figure 3.8. Taux de gonflement optimum des capsules(F1-F6) dans l'eau distillée.

III.3.4.2. Étude de la cinétique de gonflement des capsules en fonction du pH

L'étude de la cinétique de gonflement des capsules a été réalisée dans trois milieux différents : eau distillée, milieu acide (pH = 1.2) et milieu basique (pH = 7.4), afin de simuler les conditions physiologiques et d'évaluer le comportement des formulations (F1-F6) étudiées (**Figure 3.9**).

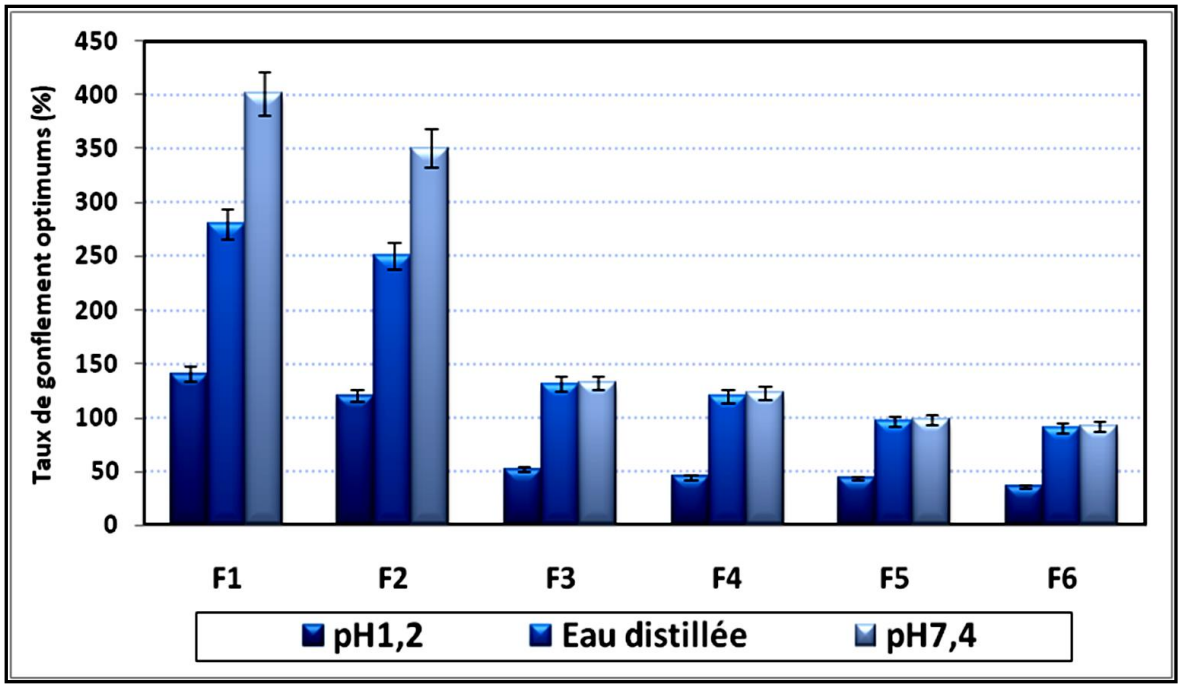


Figure 3.9. Taux de gonflement optimums des capsules (F1-F6) dans differents milieux.

a) Effet du pH sur le gonflement des capsules d'alginate (F1 et F2) : Les résultats montrent que le taux de gonflement des capsules dépend fortement du pH du milieu (**Figure 3.10**).

- **À pH = 1,2 (milieu acide)** : Le gonflement est faible pour les formulations F1 et F2. En effet, dans ces conditions, les groupements carboxylates ($-COO^-$) de l'alginate sont protonés en (-COOH), ce qui réduit les répulsions électrostatiques entre les chaînes polymériques. Le réseau devient plus compact, limitant ainsi la pénétration de l'eau.
- **À pH = 7,4 (milieu basique)** : Le gonflement est nettement plus élevé. Les groupements carboxyliques sont ionisés ($-COO^-$), ce qui engendre des répulsions électrostatiques entre les chaînes d'alginate. Cela provoque une expansion du réseau polymérique et favorise la diffusion de l'eau à l'intérieur des capsules.

- **Dans l'eau distillée** : Le comportement est intermédiaire. Le gonflement dépend principalement de l'équilibre ionique du milieu, généralement moins marqué que dans les milieux tamponnés.

Par ailleurs, la formulation F2 (2,5 % alginate) présente un gonflement plus faible que F1 (2,0 %) dans tous les milieux, ce qui confirme qu'une concentration plus élevée en alginate conduit à un réseau plus dense et moins perméable.

b) Effet du pH sur les capsules contenant la cire d'abeilles (F3 à F6) : Les formulations F3 à F6 présentent globalement des taux de gonflement plus faibles que F1 et F2 dans tous les milieux étudiés.

- **À pH = 1,2** : Le gonflement est très limité. L'effet combiné de la protonation de l'alginate et de la présence de la cire d'abeilles (hydrophobe) conduit à une structure fortement compacte, réduisant considérablement la pénétration de l'eau.
- **À pH = 7,4** : Une augmentation du gonflement est observée, mais elle reste inférieure à celle des capsules sans cire. Bien que l'ionisation des groupements carboxylates favorise l'expansion du réseau, la cire d'abeilles agit comme une barrière hydrophobe qui limite la diffusion de l'eau et réduit l'amplitude du gonflement.
- **Dans l'eau distillée** : Le gonflement reste modéré et inférieur à celui des formulations F1 et F2, en raison de la présence de la phase lipidique qui diminue l'hydrophilie globale du système.

Ce comportement dépendant du pH est caractéristique des hydrogels d'alginate et présente un intérêt majeur lors de la formulation des systèmes à libération prolongée :

- Un faible gonflement à pH 1,2 induit la protection de la vitamine C contre la dégradation acide.
- Un gonflement élevé à pH 7,4 induit la libération favorisée du principe actif.
- La présence de cire d'abeilles induit un effet retard, avec une libération prolongée du principe actif.

Ainsi, les formulations F4 et F5 apparaissent particulièrement intéressantes pour une libération prolongée, avec un meilleur taux de gonflement, tandis que F1 pourrait favoriser une libération plus rapide.

