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 Macromoléculaires

Par :

RIHANE KAMEL

BELBAHI YOUCEF

Mise en application de quelques polymères

Soutenue publiquement le : 15 /09 / 2020, Devant le jury composé de :

Mme. ARBIA. W	MCA	UYFM	Présidente
Mme. MADANI. L	MCA	UYFM	Examinatrice
Mme. BOUCHERITE. N	MCA	UYFM	Encadreur

Année universitaire2019/2020

ملخص

كان الهدف الأولي لعملنا هو إعداد و دراسة خصائص الجسيمات الدقيقة للألجينات المملوءة بمادة فعالة باستخدام طريقة الاستحلاب/ الهلامية الداخلية و هذا باستخدام طريقة TAGUCHI.

في الواقع و بسبب جائحة كورونا ' تم تغيير هذا الهدف من ناحية إلى دراسة نظرية معمقة توضح بالتفصيل الطريقة المستهدفة ، و من ناحية أخرى قمنا بدراسة ومعالجة بحث تجريبي يهدف إلى تغليف ديكلوفينات الصوديوم في كريات الألجينات المجهرية الدقيقة .

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الطريقة المتبعة ضرورية لتحقيق خصائص هذه الجسيمات ، مثل الخصائص الفيزيو -كيميائية ، البيوصيدلانية..

وبالتالي ،فإنه تم دراسة تأثير العوامل التي تعتمد عليها التركيبة مثل : تركيز المستحلب ،سرعة التحريك ونسبة الجزء المائي والعوامل التي تعتمد عليها العملية ،وهي :تركيز الألجينات ،النسبة الكتلية الكالسيوم / الألجينات، و تركيز المستحلب،على توزيع حجم الكريات الدقيقة ،وكفاءة التغليف وإفراز ديكلوفيناك الصوديوم

الكلمات الجوهرية :ألجينات ، ديكلوفيناك الصوديوم، استحلاب ،الهلام الداخلي ،المادة الفعالة، تغليف مجهري ،كريات مجهرية

Résumé

L'Objectif initial de notre travail était de préparer et de caractériser les microsphères d'alginate chargées d'un principe actif en utilisant la technique d'émulsification/gélification interne et ceci par la méthode de TAGUCHI.

En effet, et à cause de l'épidémie du Corona virus, cet objectif a été changé d'une part vers une étude théorique approfondie détaillant la méthode d'émulsification/gélification interne. D'autre part, le traitement d'un travail de recherche visant à encapsuler le diclofénac de sodium dans des microsphères d'alginate a été mis en évidence. Les résultats obtenus ont montré que la méthode conçue est primordiale pour atteindre les caractéristiques de celles-ci, telles que les propriétés physico-chimiques et biopharmaceutiques. Par conséquent, l'influence des paramètres dont dépend la formulation tels que : la vitesse d'agitation, le rapport molaire principe actif/alginate de sodium et la concentration d'émulsifiant, sur la distribution des tailles des microsphères, le rendement et l'efficacité d'encapsulation ainsi que la libération de diclofénac de sodium a été évalué.

Mots clés : Alginate, Diclofénac sodique, Emulsification, Gélification interne, Microencapsulation, Microsphère.

Abstract

The initial objective of our work was to prepare and characterize the alginate microspheres charged with an active ingredient using the emulsification / internal gelation technique and this by TAGUCHI method.

Indeed, and because of the pandemic of the Corona virus, this objective has been changed on the one hand to an in depth theoretical study detailing the emulsification / internal gelation method. On the other hand, the treatment of a research work aimed at encapsulating diclofenac sodium in alginate microspheres has been demonstrated..

The obtained results have shown that the method designed is essential to achieve the characteristics of these, such as physico-chemicals and biopharmaceuticals properties.

Consequently, the influence of the parameters on which the formulation depends such as: the emulsifier concentration, the stirring speed and the proportion of the aqueous phase and those on which the process depends, namely: the alginate concentration, the Calcium / Alginate mass ratio and the emulsifier concentration, on the size distribution of the microspheres, the encapsulation efficiency and the diclofenac sodium release was evaluated.

Key words : Alginate, diclofenac sodium , emulsification , Internalgelation, Active ingredient, Microencapsulation, Microsphere.

Remerciement

En premier lieu, nous tenons à remercier DIEU le tout Puissant de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Ce travail ne saurait être aussi riche et n'aurait pas vu le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme BOUCHERIT Nabila, nous la remercions beaucoup pour tous ses commentaires et encouragements, son support infini et d'avoir nous a donné de son temps pour la réussite de notre travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements aux membres du jury : Mme ARBIA.W et Mme MADANI.L, qui ont pris le temps et le soin pour l'évaluation de ce travail.

Ce travail, réalisé, au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté des Sciences de l'Université Yahia Fares de Médéa,

Où nous exprimons nos remerciements aux personnels membres pour leur aide infini.

Dédicaces

Merci Allah qui donne la capacité d'écrire et de réfléchir**.**

Avec toute modestie, je dédie ce travail : A mes chers parents pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leur prière tout ou long de mes études.

A ma femme pour son encouragement permanent et son soutien moral.

A mes enfants Majd, Jawed et ma petite fille Hanine.

je le dédie particulièrement à mon binôme Youcef.

A toute ma famille.

A tous mes amis.

A tous mes enseignants et mes collègues de la spécialité Chimie Macromoléculaire.

A tous ceux qui sont proches de mon cœur et dont je n'ai pas cité le nom.

Kamel

Dédicaces

Merci Allah qui donne la capacité d'écrire et de réfléchir.

Avec toute modestie, je dédie ce travail : A mes parents les deux les plus chères à mon cœur pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leur prière tout ou longue de mes études.

A mes frères : Ben Azouz, Yahya, Abed Alaziz

A mes sœurs : Asmaa, Chaimaa

Je le dédie particulièrement à mon binôme kamel.

A mes très chers amis : Farouk Ben zarga, Abed Alkader Belkhayret, Boualami Mohammed, et tous mes amis

A tous mes enseignants et mes collègues de la spécialité Chimie Macromoléculaire et Chimie Pharmaceutique

A tous ceux qui sont proches de mon cœur et dont je n'ai pas cité le nom.