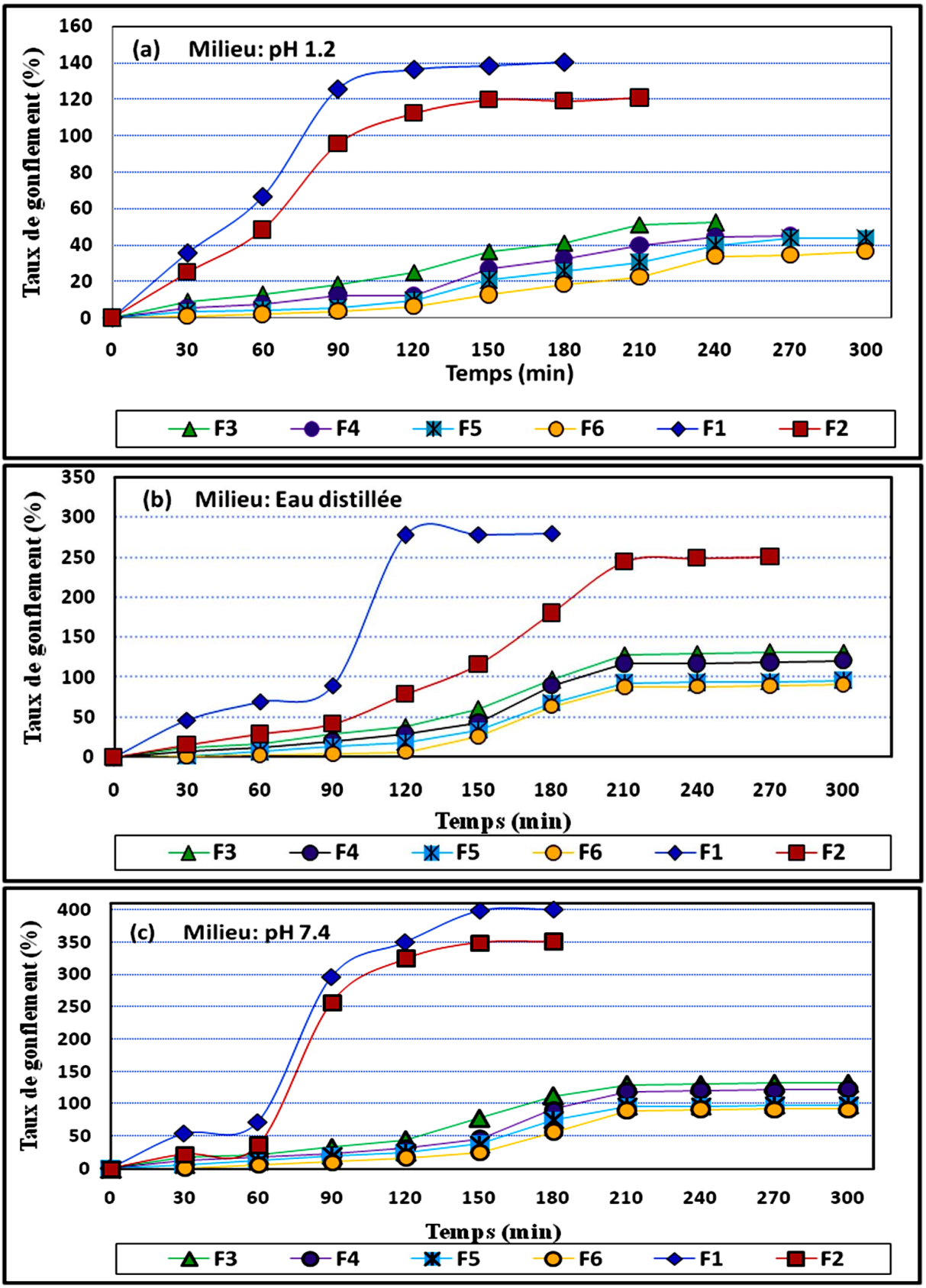


Figure 3.10. Cinétique de gonflement des capsules (F1-F6), dans différents milieux.

Le comportement de gonflement observé dans cette étude est en accord avec la littérature récente, qui montre que les hydrogels d'alginate présentent une sensibilité marquée au pH. En milieu acide, la protonation des groupements carboxylates ($–COO^-$) en (–COOH) entraîne une diminution des répulsions électrostatiques et une contraction du réseau, limitant ainsi le gonflement. En revanche, à pH neutre ou basique, l'ionisation de ces groupements provoque une augmentation des répulsions entre les chaînes polymériques, favorisant l'expansion du réseau et l'absorption d'eau. Ces résultats sont cohérents avec les travaux récents sur les hydrogels d'alginate, qui confirment leur comportement pH-dépendant et leur intérêt pour les systèmes de libération prolongée [91,92].

III.3.5. Rendement d'encapsulation

Le rendement d'encapsulation constitue un paramètre clé pour évaluer la capacité des systèmes développés à incorporer et retenir la vitamine C au sein de la matrice polymérique.

Les résultats obtenus (**Figure 3.11**) montrent que les capsules à base d'alginate seul (F1 et F2) présentent des rendements d'encapsulation satisfaisants allant de 52.25% (F1) à 58.96% (F2). Toutefois, une amélioration est observée lorsque la concentration en alginate augmente. En effet, la formulation F2 (2,5 %) présente une efficacité d'encapsulation plus élevée que F1 (2,0 %). Cette amélioration peut être attribuée à l'augmentation de la viscosité de la solution polymérique, qui limite la diffusion de la vitamine C vers le milieu externe lors du processus de gélification [93]. De plus, un réseau plus dense formé à forte concentration en alginate favorise le piégeage du principe actif et réduit les pertes par diffusion [94].

L'incorporation de la cire d'abeilles (F3 à F6) influence également de manière significative les performances d'encapsulation allant de 68.45% (F3) à 72.53% (F6). Une amélioration du rendement est observée pour les formulations contenant la cire d'abeilles par rapport à celles à base d'alginate seul [95].

Cette amélioration peut être expliquée par plusieurs facteurs :

- La cire d'abeilles, de nature hydrophobe, limite la diffusion de la vitamine C hydrosoluble vers le milieu externe lors de la formation des capsules.
- Elle agit comme une barrière physique, réduisant les pertes du principe actif pendant la gélification.

- Elle contribue à la formation d'une matrice plus compacte et moins perméable.

Par ailleurs, l'augmentation de la teneur en cire (de 10 % à 20 %) tend à améliorer davantage l'efficacité d'encapsulation.

En combinant les deux paramètres étudiés, les formulations F5 et F6 (alginate 2,5 % avec cire d'abeilles) présentent les meilleures performances en termes de rendement d'encapsulation [96]. Cela s'explique par la synergie entre un réseau polymérique dense (Alginate) et une phase hydrophobe protectrice (cire).

L'optimisation de la concentration en alginate et de la teneur en cire d'abeilles permet d'améliorer significativement la rétention de la vitamine C dans les capsules. Ces résultats confirment l'intérêt de l'association polymère–lipide pour la protection et la libération prolongée des composés hydrosolubles sensibles tel que la vitamine C [97,98].

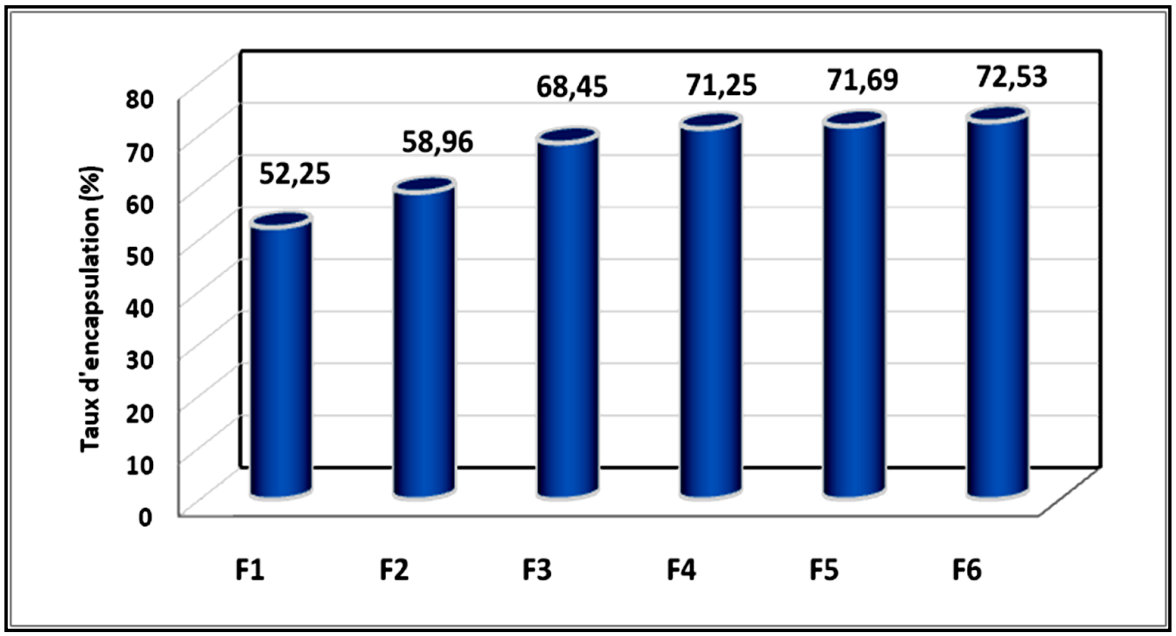


Figure 3.11. Rendement d'encapsulation des capsules formulées (F1-F6)

III.4. Étude de la libération *in vitro* de la Vitamine C à partir des capsules

L'étude de la cinétique de libération a été réalisée sur les différentes formulations de capsules (F1–F6) afin d'évaluer le comportement de libération de la vitamine C dans trois milieux simulant des conditions physiologiques : milieu acide (pH = 1.2), milieu basique (pH = 7.4) et eau distillée.

III.4.1. Profil de libération dans le milieu acide (pH = 1.2)

La **figure 3.12** illustre le profil de libération de la vitamine C encapsulée dans les différentes formulations dans le milieu acide (pH = 1.2).

Les profils de dissolution montrent une augmentation progressive des taux de vitamine C libérés en fonction du temps, suivant une cinétique non linéaire caractéristique des systèmes matriciels. Une phase initiale relativement rapide est observée, suivie d'un ralentissement conduisant à un plateau. La formulation F1 (2,0 % d'alginate) présente le taux de libération le plus élevé, atteignant environ 65.36 % après 2 heures, suivi d'une libération complète au bout de 3 heures. En revanche, une diminution significative de la libération est observée avec l'augmentation de la concentration en alginate (F2, 2.5% d'Alginate) avec un taux d'environ 58.22 % au bout de deux heures de dissolution et une libération complète à environ 3h30min.

Cette diminution peut être attribuée à plusieurs facteurs structuraux :

- **Augmentation de la densité du réseau polymérique** : une concentration plus élevée en alginate entraîne une structure plus compacte avec un enchevêtrement accru des chaînes macromoléculaires, réduisant ainsi la diffusion du principe actif [99].
- **Réduction de la porosité effective** : l'augmentation de la concentration polymérique diminue la taille et le nombre des pores disponibles pour la diffusion de la vitamine C.

Sur le plan physico-chimique, le comportement observé à pH 1,2 est également lié aux propriétés de l'alginate :

- À pH acide, les groupements carboxylates ($–COO^-$) de l'alginate sont protonés en (–COOH), ce qui diminue la solubilité du polymère.
- Cette protonation induit une contraction du réseau gélifié, réduisant l'hydratation (gonflement) et la diffusion du milieu dans la matrice.
- Il en résulte une diminution de la perméabilité des capsules et donc une libération prolongée et réduite de la vitamine C.

Par ailleurs, le mécanisme de libération dans ce milieu peut être principalement attribué à une diffusion de type Fickien, où la migration du principe actif se fait à travers un réseau polymérique peu gonflé [100].

Enfin, la faible libération observée dans ce milieu est particulièrement intéressante du point de vue pharmaceutique, car elle suggère une protection efficace de la vitamine C dans les conditions acide**,** limitant sa dégradation acide et favorisant son passage vers le milieu plus basique où son absorption est optimale [101].

Effet de la cire d'abeilles sur la libération de la vitamine C : L'introduction de la cire d'abeilles dans les formulations F3 à F6 (10 à 20 %) entraîne une diminution significative du taux de libération de la vitamine C par rapport aux formulations sans cire (F1 et F2).

Cet effet peut être expliqué par plusieurs mécanismes complémentaires :

- **Formation d'une barrière hydrophobe** : La cire d'abeilles, constituée majoritairement d'esters d'acides gras à longue chaîne, est fortement hydrophobe. Son incorporation dans la matrice d'alginate crée des zones lipophiles dispersées qui limitent la pénétration du milieu aqueux acide dans la capsule [102].
- **Diminution de l'hydratation du réseau** : À pH 1,2, l'alginate est déjà peu gonflé (protonation des groupements $–COO^-$). L'ajout de cire accentue cet effet en réduisant davantage la capacité d'imbibition du système, ce qui freine la diffusion de la vitamine C [102, 103].
- **Augmentation de la tortuosité du chemin diffusif** : La présence de domaines hydrophobes impose un trajet plus long et plus complexe au principe actif pour diffuser vers le milieu extérieur, ce qui ralentit la libération [103].
- **Effet de concentration (10 % vs 20 %)** : L'augmentation de la teneur en cire (F5, F6) renforce cet effet barrière, conduisant à une libération encore plus faible que pour les formulations à 10 % (F3, F4). Cela suggère une relation inverse entre la teneur en cire et la vitesse de libération [104].

Ainsi, dans le milieu acide, la cire d'abeilles agit en synergie avec le pH acide pour renforcer la rétention du principe actif, assurant une protection accrue contre la libération prématurée [104].

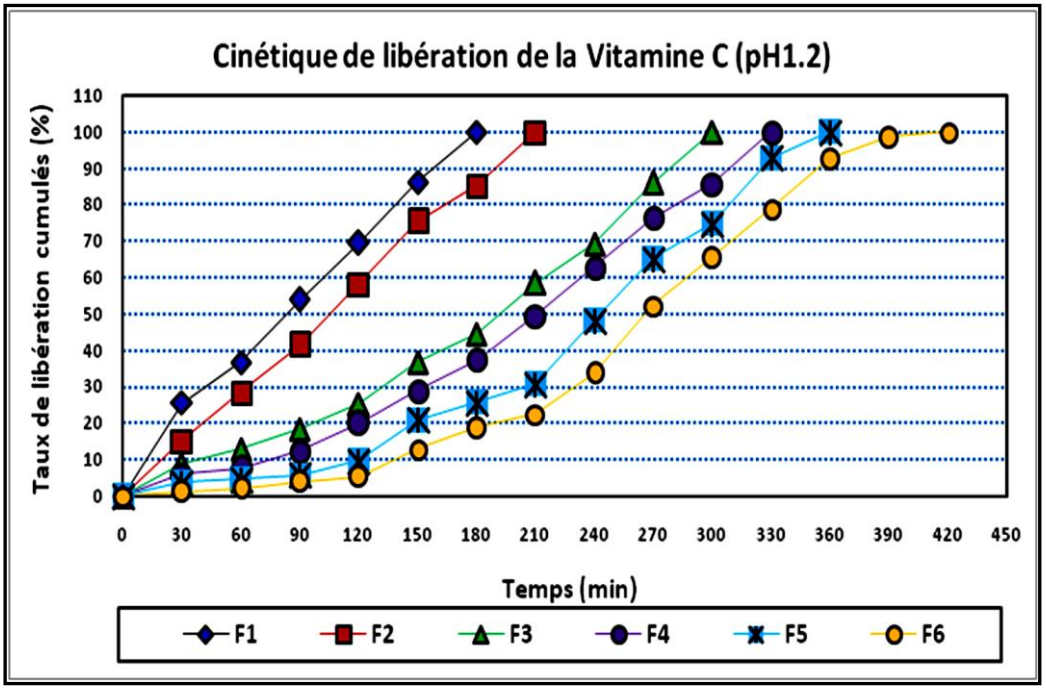


Figure 3.12. Cinétique de dissolution in vitro des capsules (F1-F6) en milieu pH1.2.

III.4.2. Profil de libération dans le milieu basique (pH = 7.4)

À pH 7.4, le comportement du système change considérablement, et l'effet de la cire d'abeilles reste déterminant mais s'exprime différemment (**Figure 3.13**).

- **Ionisation de l'alginate et gonflement du réseau** : Les groupements carboxyliques de l'alginate se déprotonent ($–COO^-$), entraînant une répulsion électrostatique entre les chaînes et un gonflement important de la matrice [105].
- **Tendance à l'érosion/désagrégation** : Le gel d'alginate devient plus poreux et peut partiellement se désintégrer, facilitant la libération de la vitamine C.

Cependant, la présence de cire d'abeilles modifie ce comportement :

- **Limitation du gonflement** : Les domaines hydrophobes freinent la pénétration de l'eau, réduisant l'expansion du réseau polymérique.
- **Maintien de l'intégrité structurale** : La cire joue un rôle de renforcement mécanique, retardant la désagrégation du gel d'alginate.
- **Libération prolongée (effet retard)** : Même si la libération est globalement plus élevée qu'à pH 1,2, les formulations contenant de la cire (F3–F6) présentent une cinétique plus lente que F1 et F2.
- **Influence de la concentration** : À 20 % de cire, l'effet retard est plus marqué qu'à 10%, traduisant une diffusion plus contrôlée et une libération plus prolongée.

Dans ce milieu, la cire d'abeilles permet donc de moduler la libération, en évitant une libération trop rapide liée au gonflement de l'alginate [105,106].

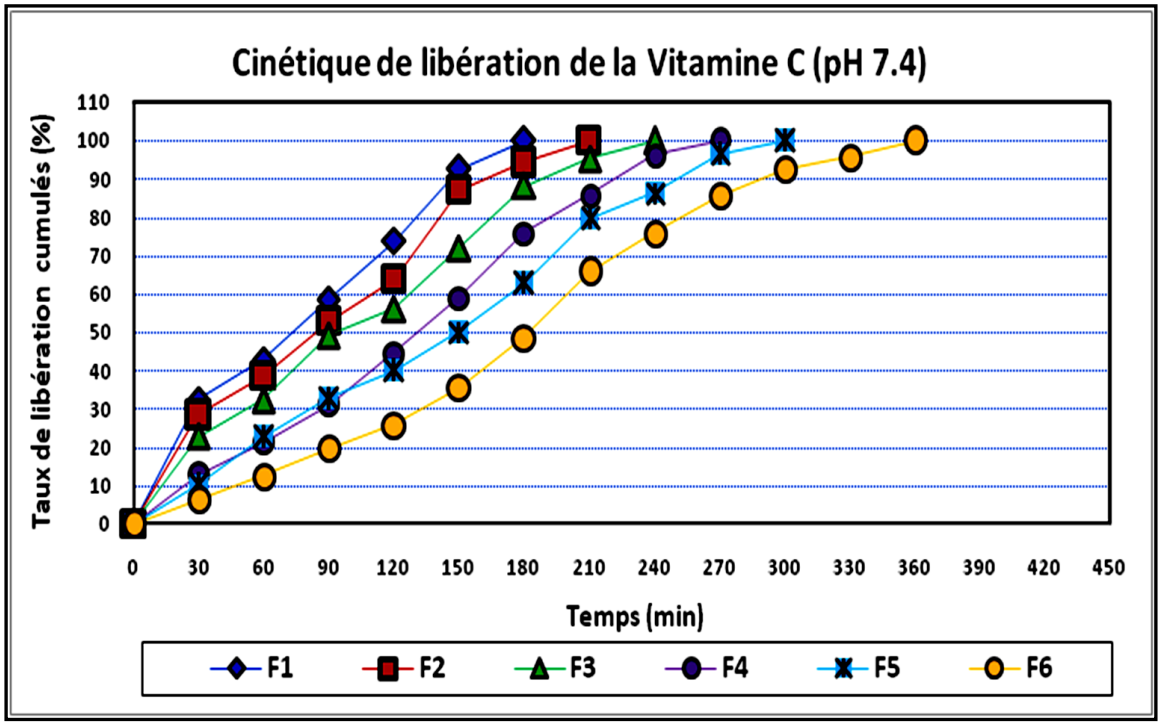


Figure 3.13. Cinétique de dissolution in vitro des capsules (F1-F6) en milieu pH 7.4.