Youcef

Sommaire

Liste des figures Liste des tableaux Abréviations et nomenclature	
Introduction générale	1
Chapitre I : La Microencapsulation	
I.1. Introduction	4
I.2. Généralités	5
I.2.1.Définition	5
1.2.2. Objectifs et domaines d'application	5
a. Immobilisation	5
b. Protection	5
c. Vectorisation	6
d. Structuration	6
I.3. Caractérisation des microparticules	7
I.3.1. Classification	7
a. La microcapsule	7
b. La microsphère	8
I.3.2. Composition	8
a. Molécules à encapsuler	8
b. Les matériaux enrobant	8
c. Autres additifs	9
I.3.3. Caractérisation	9
a. Taille	9
b. Structure interne et externe	9
c. Quantification de l'actif encapsulé	10
d. Cinétique de libération	10
I.4. Procédés de microencapsulation	11
I.4.1. Procédés physico-chimiques	11
I.4.2. Procédés chimiques	11
I.4.3. Procédés mécaniques	12
a. Procédé de nébulisation/séchage	12

b. Gélification ou Congélation de gouttes	13
I.5. Libération modifiée	14
I.5.1. Concept de la libération modifiée	14
I.5.2. Mécanisme de la libération modifiée d'une substance active	14
I.5.3. Modèles théoriques de la libération modifiée	15
a. Diffusion de Fick	15
b. Modèles de diffusion non Fickiens	15
c. Modèle d'Higuchi	16
d. Modèle de Welbull	16
I.5.4 Paramètres influençant de la libération modifiée	16
Chapitre II : Les Biopolymères	
II.1.Introduction	17
II.2. Définition	17
II.3.Différentes familles des biopolymères	17
II.3.1.Les polysaccharides	18
a. La cellulose	18
b. Le chitosane	19
c. Les alginates	20
II.3.2. Les protéines	23
II.3.3.Les polymères d'origine microbienne	23
II.3.4. Les biopolymères synthétiques	24
II.4.Propriétés des biopolymères	24
II.4.1.Biodégradabilité	24
II.4.2.Biocompatibilité et biorésorbabilité	24
II.5.Applications des biopolymères	25
II.5.1. Emballages et alimentation	25
II.5.2. Domaine médicale	26
II.5.3. Agriculture et horticulture	26
II.5.4. Autres applications	27
Chapitre III : Application de l'émulsification/gélification interne	
III.1. Introduction	28

III.2. Problématique de la recherche	28
III.3. Applications de l'émulsification/gélification interne	30
III.3.1. Principe de la formulation	30
a. Préparation de l'émulsion	30
b. Préparation des microsphères	30
III.3.2. Matières encapsulées	31
a. Molécules et micro-organismes biologiques	31
b. Principes thérapeutiques	32
III.4.Récapitulation du travail de recherche sur le diclofénac sodique [70]	33
III.4.1. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation	33
a. Présentation des paramètres étudiés	33
b. Protocole expérimental d'émulsification-gélification interne	33
c. Caractérisation morphologique et granulométrique	35
d. Quantification des paramètres d'encapsulation	35
e. Etude de cinétique de libération in vitro du DS	35
III.4.2. Résultats et discussions	36
a. Caractérisation morphologique et granulométrique	36
b. Quantification des paramètres d'encapsulation	37
c. Etude de cinétique de libération in vitro de diclofénac sodique	38
Chapitre IV : Partie expérimentale	
IV.I. Introduction	44
IV.2. Matières premières	44
IV.2.1. Principe actif	44
IV.2.2 Excipients	45
a. Huile d'olive	45
b. Alginate de sodium	45
c. Chitosane	45
d. Span 80	47
e. Autres réactifs chimiques	48
IV.2.3. Matériel	48
IV.3. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation	48

IV.3.1. Caractérisations spectrales des matières premières	48
a. Caractérisation par UV-Vis du PA	48
b. Caractérisation des matières premières par FTIR	49
IV.3.2. Préparation des microparticules	50
a. Préparation des solutions tampon	50
b. Principe du procédé d'émulsification	50
c. Etapes de préparation des microsphères	50
IV.4.3. Caractérisation des microsphères	52
a. Analyse par microscopie optique	52
b. Analyse granulométrique des particules	52
c. Etude du gonflement des particules	52
d. Quantification du PA encapsulé	53
e. Etude de la cinétique de libération du PA encapsulé	53
f. Analyse par FTIR	53
IV.4 Présentation de quelques résultats obtenus	53
IV.4.1 Formulation des émulsions eau/huile	53
IV.4.2 Microsphères obtenues	54
Conclusion générale et perspectives	56
Références Bibliographiques	

Liste des figures

Chapitre I :La Microencapsulation	
Figure I.1. Représentation schématique des différents domaines d'application de la microencapsulation.	7
Figure I.2. Types de microparticules.	8
Figure I.3. Morphologie de microcapsules (a) et de microsphères (b) obtenue par MEB.	9
Figure I.4.Principaux procédés d'encapsulation.	11
Figure I.5. Modes d'émulsion/gélification : a)- Gélification interne; b)- gélification externe.	13
Figure I.6. Profils de libération obtenus à partir de microparticules, (A, D) : microcapsule, (B) : microcapsule avec effet *Brust*, (C) : microcapsule avec temps de latence et (E) : microsphère.	15
Chapitre II : Les Biopolymères	
Figures II.1 : Grandes familles des biopolymères.	18
Figure II.2. Différents motifs de répétition des polysaccharides.	19
Figure II.3. Structure chimique du chitosane.	19
Figure II.4. Monomères de l'acide D-mannuronique (M) : (A) et l'acide L-guluronique (G).	20
Figure II.5. Structure de l'alginate de sodium de formule $(C6H7Na1/2O6)_n$.	20
Figure II.6. Schéma simplifié de la paroi des algues brunes.	21
Figure II.7. Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "cage".	21

Figure II.8. Procédé de gélification de gouttes d'alginate et structure atomique d'une bille d'alginate.	22
Figure II.9. Capacité de production mondiale des biopolymères pour divers application.	25
Chapitre III :Application de l'émulsification/gélification interne	
Figure III.1. Mécanisme de la gélification de l'alginate.	29
Figure III.2. Mécanisme de la gélification externe (a) et interne.	29
Figure III.3. Etapes de l'émulsification/gélification interne.	31
Figure III.4. Micrographie par MEB des microparticules obtenues selon les formulations F5 et F7.	37
Figure III.5. Profil de libération in vitro de diclofénac sodique à partir des microparticules d'alginate ; rapport PA/polymère=1/1.	39
Figure III.6. Profil de libération in vitro de diclofénac sodique à partir des microparticules d'alginate ; rapport PA/polymère=1/2.	40
Figure III.7. Profil de libération in vitro de diclofénac sodique à partir des microparticules d'alginate ; rapport PA/polymère=1/3.	40
Figure III.8. Représentation tridimensionnelle de l'effet de la vitesse d'agitation (X1), rapport PA/polymère (X2) et concentration du span 80 (X3) sur la libération du DS (Y1), après 2 h.	41
Figure III.9. Représentation tridimensionnelle de l'effet de la vitesse d'agitation (X1), rapport PA/polymère (X2) et concentration du span 80 (X3) sur la libération du DS (Y1) après 4 h.	42
Figure III.10. Représentation tridimensionnelle de l'effet de la vitesse d'agitation (X1), rapport PA/polymère (X2) et concentration du span 80 (X3) sur la libération du DS (Y1) après 8 h.	42