III.4.3. Profil de libération dans l'eau distillée

Dans l'eau distillée (pH proche de la neutralité mais sans ions), le comportement est intermédiaire (**Figure 3.14**):

- Le gonflement de l'alginate est moins prononcé qu'à pH 7.4 (absence d'ions favorisant la déstructuration).
- La libération est donc modérée et principalement contrôlée par la diffusion [100, 101]**.**

Effet de la cire d'abeilles :

- Réduction de la pénétration de l'eauet donc diminution du gonflement
- Augmentation de la résistance à la diffusion
- Effet proportionnel à la concentration en cire(20 % > 15 %)

La cire agit ici comme un agent de contrôle diffusif, permettant d'obtenir une libération plus lente et plus régulière [102,103,104].

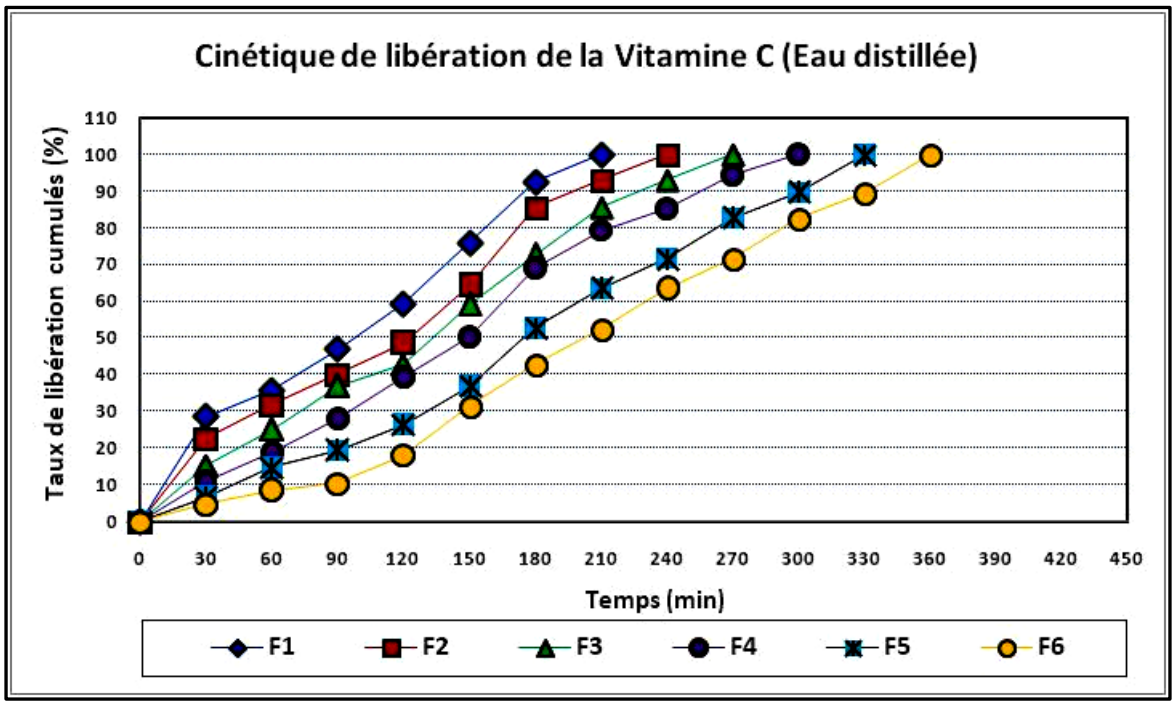


Figure 3.14. Cinétique de dissolution in vitro des capsules (F1-F6) dans l'eau distillée.

En finalité, on peut confirmer que l'incorporation de la cire d'abeilles dans les capsules d'alginate influence fortement le profil de libération de la vitamine C dans tous les milieux étudiés. Son effet principal repose sur son caractère hydrophobe, qui :

- Limite l'hydratation du système,
- Augmente la tortuosité du réseau,
- Et ralentit la diffusion du principe actif.

Cet effet est dépendant de la concentration, les formulations contenant 20 % de cire présentant les cinétiques de libération les plus lentes. Ainsi, la combinaison alginate/cire d'abeilles constitue un système prometteur pour le développement de formes à libération contrôlée**,** permettant une protection avec le suivie d'une libération progressive en milieu basique [107].

Ces résultats sont en accord avec la littérature, où il est rapporté que l'incorporation de composés lipophiles tels que les cires ou lipides dans des matrices hydrophiles entraîne une diminution significative de la libération des principes actifs, en raison de la formation de barrières hydrophobes et de l'augmentation de la tortuosité du réseau diffusif [100,102]

III.5. Contrôle qualité du gel contenant les capsules

À l'issue de la caractérisation physicochimique et fonctionnelle des microcapsules (F1 à F6), la formulation F4 a été retenue pour son incorporation dans le gel à base d'HPMC–Carbopol 934. Ce choix repose sur un ensemble de critères déterminants pour une application topique.

En effet, les microcapsules F4 présentent des propriétés mécaniques optimales, notamment une bonne souplesse, favorisant leur dispersion homogène au sein du gel et garantissant une application aisée sur la peau, sans sensation d'irrégularité ou d'inconfort. Par ailleurs, cette formulation offre un taux d'encapsulation élevé (71.25%), assurant une protection efficace de la vitamine C vis-à-vis des facteurs de dégradation, ainsi qu'un profil de libération satisfaisant, compatible avec une diffusion progressive du principe actif.

À l'inverse, les formulations F5 et F6 se caractérisent par une rigidité plus importante, susceptible de compromettre leur intégration dans la matrice gélifiée et de limiter leur étalement lors de l'application cutanée. Cette contrainte technologique constitue un inconvénient majeur pour une utilisation topique.

Ainsi, la formulation F4 représente le meilleur compromis entre performances technologiques, stabilité et confort d'utilisation, justifiant pleinement son choix pour le développement du système final.

III.5.1. Aspect macroscopique

Le gel obtenu présente un aspect homogène, translucide à légèrement opalescent. Les capsules sont uniformément dispersées dans la matrice gélifiée, sans sédimentation ni agrégation visible, ce qui témoigne d'une bonne stabilité physique du système (**Figure 3.15**).

L'absence de grumeaux et de séparation de phases confirme une bonne compatibilité entre les polymères (HPMC et Carbopol 934) et les microcapsules. La texture observée est lisse et fortement visqueuse, facilitant l'application cutanée tout en assurant une bonne adhésion à la surface de la peau.



Figure 3.15. Aspect du gel contenant les capsules

III.5.2. Mesure du pH

Le pH du gel est compris entre 5.5 et 6.0 (5.68 ± 0.85), ce qui correspond au pH physiologique de la peau. Cette valeur est obtenue grâce à la neutralisation contrôlée du Carbopol 934 par la triéthanolamine, permettant la formation d'un gel stable.

Ce pH est particulièrement favorable :

- à la tolérance cutanée, limitant les risques d'irritation.
- à la stabilité de la vitamine C, qui est sensible aux milieux trop alcalins.
- au maintien de la structure des microcapsules d'alginate, qui peuvent être affectées à des pH extrêmes.

La stabilité du pH dans cette plage indique une bonne maîtrise de la formulation et confirme la compatibilité entre les différents constituants du système.

III.5.3. Étude de l'étalement

La **figure 3.16** représente les résultats du test d'étalement exprimés en unité de surface, permettant de vérifier la capacité des gels à s'étaler sur la peau. Ainsi, chaque formulation topique doit avoir une répartition homogène lors de son étalement afin d'assurer une diffusion satisfaisante et une meilleure libération du principe actif lors de son application [90]. Un diamètre d'étalement compris entre 6.5 et 7 cm a été observé. La présence du Carbopol 934 permet au gel d'être plus visqueux et consistant, alors que la présence de

l'HPMC améliore le glissementet la texture, facilitant l'application. Par ailleurs, le gel combiné

HPMC/Carbopol 934présente un étalement modéré à bon, caractéristique des gels à haute viscosité [91]. La présence des microcapsules a légèrement réduit l'étalement, en raison de l'augmentation de la résistance mécanique du système [93]. Ainsi, le gel présente un bon compromis entre viscosité et étalement, adapté à une application cutanée contrôlée.

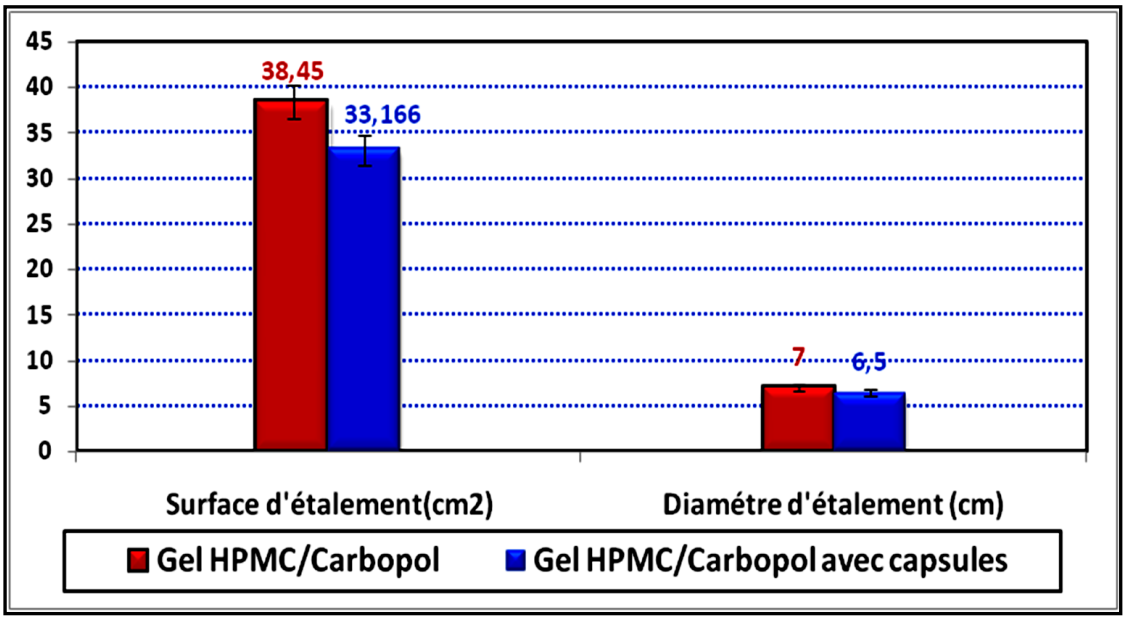


Figure 3.16. Test d'étalement des gels formulés (Avec et sans capsules).

III.5.4. Étude de la viscosité du gel

Le test de viscosité a été réalisé afin d'évaluer et de caractériser la consistance ainsi que les propriétés rhéologiques de la formulation.

La courbe d'écoulement viscosimétrique du gel formulé est représentée par la **figure 3.17.** Il est observé que la viscosité diminue progressivement avec l'augmentation des vitesses de rotation atteignant une valeur de 99700 mPa·s (à 10 rpm). Donc, le gel étudié exhibe clairement un profil rhéologique pseudoplastique non-Newtonien typique des fluides rhéofluidifiants à mesure que la viscosité diminue sous l'effet de la vitesse de rotation croissante [108].

Les résultats montrent également, que le gel présente des viscosités élevées à très faible vitesse de rotation (< 1 $tr.min^{-1}$), dont les valeurs diminuent lorsque la vitesse augmente. D'une part, les valeurs de viscosité élevées au repos, montrent que le gel formulé offrirait, éventuellement, une stabilité satisfaisante aux capsules de vitamine C après leur dispersion.

D'autre part, la diminution de la viscosité du gel avec la vitesse de rotation, indique une fluidité facilitant la manipulation et l'extraction des capsules à partir de la formule finale [109].

Cette étude montre que le gel présente un profil rhéologique optimal, permettant de garantir une stabilité élevée, une manipulation aisée, une diffusion appropriée des principes actifs, une absorption cutanée efficace et, par conséquent, l'obtention de l'effet thérapeutique escompté.

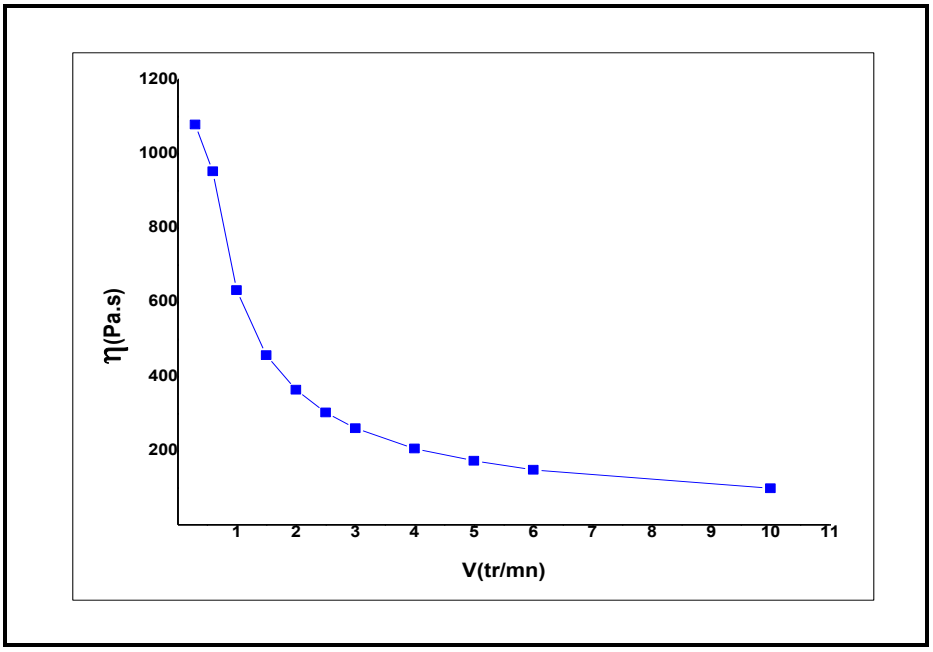


Figure 3.17. Courbe de viscosité du gel à base d'HPMC et de Carbopol 934, contenant les capsules.

III.5.5. Étude de la diffusion in vitro

Le profil de diffusion de la vitamine C met en évidence deux phases distinctes (**Figure 3.18**). Une première phase initiale, dite de *burst release*, est observée durant les 30 premières minutes du test, caractérisée par une libération rapide atteignant 36,24 % de la vitamine C. Cette libération précoce peut être attribuée à la fraction de principe actif située à la surface des microcapsules ou faiblement retenue dans la matrice.

Elle est suivie d'une seconde phase prolongée correspondant à une libération contrôlée du principe actif à partir des microcapsules et de la matrice gélifiée. Durant cette phase, la diffusion atteint 73,89 % après 120 minutes, pour culminer à 98,99 % au bout de 180 minutes.

Ces résultats traduisent un mécanisme de libération progressive sur plusieurs heures, suggérant une cinétique contrôlée gouvernée par des phénomènes de diffusion combinés :

diffusion de la vitamine C à travers le réseau gélifié et diffusion depuis les microcapsules. Par ailleurs, la présence de cire d'abeilles contribue à ralentir la libération du principe actif, en raison de son caractère hydrophobe qui agit comme une barrière limitant la pénétration du milieu de dissolution.

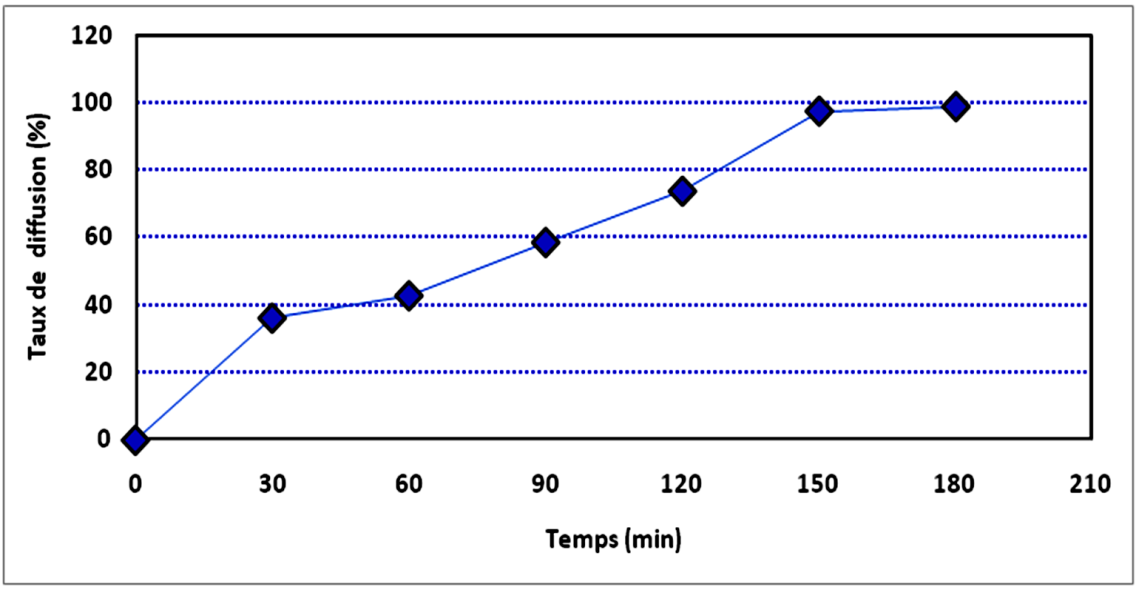


Figure 3.18. Cinétique de diffusion *in vitro* du gel à base d'HPMC et de Carbopol 934, contenant les capsules.