Chapitre IV :Partie expérimentale	
Figure. IV. 1. Vue microscopique de l'émulsion E/H à 30% de phase aqueuse ; grossissement : x100.	54
Figure. IV. 2. Vue microscopique de l'émulsion E/H à 40% de phase aqueuse ; grossissement x100.	54
Figure. IV. 3. Aspect des microparticules obtenues pour l'essai N°1	55
Figure. IV. 4. Aspect des microparticules obtenues pour l'essai N°2	55

Liste des tableaux

Chapitre I : La Microencapsulation	
Tableau I.1.Types et taille des microparticules obtenues par différentes techniques de microencapsulation.	12

Chapitre II : Les Biopolymères	
Tableau II.1. Principales applications des alginates.	23

Chapitre III : Application de l'émulsification/gélification interne	
Tableau III.1. Représentation de quelques travaux de recherche sur l'émulsification-gélification interne.	32
Tableau III.2. Variables et niveaux choisi pour l'encapsulation du diclofénac sodique	33
Tableau III.3. Formulations correspondantes aux combinassions des trois paramètres étudiés	34
Tableau III.4. Pourcentage de fraction massique de distribution des tailles des microparticules de DS	36
Tableau III.5. Rendement et efficacité d'encapsulation des microparticules de DS	38

Chapitre IV : Partie expérimentale

Tableau. IV. 1. Matières premières utilisées	44
Tableau. IV. 2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles d'olives.	45
Tableau. IV. 3. Caractéristiques physico-chimiques de l'alginate de sodium (Sigma- Aldrich).	46
Tableau. IV. 4. Caractéristiques physico-chimiques du chitosane utilisé (Sigma-Aldrich)	46
Tableau. IV. 5. Caractéristiques du tensioactif utilisé (Sigma-Aldrich)	47
Tableau. IV. 6. Réactifs chimiques utilisés	47
Tableau. IV. 7. Matériel utilisé.	48

Abréviations et nomenclature

Abbreviation	*Signification*	*Unite*
Ct	Concentration massique du principe actif libéré au temps t	g/l
C∞	Concentration massique du principe actif libéré à la saturation	g/l
DRX	Diffractomètre à rayon X	-------
DO	Densité optique	-------
DS	diclofenac sodique	
EE	Efficacité d'encapsulation	(%)
FTIR	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier	_____
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance	-------
HLB	Hiydrophile-lipophilie balance	--------
k0 , k1	Constantes cinétiques	s^{-1}
$\mathbf{k_H}$	Constante cinétique d'Higuchi	-------
MEB	Microscope électronique à balayage	-------
mi	Masse initiale	g
mg	Masse des capsules à l'état gonflé	g
PA	Principe actif	-------

pH	Potentiel d'hydrogène	-------
RE	Rendement d'encapsulation	(%)
TE	Taux d'encapsulation	(%)
TG	Taux de gonflement	(%)
UV-Vis	Ultra Violet –Visible	-------

Introduction générale

L'objectif de l'industrie pharmaceutique est l'amélioration des propriétés des médicaments, ce qui reflète l'importance de ces derniers pour la santé publique. Il est à noter que le développement et la création de nouvelles préparations médicamenteuses, dépendent de plusieurs paramètres y compris les propriétés du principe actif, cette molécule doit - par conséquent- conserver ses propriétés thérapeutiques pendant la cascade : depuis la mise du point jusqu' à la cible **[**1**]**.

Les biopolymères sont des polymères issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables [2], Les polysaccharides représentent la plus grande famille de matériaux utilisés comme agents d'encapsulation, on peut citer l'alginate, l'agar, la pectine ou encore le chitosane et le kappa-carrageenan [3], grâce à leurs diverses propriétés telles que leur biocompatibilité et biodégradabilité ainsi que leur faible toxicité et leur pouvoir gélifiant.

La microencapsulation est une technologie d'enrobage de petites particules de solides finement broyés, de gouttelettes de liquide ou de composés gazeux, à l'aide d'un système membranaire ou matriciel protecteurs. La microcapsule (ou la microsphère) permet de préserver la substance encapsulée sous la forme d'un état finement divisé, et de la relarguer dans les conditions souhaitées. L'encapsulation d'un liquide permet de convertir ce liquide sous la forme d'une poudre solide, tout en préservant sa réactivité à l'état liquide. De ce fait, l'encapsulation facilite la manipulation de réactifs liquides, et permet de ne démarrer la réaction chimique visée que quand la capsule est rompue [4]

Les buts de l'encapsulation peuvent être multiples : Elle permet d'immobiliser le principe actif, de le protéger du milieu extérieur, masquer une odeur ou bien encore permettre de contrôler, de déclencher et/ou de cibler sa libération [5].La microencapsulation applique dans de nombreux autres domaines tels que l'agroalimentaire, les cosmétiques ou bien encore les catalyseurs. Selon les propriétés d'usages recherchées des microparticules, les techniques d'obtention peuvent varier. Les avantages de la microencapsulation sont sa grande efficacité d'action, son action longue durée, sa commodité d'utilisation, sa réactivité retardée, la protection du principe actif, la transformation de l'aspect de la substance (passage de l'état liquide à l'état solide), la possibilité de transporter un agent thérapeutique de façon sélective sur un site donné sans oublier le faible coût du procédé.

Le développement d'un procédé d'encapsulation requiert une certaine démarche qui consiste à choisir un type de procédé, définir les matières premières utilisables, étudier leur formulation et le procédé d'encapsulation.

Les choix du procédé et de la formulation déterminent les caractéristiques finales de microparticules [6]. De ce fait l'encapsulation en utilisant à la fois l'émulsification suivie de la gélification des gouttes conduit à la formation des particules de taille inférieures à 100 µm, ce procédé s'utilise pour la mise en systèmes vecteurs de biomolécules, microorganismes et des principes actifs.

En effet, au début de la présente étude, nous avons ciblé un double objectif, le premier consiste à préparer des microparticules contenant le diclofénc sodique par application de la méthode d'émulsification/gélification interne et le deuxième vise en la caractérisation physico-chimique et biopharmaceutique des particules obtenues. Cependant et vue de la pandémie du Corona virus (Covid 19), notre objectif a été dévié vers une étude bibliographique s'articulant principalement vers la synthèse des principaux travaux faisant l'objet à appliquer la méthode d'encapsulation en question pour différentes matières actives.