III.5.6. Contrôle de la qualité microbiologique

Au vu des résultats obtenus après ensemencement et lecture des boîtes incubées, les gels étudiés se révèlent conformes aux exigences de la pharmacopée européenne [12]. L'ensemble des résultats est présenté dans la **Figure 3.19**.

Le dénombrement des germes aérobies mésophiles (DGAT), indicateur de la charge microbienne globale (bactéries, levures et moisissures se développant en conditions aérobies à une température comprise entre 25 et 30 °C), montre que les gels à base d'HPMC/Carbopol, qu'ils soient vierges ou contenant des microparticules de vitamine C, présentent une charge microbiologique inférieure à la limite maximale admissible (≤ 100 UFC/g), conformément aux spécifications de la pharmacopée européenne [12]. Par ailleurs, le dénombrement des levures et moisissures totales (DMLT) révèle des valeurs conformes aux normes en vigueur, avec des résultats ne dépassant pas la limite autorisée de 10 UFC/g [12]. Concernant la recherche de microorganismes pathogènes spécifiques, notamment *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie à Gram négatif responsable d'infections

parfois sévères, les analyses mettent en évidence une absence totale de ce germe dans gels étudiés, en accord avec les exigences de la pharmacopée européenne [12].

Ainsi, l'ensemble de ces résultats atteste de la bonne qualité microbiologique des formulations développées, confirmant leur conformité aux critères de pureté microbiologique requis pour les formes dermiques [12].

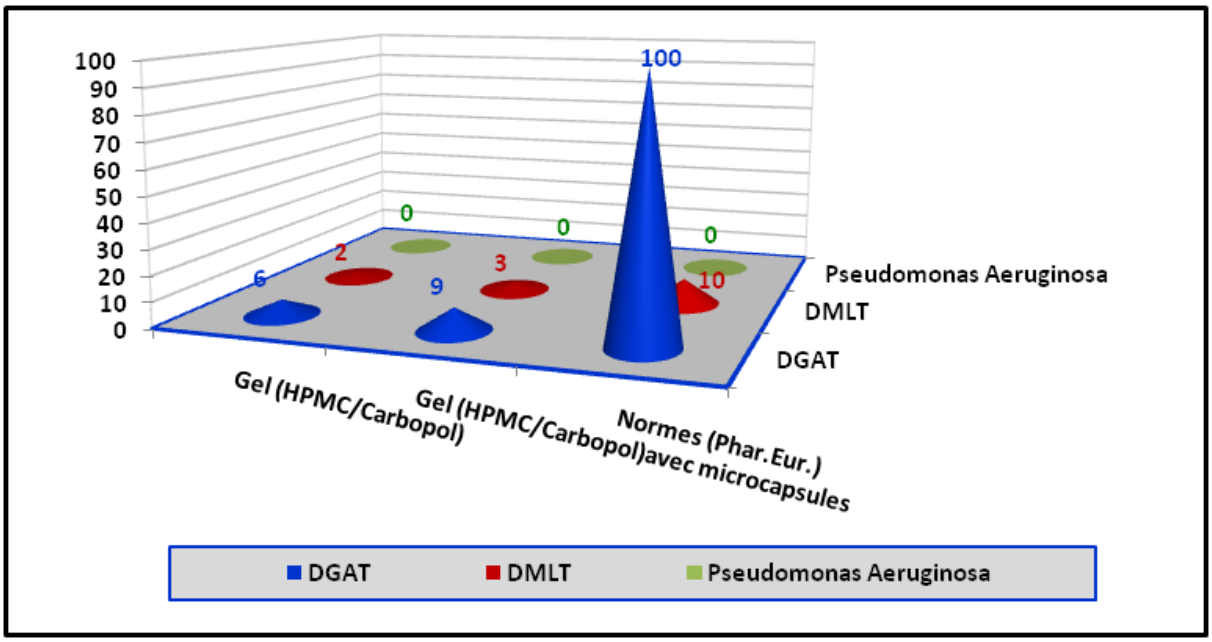


Figure 3.19. Résultats du dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT), des moisissures et levures (DMLT) et de l'absence des colonies de *Pseudomonas Aeruginosa*dans les gels (HPMC/Carbopol 934) avec et sans microcapsules.

III.6. Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail met en évidence la pertinence de l'approche adoptée pour le développement d'un système innovant de délivrance de la vitamine C, depuis la phase de préformulation jusqu'à l'élaboration d'une forme finale à usage topique.

Les études de préformulation ont confirmé la compatibilité des différents constituants de la formulation, notamment grâce à l'analyse par FTIR, qui a révélé l'absence d'interactions chimiques susceptibles d'altérer la stabilité de la vitamine C. Ces résultats ont permis de valider le choix des excipients et de poser des bases solides pour la suite du développement.

La formulation des microcapsules à base d'alginate a permis d'obtenir des systèmes présentant des caractéristiques physicochimiques satisfaisantes. L'optimisation des

paramètres de formulation, en particulier l'incorporation de la cire d'abeilles, a conduit à une amélioration notable des propriétés des capsules. En effet, la présence de cette phase hydrophobe a contribué à renforcer la structure des capsules, à améliorer leur morphologie et à moduler leur comportement de gonflement ainsi que leur profil de libération. Les résultats de rendement d'encapsulation et de libération *in vitro* ont confirmé la capacité de ces systèmes à protéger efficacement la vitamine C tout en assurant une libération prolongée.

L'intégration des microcapsules optimales dans une matrice gélifiée à base de HPMC et de Carbopol 934 constitue une avancée significative dans ce travail. Ce système combiné a permis d'associer les avantages de l'encapsulation à ceux d'une forme topique, offrant ainsi une meilleure applicabilité cutanée et une stabilité accrue du principe actif. Les essais réalisés sur le gel final ont montré des propriétés satisfaisantes en termes d'aspect, de pH, d'étalement et de stabilité, confirmant la qualité et la robustesse de la formulation développée.

Par ailleurs, les études de diffusion *in vitro* ont mis en évidence un profil de libération contrôlée, résultant de la combinaison des mécanismes de diffusion à travers la matrice gélifiée et de libération à partir des microcapsules. Cette double barrière confère au système une capacité de contrôle de la libération particulièrement intéressante pour des applications dermatologiques.

En définitive, ce travail démontre que l'association microcapsules d'alginate/cire d'abeilles– gel polymérique constitue une stratégie efficace pour améliorer la stabilité, la protection et la libération contrôlée de la vitamine C. Cette approche ouvre des perspectives prometteuses dans le domaine des formulations topiques, notamment pour le développement de produits dermocosmétiques ou pharmaceutiques à base de principes actifs sensibles.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le présent travail a été consacré au développement d'un système innovant de délivrance de la vitamine C, un principe actif reconnu pour ses propriétés antioxydantes et dermatologiques, mais dont la stabilité reste un défi majeur en formulation. L'objectif principal a été de concevoir une forme pharmaceutique capable de protéger efficacement la vitamine C tout en assurant une libération contrôlée, adaptée à une application topique.

Les études de préformulation ont constitué une étape essentielle, permettant de caractériser les matières premières et de vérifier leur compatibilité. Les analyses réalisées, notamment par spectroscopie FTIR, ont confirmé l'absence d'interactions chimiques indésirables, validant ainsi le choix des excipients et garantissant la stabilité potentielle du principe actif au sein des systèmes développés.

La mise au point des microcapsules à base d'alginate a permis d'obtenir des structures capables d'encapsuler la vitamine C avec un rendement satisfaisant. L'optimisation de la formulation, en particulier par l'ajout de cire d'abeilles, a permis d'améliorer significativement les propriétés des capsules. Cette phase hydrophobe a joué un rôle déterminant dans le renforcement structural, la modulation du gonflement et le ralentissement de la libération du principe actif, contribuant ainsi à une meilleure protection contre les facteurs de dégradation.

Dans une perspective d'application dermique, une approche originale a été adoptée en incorporant les microcapsules optimales dans une matrice gélifiée combinant deux polymères complémentaires, HPMC et Carbopol 934. Ce système hybride a permis d'associer les avantages de l'encapsulation et ceux d'un gel topique, offrant ainsi une bonne applicabilité cutanée, une stabilité physique satisfaisante et une distribution homogène des microcapsules.

Les différents essais de contrôle qualité réalisés sur le produit fini ont confirmé la conformité de la formulation en termes d'aspect, de pH, d'étalement et de stabilité. Par ailleurs, les études de diffusion *in vitro* ont mis en évidence un profil de libération prolongée, résultant de la combinaison des mécanismes de diffusion à travers la matrice gélifiée et de relargage à partir des microcapsules. Ce comportement démontre l'efficacité du système développé pour assurer une libération contrôlée de la vitamine C.

Ainsi, ce travail met en évidence l'intérêt d'une stratégie combinée reposant sur l'association de microcapsules d'alginate enrichies en cire d'abeilles et d'un gel polymérique, permettant d'améliorer simultanément la stabilité, la protection et la biodisponibilité locale du principe actif. Cette approche constitue une alternative prometteuse pour le développement de formulations topiques innovantes, notamment dans les domaines pharmaceutique et dermocosmétique.

Enfin, des perspectives intéressantes peuvent être envisagées pour approfondir cette étude, notamment par la réalisation de tests de perméation cutanée, d'études *in vivo*, ainsi que l'évaluation de l'efficacité biologique et clinique du système développé. L'optimisation des paramètres de formulation et l'exploration d'autres polymères ou agents encapsulants pourraient également contribuer à améliorer davantage les performances du système.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1] Pullar JM, Carr AC, Vissers MCM. The roles of vitamin C in skin health. Nutrients. 2017;9(8):866.

[2] Carr AC, Maggini S. Vitamin C and immune function. Nutrients. 2017;9(11):1211.

[3] Stability of ascorbic acid: a review of degradation mechanisms. Food Chemistry. 2021;336:127700.

[4] McClements DJ. Advances in the encapsulation, protection, and release of hydrophilic vitamins. Trends in Food Science & Technology. 2020;103:145–160.

[5] Lee KY, Mooney DJ. Alginate: properties and biomedical applications. Progress in Polymer Science. 2012;37:106–126.

[6] Goh CH, et al. Recent advances in alginate-based delivery systems. Carbohydrate Polymers. 2022;285:119243.

[7] Davies MB, Austin J, Partridge DA. Vitamin C: Its Chemistry and Biochemistry. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 1991.

[8] Hickey S, Saul AW. Vitamin C: The Real Story – The Remarkable and Controversial Healing Factor. Basic Health Publications; 2008.

[9] Rossant L. Les intoxications de l'enfant. Paris: Presses Universitaires de France; 1977.

[10] Desaulniers M, Dubost M. Table de composition des aliments. Montréal: Université de Montréal; 2003.

[11] Valdez L. Encyclopedia of Vitamins: New Research. Nova Science Publishers; 2019.

[12] European Pharmacopoeia Commission. Ascorbic Acid (Acidum ascorbicum). European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg: Council of Europe; 2019. p.1877–1879.

[13] Streller S, Roth K. Der langeKampfgegen Skorbut. Chemie in unserer Zeit. 2009;43(1):38–54.

[14] Duncan SE, Chang HH. Implications of light energy on food quality and packaging selection. In: Henry J, editor. Advances in Food and Nutrition Research. Vol. 67. Academic Press; 2012. p.25–73.

[15] Grosso G, Bei R, Mistretta A, et al. Effects of vitamin C on health: a review of evidence. Frontiers in Bioscience. 2013;18:1017–1029.

[16] Schlueter AK, Johnston CS. Vitamin C: overview and update. Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine. 2010;16(1):49–57.

[17] Al-Niaimi F, Chiang NYZ. Topical vitamin C and the skin: mechanisms of action and clinical applications. Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology. 2017;10(7):14–17.

[18] Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C. American

Journal of Clinical Nutrition. 1999;69(6):1086–1107.

[19] Padayatty SJ, Levine M. Vitamin C: the known and the unknown. Oral Diseases. 2016;22(6):463–493.

[20] Naidu KA. Vitamin C in human health and disease. Nutrition Journal. 2003;2:7.

[21] Chambial S, et al. Vitamin C in disease prevention and cure. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2013;28(4):314–328.

[22] Frei B, England L, Ames BN. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human plasma. PNAS. 1989;86(16):6377–6381.

[23] Duarte TL, Lunec J. Novel actions and reactions of vitamin C. Free Radical Research. 2005;39(7):671–686.

[24] Hemilä H. Vitamin C and infections. Nutrients. 2017;9(4):339.

[25] Wintergerst ES, Maggini S, Hornig DH. Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. Annals of Nutrition and Metabolism. 2006;50(2):85–94.

[26] Mandl J, Szarka A, Bánhegyi G. Vitamin C: update on physiology and pharmacology. British Journal of Pharmacology. 2009;157(7):1097–1110.

[27] Mousavi S, Bereswill S, Heimesaat MM. Immunomodulatory and antimicrobial effects of vitamin C. European Journal of Microbiology and Immunology. 2019;9(3):73–79.

[28] Levine M, et al. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers. PNAS. 1996;93(8):3704–3709.

[29] Padayatty SJ, et al. Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. Annals of Internal Medicine. 2004;140(7):533–537.

[30] Comunian TA, et al. Encapsulation of vitamins and minerals in food products. Food Research International. 2021;140:109777.

[31] Ye Q, Georges N, Selomulya C. Microencapsulation of active ingredients in functional foods. Trends in Food Science & Technology. 2018;78:167–179.

[32] Comunian TA, et al. Encapsulation of ascorbic acid by complex coacervation. Food Research International. 2013;52:373–379.

[33] Estevinho BN, et al. Microencapsulation of vitamin C by spray drying. Food and Bioproducts Processing. 2013;91:346–353.

[34] Ghorbanzade T, et al. Nanoencapsulation of vitamin C using biopolymers. Carbohydrate Polymers. 2017;157:862–871.

[35] Desai KGH, Park HJ. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. Drying Technology. 2005;23:1361–1394.

[36] Siepmann J, Peppas NA. Higuchi equation: derivation and applications. International Journal of Pharmaceutics. 2011;418:6–12.

[37] Peppas NA, Sahlin JJ. A simple equation for description of solute release. International

Journal of Pharmaceutics. 1989;57:169–172.

[38] Agnihotri SA, Mallikarjuna NN, Aminabhavi TM. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles. Journal of Controlled Release. 2004;100:5–28.

[39] George M, Abraham TE. Polyionic hydrocolloids for intestinal delivery of protein drugs. Journal of Controlled Release. 2006;114:1–14.

[40] Anal AK, Singh H. Microencapsulation of probiotics. Trends in Food Science & Technology. 2007;18:240–251.

[41] Grenha A. Chitosan nanoparticles: preparation methods. Journal of Drug Targeting. 2012;20:291–300.

[42] Mozafari MR, et al. Nanocarrier Technologies: Frontiers of Nanotherapy. Springer; 2008.

[43] Socha M. Apport des nanotechnologies dans le domaine des peptides et protéines. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré Nancy 1; 2008.

[44] Reis CP, Neufeld RJ, Vilela S, Ribeiro AJ, Veiga F. Emulsion/dispersion technology using internal gelation for alginate particles. Journal of Microencapsulation. 2006;23(3).

[45] Paques JP. Formation of alginate nanospheres. PhD Thesis. Wageningen University; 2014.

[46] Dibene K, Fourar S. Effet du chitosane sur les propriétés des microparticules de prednisone. Mémoire. Université de Bejaia; 2016.

[47] Zhu Y. Immobilized cell fermentation for production of chemicals and fuels. Bioprocessing for Value‐Added Products from Renewable Resources. 2007;373–396.

[48] Smrdel P, Bogataj M, Mrhar A. Influence of parameters on alginate beads prepared by ionotropic gelation. Pharmaceutical Development and Technology. 2008.

[49] Uyen NTT, Hamid ZAA, Tram NXT, Ahmad N. Fabrication of alginate microspheres for drug delivery: a review. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;153.

[50] Vincent E. Les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie. Thèse. Université Henri Poincaré Nancy 1; 2010.

[51] Su Hung C, Nidhi B, Bhesh B. Alginate gel particles: production techniques and properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2017;57(6):1133–1152.

[52] Abhilash P, Thomas D. Biopolymers for biocomposites and chemical sensor applications. In: Biopolymer Composites in Electronics. Elsevier; 2017. p.405–435.

[53] Aravamudhan A, Sangamesh GK. Natural polymers. In: Natural and Synthetic Biomedical Polymers. Elsevier; 2014. p.67–89.

[54] Chen F, et al. Controlled release of antacids from biopolymer microgels. Food Research International. 2018;106:745–751.

[55] Ching SH, Bansal N, Bhandari B. Alginate gel particles: production techniques and physical properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2014;57(6).