Par conséquent, la présentation de notre mémoire s'organise en quatre chapitres distincts traités comme suit :

Le premier chapitre sera consacré à la présentation, de la microencapsulation leurs objectifs, les modes de préparation des microparticules, leurs caractéristiques et les différents domaines d'application ;

Le second chapitre présente des généralités sur les biopolymères y compris les polysaccharides, leur classification et les différents domaines de leurs applications. Ce chapitre souligne aussi les différentes propriétés de l'alginate de sodium et du chitosane ainsi que les principales applications de ces deux biopolymères ;

Le troisième chapitre vise d'une part à mettre en aperçu la mise en détail du procédé d'émulsification/gélification interne et d'autre il présente un recueil porté sur la préparation, l'optimisation et la caractérisation des microsphères d'alginate chargé de diclofénac sodique part.

En ce qui concerne le quatrième chapitre, il détaille le principal matériel utilisé ainsi que les différentes méthodes visant d'être appliqués au cours de l'étude.

Enfin, notre mémoire se termine par une conclusion générale, avec quelques perspectives pouvant être réalisées à venir.

Chapitre I

La Microencapsulation

I.1. Introduction

La microencapsulation a donné la naissance à de nombreux produits commerciaux. La microencapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation de microparticules individualisées, constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active [7]. La terminologie microparticules concerne des entités dont le diamètre est compris entre 1 et 1000 µm. Le terme nanoparticules est réservé aux particules dont la taille est inférieure au micron.

Cependant, la substance encapsulée peut se présenter sous la forme de fines particules de solide divisé, d'un liquide, ou encore d'un composé gazeux [8].

En effet, la microencapsulation est une technologie d'enrobage de petites particules de solides finement broyés, de gouttelettes de liquide ou de composés gazeux, à l'aide de membrane protectrices. La microcapsule permet de préserver la substance encapsulée sous la forme d'un état finement divisé, et de la relarguer dans les conditions souhaitées. L'encapsulation d'un liquide permet de convertir ce liquide sous la forme d'une poudre solide, tout en préservant sa réactivité à l'état liquide. De ce fait, l'encapsulation facilite la manipulation de réactifs liquides, et permet de ne démarrer la réaction chimique visée que quand la capsule est rompue [4].

Le fait d'encapsuler une substance permet d'augmenter sa densité, ou encore de la diminuer en incluant de l'air dans la capsule. Un solide dense peut ainsi être converti en un produit flottant dans l'eau.

L'encapsulation présente également un intérêt particulier pour les différentes problématiques liées au stockage de certaines substances. En effet, le temps de stockage d'un composé volatil peut être augmenté de manière significative grâce à l'encapsulation. Les microparticules peuvent également protéger une substance des effets des rayons ultra-violets, de l'humidité, ou encore de l'oxygène. Des réactions chimiques non souhaitées entre deux espèces peuvent être évitées en séparant physiquement les deux espèces par encapsulation. Enfin, des poudres finement divisées peuvent être encapsulées afin d'éviter d'éventuels problèmes d'agglomération.

I.2. Généralités

I.2.1.Définition

La microencapsulation est le processus qui permet l'emprisonnement de principes actifs et dans lequel les petites gouttelettes ou particules du matériel liquide ou solide sont entourées ou enduites par un film continu de matériau polymère. L'encapsulation combine deux disciplines de manière intime : la formulation et le génie des procédés. Elle résulte donc de la préparation de particules individualisées constituées d'un matériau enrobant contenant un principe actif. La matrice enrobant représente une barrière permettant la protection du principe actif ainsi que le contrôle de sa libération [9].

La première application basée sur la technologie de l'encapsulation a été commercialisée dans le domaine de l'imprimerie. Il s'agit du papier carbone sans carbone sous l'effet d'une faible pression [10]. Ce produit contient des microparticules de colorant réalisées par coacervation complexe entre la gélatine et la gomme arabique qui se brisent sous l'effet de la pression d'une tête d'imprimante ou d'un stylo. Puis la technologie de la microencapsulation fut utilisée dans le domaine pharmaceutique ainsi que pour d'autres applications industrielles telles que les colles [11].

1.2.2. Objectifs et domaines d'application

La technique d'encapsulation permet d'immobiliser le principe actif, de le protéger du milieu extérieur, de contrôler et cibler sa libération ou encore de le structurer [12].

***a. Immobilisation* :** elle a pour objectif de limiter le contact entre certaines parties d'un système [13]. En effet, leur confinement dans une membrane semi-perméable permet d'obtenir une activité optimale de par une isolation physique du milieu extérieur tout en maintenant un environnement interne. En effet, ce produit contient des bactéries encapsulées par des polymères naturels afin d'améliorer la survie bactérienne au cours de l'élaboration de l'aliment et pendant la période de conservation. En outre, l'isolation apportée par l'encapsulation est très souvent utilisée pour des bactéries, enzymes, hormones et catalyseurs [14].

***b. Protection* :**De nombreux composés actifs sont fragiles et doivent être protégés du milieu extérieur. L'encapsulation permet leur protection vis-à-vis des contraintes appliquées. Les

vitamines E et C sont très souvent encapsulées car elles sont sensibles à la dégradation par contact avec la lumière, la chaleur ou encore l'oxygène [15,16].

L'activité protectrice apportée par l'encapsulation est également utilisée dans le domaine médical. Par exemple, l'encapsulation de bactéries probiotiques, avec de l'alginate et du chitosane notamment, apporte une protection vis-à-vis des conditions gastro-intestinales et donc permet une libération de cellules bactériennes viables dans le colon [17].

c. ***Vectorisation*** **:**La vectorisation par l'encapsulation permet de cibler l'action du principe actif. Par exemple, l'amélioration de la pénétration cutanée au travers du derme ou de l'épiderme peut être atteinte grâce à l'encapsulation. Il est possible de citer les travaux de Bourgeois et al., 2010 [18] qui ont démontré une pénétration deux fois plus importante égale à 22,6% grâce à l'utilisation de particules contre 9,99% obtenues avec la caféine non encapsulée. Pour ce qui est du domaine médical, on cite l'encapsulation de l'acide 5-aminosalicylique avec des endurait RL et RS qui a permet d'assurer une libération dans le colon par dissolution des matrices polymériques à pH=6,5 [19]

La vectorisation apportée par l'encapsulation est également utilisée pour masquer le goût de certains actifs qui ne seront pas libérés dans la cavité buccale mais dans le système digestif comme l'huile de poisson, l'huile d'ail et l'ibuprofène qui est également encapsulé à cause de son goût amer [20-21].

d. Structuration : L'encapsulation d'un composé liquide dans des microparticules solides permet d'obtenir une modification de l'état physique de l'actif qui passe de la forme liquide à solide. Cela permet par exemple une homogénéisation simplifiée du mélange de l'actif initialement liquide au sein d'une poudre [22,23].