[56] Bouderga M. Adsorption du vert malachite par composites alginate/bentonite. Mémoire.

Université de Tlemcen; 2015.

[57] Jyothi NVN, Prasanna PM, Sakarkar SN, Prabha KS, Ramaiah PS, Srawa GY. Microencapsulation techniques and factors influencing efficiency. Journal of Microencapsulation. 2010;27(3):187–197.

[58] Agarwal A, Abbott NL. Polymeric materials for chronic wound and burn dressings. In: Advanced Wound Repair Therapies. Woodhead Publishing; 2011. p.186–208.

[59] Zhang Z, Zhang R, Zou L, McClements DJ. Protein encapsulation in alginate hydrogel beads. Food Hydrocolloids. 2016.

[60] Poe K, McQuade DT. Microcapsule-enabled multicatalyst reaction. Journal of the American Chemical Society. 2007;129(29):9216–9221.

[61] Nguyen TTT, Hamid ZAA, Tram NXT, Ahmad N. Fabrication of alginate microspheres for drug delivery: a review. 2019.

[62] Andrieux K, Desmaele D, D'Angelo J, Couvreur P. Nanotechnologie drugs. L'Actualité Chimique. 2003;135–139.

[63] Benoit JP, Couvreur P, Devissaguet JP. New systems for drug administration. Journal de Pharmacie de Belgique. 1986;41:319–329.

[64] Bangham AD, Standish MM, Watkins JC. Diffusion of univalent ions across phospholipid lamellae. Journal of Molecular Biology. 1965;13:238–252.

[65] Richard J, Benoit JP. Microencapsulation. Techniques de l'Ingénieur. 2000.

[66] Ertan I. Sustained-release dosage form of nitrofurantoin: preparation and release kinetics. Journal of Microencapsulation. 1994;11:127–135.

[67] Decker EA. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. PhD Thesis. Université de Nantes; 2007.

[68] Thies C. A short history of microencapsulation technology. In: Microspheres, Microcapsules and Liposomes. London: Citus Books; 1999.

[69] Wijffels R. Immobilized Cells. Springer Lab Manual. Springer-Verlag; 2001.

[70] Poncelet D. Life is based on a combination of biochemistry and bioencapsulation. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2007;6:685–686.

[71] Vandamme T, Poncelet D, Subra-Paternault P. Microencapsulation: des sciences aux technologies. Paris: Tec & Doc.

[72] Soper J. Utilization of coacervated flavors. ACS Symposium Series. 1995;590:104–112.

[73] Dziezak JD. Microencapsulation and encapsulated ingredients. Food Technology. 1988;42:136–153.

[74] Patwardhan SA, Das KG. Microencapsulation. In: Controlled Release Technology. John Wiley; 1983. p.121–141.

[75] Risch SJ. Encapsulation: overview of uses and techniques. ACS Symposium Series. 1995;590:2–7.

[76] Barratt G. Colloidal drug carriers: achievements and perspectives. Cellular and Molecular Life Sciences. 2003;60:21–37.

[77] British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia 2023**.** London: The Stationery Office; 2023.

[78] Sheskey PJ, Hancock BC, Moss GP, Goldfarb DJ, editors. Handbook of pharmaceutical excipients. 9th ed. London: Pharmaceutical Press; 2020.

[79] Chan, E. S., Lim, T. K., &Voo, W. P. Effect of formulation of alginate beads on their mechanical properties and release behavior**.**Journal of Microencapsulation, 2011; 28(7), 605–613.

[80] Lee, K. Y., & Mooney, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. Biomaterials, 2012; 33, 106–126.

[81] Draget, K. I., Smidsrød, O., &Skjåk-Bræk, G. Alginates from algae. In: Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry, 2005.

[82] Desai, A. P., & Desai, S. UV spectroscopic method for determination of vitamin C. Int J Environ Sci Nat Res, 2019; 21(2).

[83] Stanciu, I. Study of the chemical composition of vitamin C. Journal of Research in Chemistry, 2026; 7(1), 28–30.

[84] Alhajjeh, R., & Al-Ali, H. Application of FTIR spectroscopy method. Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences, 2024; 32(3), 186–194.

[85] El Agrebi, N., et al. Adulteration of beeswax. PLoS ONE, 2021; 16(9): e0252806.

[86] Lambers, H., et al. Natural skin surface pH. International Journal of Cosmetic Science, 2006; 28(5), 359–370.

[87] Ali, S. M., Yosipovitch, G. Skin pH: From basic science to basic skin care. ActaDermato-Venereologica, 2013; 93(3), 261–267.

[88] Proksch, E. pH in nature, humans and skin. Journal of Dermatology, 2018; 45(9), 1044–1052.

[89] Malektaj, H., Drozdov, A.D., & Christiansen, J. Swelling of homogeneous alginate gels with multi-stimuli sensitivity.International Journal of Molecular Sciences, 2023; 24, 5064.

[90] Wang, Y. et al. Biocomposite hydrogels based on alginate: swelling behavior and mechanical properties. Scientific Reports, 2024; 14, 12864.

[91] Shivakumara LR, Demappa T. Synthesis and Swelling Behavior of Sodium Alginate/Poly(vinyl alcohol) Hydrogels. Turk J Pharm Sci. 2019,16(3):252-260.

[92] Ciarleglio G, Cinti F, Toto E, Santonicola MG. Synthesis and Characterization of Alginate Gel Beads with Embedded Zeolite Structures as Carriers of Hydrophobic Curcumin. Gels. 2023,3;9(9):714.

[93] MengjieGeng, Lijia Li, Xiangyun Tan, FeiTeng, Yang Li,W/O/W emulsion-filled sodium alginate hydrogel beads for co-encapsulation of vitamins C and E: Insights into the fabrication, lipolysis, and digestion behavior,Food Chemistry,Volume,2024, 457.

[94] Jafarirad S, Nateghi L, Moslemi M, Afshari KP, Khosravi-Darani K. Encapsulation of bioactive peptides derived from *Sargassumangustifolium* algae using calcium alginate and chia gum. Food Chem X, 2025; 29:102787.

[95] Premjit, Y., Pandey, S., &Mitra, J. Encapsulation of probiotics in freeze-dried calcium alginate and κ-carrageenan beads using definitive screening design: A comprehensive characterisation and in vitro digestion study. *International Journal of Biological Macromolecules,* 2024; 258, 129279.

[96] Sikora, E., Łętocha, A., Michalczyk, A., &Miastkowska, M. Encapsulation of Acid Whey in Alginate Microspheres for Application in Skin Microbiome-Friendly Topical Formulations: Optimization Through a Design of Experiments Approach. *Molecules*, 2025, *30*(19), 3907.

[97] Nemickaitė, E., Žlabienė, U., Mazurkevičiūtė, A., Marksa, M., &Bernatonienė, J. Formulation of W/O/W Emulsion-Based Chitosan-Alginate Microcapsules for Encapsulation of Cannabidiol and *A. annua L.* Extract Containing Luteolin and Apigenin: A Response Surface Optimization Approach. Pharmaceutics**,** 2025; *17*(3), 309.

[98] Wardhani, D. H., Ulya, H. N., Nugroho, F., Widayat, Abdullah, Sasongko, S. B., Hadiyarto, A., &Nugroho, A. Vitamin C encapsulation by a gelation method using deacetylatedglucomannan as a matrix**.** *Journal of King Saud University - Science*, 2020; 32(7), 3054-3059.

[99] Lee, K. Y., & Mooney, D. J. Alginate. ProgPolym Sci, 2012; 37(1), 106–126.

[100] Siepmann, J., &Peppas, N. A. Higuchi equation. Int J Pharm, 2011; 418(1), 6–12.

[101] Korsmeyer, R. W., et al. Mechanisms of solute release. Int J Pharm, 1983; 15(1), 25–35.

[102] Jannin, V., et al. Lipid-based formulations. Adv Drug Deliv Rev, 2008; 60(6), 734–746.

[103] Garti, N., &Aserin, A. Double emulsions. Adv Colloid Interface Sci, 1996; 65, 37–69.

[104] Müller, R. H., et al. SLN and NLC. Adv Drug Deliv Rev, 2002; 54, S131–S155.

[105] George, M., & Abraham, T. E. Polyionic hydrocolloids. J Control Release, 2006; 114(1), 1–14.

[106] Sriamornsak, P. Chemistry of pectin. SilpakornUnivInt J, 1998; 1, 206–228.

[107] Anal, A. K., & Singh, H. Microencapsulation of probiotics. Trends Food Sci Technol, 2007; 18(5), 240–251.

[108] Al-Bazzaz, Y., & Ismail, S. T. HPMC/Carbopol gel. Pharmakeftiki, 2024; 36(2).

[109] Aziza, F. N., et al. Optimization of HPMC and Carbopol. Indonesian Journal of Pharmacy, 2025; 36(3), 479–488.