Par ailleurs, la microencapsulation est actuellement très développée pour de nombreuses applications : médicale et pharmaceutique, agro-alimentaire, préparation des produits phytosanitaires et autres. La figure I-1 présente les domaines d'application de la microencapsulation.

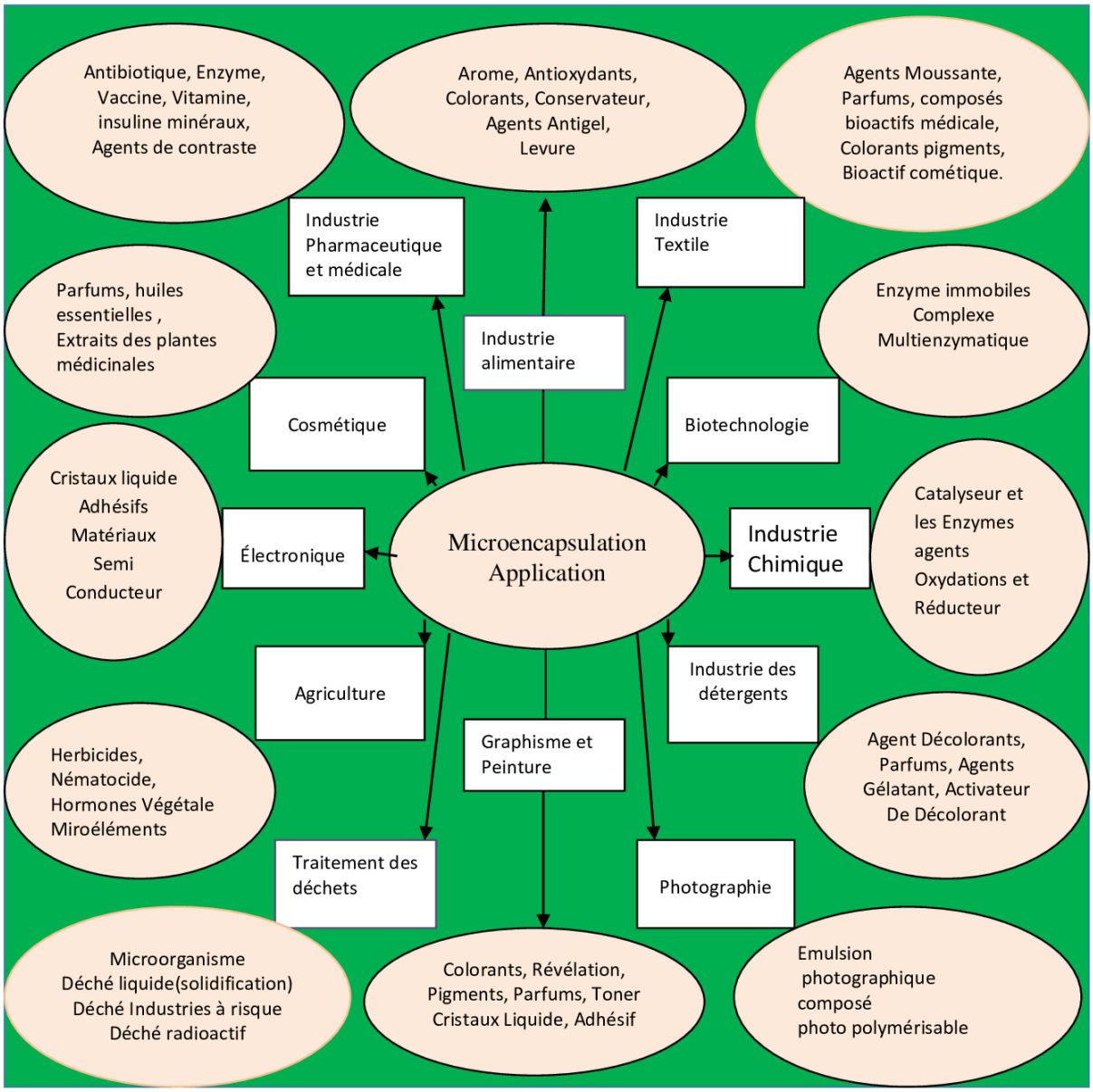


Figure I.1. Représentation schématique des différents domaines d'application de la microencapsulation [4]

I.3. Caractérisation des microparticules

I.3.1. Classification

Le type de particules obtenues par microencapsulation dépend des propriétés physico-chimiques de la matière active et de la matière enrobant, de leurs compositions et de la technique utilisée. Les microparticules peuvent se présenter sous deux structures : la structure réservoir (microcapsule) et la structure matricielle (microsphère), (figure I.2) [24]

a. La microcapsule : c'est une particule réservoir constituée d'un cœur (noyau) de matière active liquide ou solide entouré d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant ;

b. La microsphère : c'est constituée d'un réseau macromoléculaire continu formant une matrice dans laquelle la matière active est dissoute ou finement dispersée, à l'état de fines particules solides ou encore-de gouttelettes liquides.

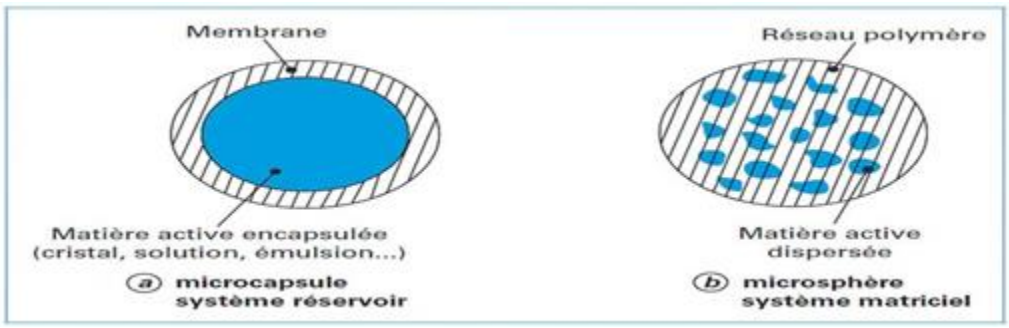


Figure I.2. Types de microparticules[24]

I.3.2. Composition

Les particules obtenues par encapsulation sont constituées principalement d'une matière active (à encapsuler) et d'un matériau dans lequel cette matière est chargée, d'autres constituants peuvent êtres ainsi additionnés afin d'améliorer les propriétés du système et/ou de lui apporter certaines fonctionnalités. [24]

a. Molécules à encapsuler *:* sont d'origine très variée, vue l'encapsulation intervient dans quasi-totalité des domaines tant de recherche qu'industriel. Selon l'objectif de l'utilisation, la nature de l'actif(s) et le type de la particule, une variété d'ingrédients peuvent être isolés et immobiliser [22].

b. Les matériaux enrobant *:* ils sont de nature polymérique dont le choix adéquat du support utilisé dans les procédés de microencapsulation est primordial que ce soit pour la forme orale ou dermique, à cause de -son effet sur les propriétés d'encapsulation voire le profil de libération du principe actif et sur la stabilité des microparticules.

Les polymères d'encapsulation sont d'origine synthétique ou naturelle, ils doivent satisfaire aux exigences suivantes [23]:

-Inertes vis-à-vis la matière active, dont il peut dans certains cas former des liaisons physique et chimique avec la molécule à encapsuler.

-Présentent une forme facile à manipuler.

-Capacité de maintenir la matière active dans le cœur de la particule qui est revêtue par la membrane du polymère, ou être dispersée d'une manière homogène dans la matrice polymérique.

-Capacité d'assurer une protection maximale de la matière active contre les conditions environnementales.

-Assurer les bonnes propriétés d'émulsification.

c. Autres additifs : le ciblage des additifs utilisés dépende principalement de la nature de la molécule à encapsuler, et du procédé d'encapsulation utilisé. Parmi les additifs les plus souvent utilisés : les agents tensioactifs, les agents antimicrobiens et les agents réticulant. Dans le cas de l'utilisation d'un principe actif hydrophobe, la stabilisation de l'émulsion, qui précède l'étape de microencapsulation, est assurée par la présence d'un agent tensioactif (les oléates de sorbitane et les polysorbates). Ces tensioactifs sont ajoutés dans les préparations liquides en faible quantité (de 0,5 % à 5 %). [25]

I.3.3. Caractérisation

a. Taille : le terme microparticule est utilisé pour les systèmes sphériques ayant un diamètre compris entre 1 µm et 1000 µm, et dans certaines références cette intervalle est réduit jusqu'à un diamètre maximum de 500 µm [26].

La quantification des dimensions des microparticules est basée sur utilisation des méthodes tels que [27]:

- Diffraction Laser (à sec ou en solution) : de 1µm à plusieurs millimètres ;
- Diffusion dynamique de la lumière /potentiel zêta : de 1mm à 1 µm

b. Structure interne et externe : cette caractérisation permet de différencier entre les morphologies superficielles et en profondeur des particules produites, donc entre les systèmes matriciel et réservoirs (voir figure I.3). Cette distinction est garantie par microscopie électronique à balayage et à transmission [27].

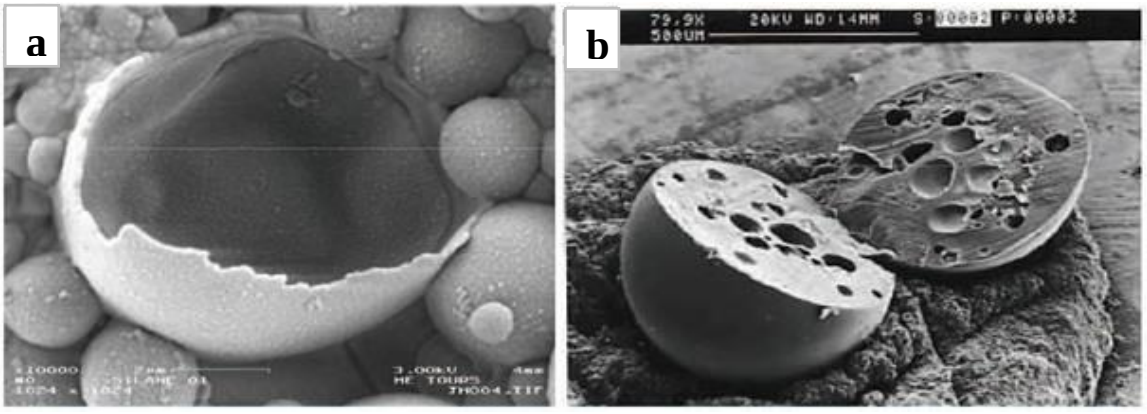


Figure.I.3. Morphologie de microcapsules (a) et de microsphères (b) obtenue par MEB [7].

***c. Quantification de l'actif encapsulé* :** Du fait de leur structuration, la teneur en principe actif encapsulé peut être très élevée dans les microcapsules, il varie de 85 à 90 % (rapport massique). Celles rencontrées dans les microsphères sont plus faibles, elles sont de l'ordre de 20 à 35 %.

Cependant, la quantification du principe actif au sein d'une préparation encapsulée, est caractérisée par plusieurs grandeurs, il s'agit du rendement d'encapsulation, le taux d'encapsulation et l'efficacité d'encapsulation. Ces grandeurs sont données par les expressions suivantes [27] :

$$Rendement\ d'encapsulation(RE) = \frac{m\ microsphères\ obtenues\ (g)}{m_{(polymère+PA)introduit}(g)}.100 \qquad (I.1)$$

$$Taux\ d'encapsulation(TE) = \frac{m\ _{PA\ introduit}\ (g)}{m_{microparticule}(g)}.100 \qquad (I.2)$$

$$Efficacité\ d'encapsulation(EE) = \frac{m\ _{PA\ encapsulé}\ (g)}{m_{PA\ introduit}(g)}.100 \qquad (I.3)$$

Ces paramètres d'encapsulation dépendent principalement du procédé impliqués dans l'encapsulation, des réactifs mis en formulation et par conséquents des propriétés des microparticules obtenues. Dans ce cas, ces dernières concernent la membrane d'une microcapsule ou la matrice d'une microsphère qui sont caractérisées par:

- La forme.
- la taille et la distribution de taille.
- La porosité.
- Le degré de gonflement.
- Le potentiel zêta.
- La mouillabilité.
- La tortuosité des pores.

Ainsi, les principaux paramètres qui gèrent les propriétés de ces systèmes sont :

- Les paramètres extérieurs : le pH, la température, l'humidité.
- La solubilité, la température d'ébullition et fusion.
- Les paramètres intrinsèques à membrane : la cristallinité et la porosité de membrane, la structure chimique de polymère, la masse molaire.

d. Cinétique de libération : en fonction de la microstructure interne des microparticules contenant une substance active, ces systèmes peuvent assurer la libération de cette dernière soit immédiatement en atteignant un pic sérique élevé ou progressive selon une cinétique bien déterminée.

- *Système à libération provoquée :* il s'agit des capsules possédant une membrane de faible perméabilité dont le contenu est libéré brutalement par rupture ou éclatement de. La rupture

est déclenchée par une variation de température, de pH, une dégradation enzymatique de la membrane ou une pression mécanique ou osmotique

- *Système à libération contrôlée ou prolongée (modifiée) :* dans lesquels le principe actif est libéré par diffusion à travers une membrane ou une matrice perméable qui se dégrade ou se dissout au cours du temps par érosion ou gonflement

I.4. Procédés de microencapsulation

Nous distinguons, comme le résume la figure I.4 :

I.4.1. Procédés physico-chimiques

Ils sont basés sur la maîtrise de paramètre tel que la solubilité et la précipitation des polymères en fonction de l'ajout d'un non-solvant, du pH ou de la température mais aussi sur la maîtrise des changements d'état (fusion, solidification) des polymères.

I.4.2. Procédés chimiques

Ils sont basés sur la formation in situ du matériau enrobant par polycondensation, polymérisation radicalaire, ou polymérisation anionique d'unités monomères. De ce fait, ils se distinguent des méthodes physico-chimiques et mécaniques qui utilisent des matériaux enrobant préformés (polymères, lipides).

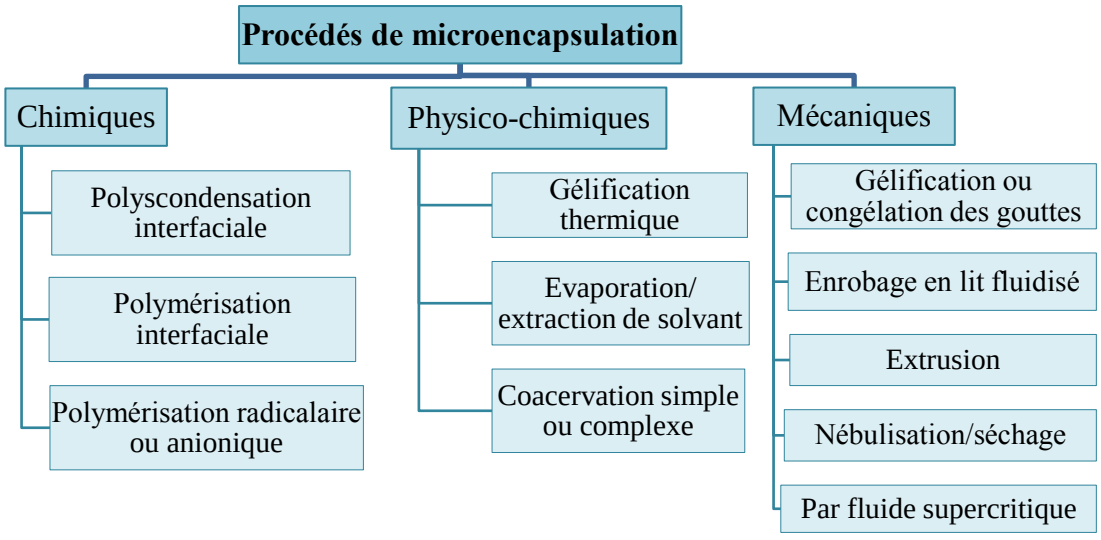


Figure I.4.Principaux procédés d'encapsulation. [28]

La taille des microparticules obtenues en appliquant les différentes techniques de microencapsulation sont classées dans le tableau I.1.

Tableau I.1.Types et taille des microparticules obtenues par différentes techniques de microencapsulation [4]

Procédé	***Technique***	***Type et taille***
Procédés physico-chimiques	Coacervation (simple ou complexe)	Microsphère et microcapsule (2 – 1200 µm)
	Evaporation /extraction de solvant	Microsphère (0.5 – 200 µm)
	Gélification thermique	Microsphère (30-300 µm)
Procédés chimiques	Polycondensation interfaciale	Microcapsule (2 – 2000 µm)
	Polymérisation interfaciale	Microcapsule (2 – 2000 µm)
	Polymérisation radicalaire ou anionique	Microsphère (0.5-1000 µm)
Procédés mécaniques	Sur la technologie fluide supercritique	Microcapsule et liposome (1 – 200 µm)
	Nébulisation/séchage	Microsphère (1 – 200 µm)
	Gélification ou congélation des gouttes	Microsphère (200-800µm)
	Enrobage en lit fluidisé	Microcapsule (35 – 5000 µm)
	Extrusion	Microsphère (≥ 200 µm)

I.4.3. Procédés mécaniques

Ils mettent en œuvre des techniques de pulvérisation, de formation de gouttes ou de gouttelettes et d'extrusion.

a. Procédé de nébulisation/séchage

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

-Soit d'une solution de matière active et de matériau enrobant.

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

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

Ce procédé comprend les quatre étapes séquentielles suivantes :

1. Nébulisation de la formulation liquide initiale pour former un aérosol.
2. Mise en contact de l'aérosol avec un flux d'air, porté à une température contrôlée.
3. Séchage rapide de l'aérosol pour former des microparticules solides.
4. Séparation de la poudre de microparticules et de l'air contenant le solvant vaporisé.

b. Gélification ou Congélation de gouttes

La gélification de goutte est réalisée à partir d'une solution, dispersion ou émulsion de principe actif dans une solution aqueuse de polymères. Ces polymères doivent être capables de former des gels par changement d'un paramètre physique (température) ou chimique (concentration ionique, pH, etc.).

La congélation de gouttes consiste en la solubilisation ou la dispersion du principe actif dans un matériau enrobant à l'état fondu.

L'addition d'un émulsifiant favorise la formation et stabilité de l'émulsion. Sa nature et sa concentration influencent la distribution de la taille des gouttelettes. Par conséquent, lorsque la gélification induite est par voie ionique, l'alginate forme une matrice piégeant le composant actif à l'intérieur [29].

- ***Gélification interne :*** Elle consiste en l'addition d'un sel insoluble ou partiellement soluble de calcium à l'intérieur des gouttelettes de l'émulsion eau dans huile. Quand le pH diminue les ions et Ca^{+2} sont libérés et la gélification se produit[30].

- ***Gélification externe :*** La gélification externe consiste à émulsifier une solution aqueuse d'alginate-matière active dans une phase continue non aqueuse, en ajoutant plus tard au milieu une solution de $CaCl_2$pour induire la gélification des gouttelettes et favoriser la séparation des microsphères [31]. La Figure I.5. Illustre le principe des deux modes de gélification.

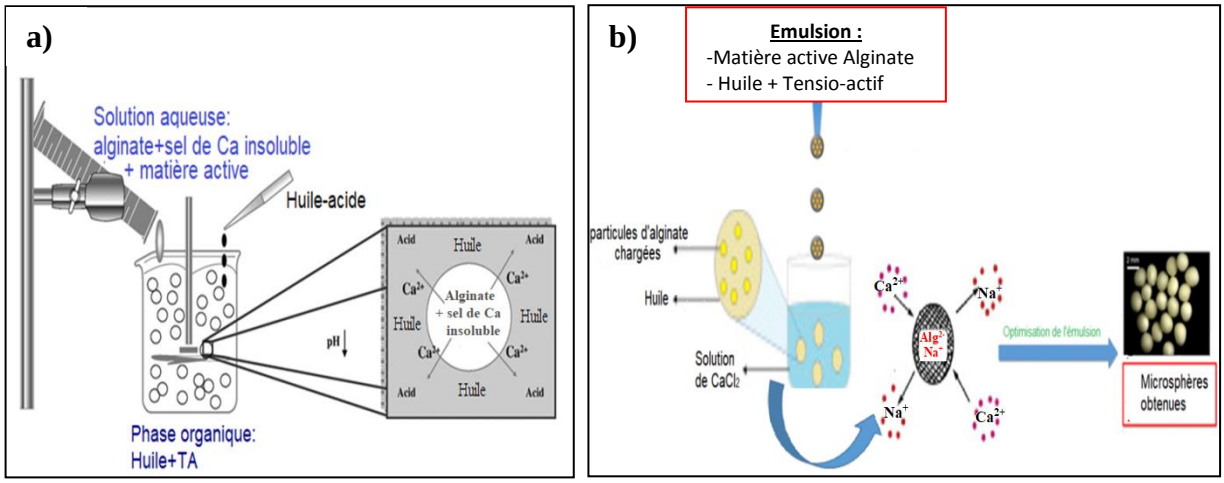


Figure I.5. Modes d'émulsion/gélification : a)- Gélification interne [30] ; b)- gélification externe [31].

I.5. Libération modifiée

I.5.1. Concept de la libération modifiée

La libération modifiée nommée aussi ciblée prolongée ou contrôlée, est la libération d'un principe actif de son système galénique d'une manière prolongée et progressive dans le temps une fois il se trouve en contact avec les milieux physiologiques.

Dans le même contexte, un système de libération modifiée, désigne la délivrance de la bonne quantité d'un principe actif au bon endroit et au bon moment.
L'élaboration des systèmes à libération modifiée est essentiellement basée sur deux principes :

- La vitesse de libération de principe actif à partir de la forme galénique cette étape basée à l'absorption et la dissolution, qui dépendent de la voie et du mode d'administration.
- La durée de libération est étalée dans le temps, tout en maintenant la concentration sérique du principe actif, incluse dans sa marge thérapeutique, sur une longue période et avec une seule administration.

I.5.2. Mécanisme de la libération modifiée d'une substance active

La libération d'un principe encapsulé par diffusion est le mécanisme le plus répandu parmi les systèmes à libération prolongée et contrôlée. La libération prolongée d'un PA est essentiellement obtenue par des mécanismes de dissolution, de diffusion, ou par association de ceux-ci [32]
Ainsi, les profils de libération par diffusion passive à travers la membrane ou la matrice polymère (loi de Fick) peuvent être différents (figure I.11). Ceux-ci, sont gouvernés par les propriétés physico-chimiques du système.
Pour les systèmes membranaires, les cinétiques de libération obtenues sont d'ordre 0 ou d'ordre 1 (profils A et D) selon la solubilité de la matière active dans l'eau. La cinétique d'ordre 0 peut être modifiée au début de la libération par deux phénomènes :
- Effet de burat qui, dû à la présence d'un excès de PA dans la membrane, ce qui augmente la vitesse de libération aux temps courts (profil B).
- Temps de latence : qui correspond au temps qui précède la libération, c'est le temps nécessaire pour que le PA diffuse à travers la membrane avant d'atteindre le milieu extérieur (profil C).

Pour les systèmes matriciels, la cinétique de diffusion du PA obéit généralement à la loi d'Higuchi (profil E).

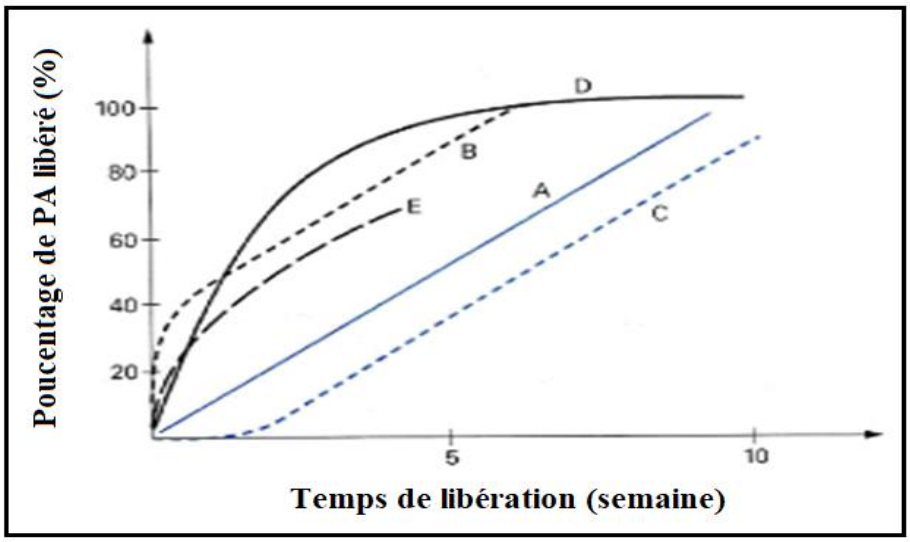


Figure I.6. Profils de libération obtenus à partir de microparticules, (A, D) : microcapsule, (B) : microcapsule avec effet *Brust*, (C) : microcapsule avec temps de latence et (E) : microsphère [33]

I.5.3. Modèles théoriques de la libération modifiée

La libération du principe actif généralement est régit par trois mécanismes : la nature et la concentration du PA, les propriétés structurales du polymère telles que le taux de gonflement et la vitesse de gélification ainsi que son comportement dans les fluides physiologiques.
Les principaux modèles de la libération modifiée obéissent aux lois tels que, [7, 34]

a. Diffusion de Fick

Les modèles d'ordre 0 et 1 représentent les meilleurs profils de la cinétique de libération du PA en fonction du temps (équations I.4 et I.5 respectivement). La diffusion de Fick est basée sur la migration du PA à travers les chaînes macromoléculaires du polymère dû à l'existence d'un gradient de concentration entre la matrice et le milieu extérieur.

$$\frac{C_t}{C_\infty} = \frac{M_t}{M_\infty} = -k_0.t \qquad \text{(I.4)}$$

$$\frac{C_t}{C_\infty} = \frac{M_t}{M_\infty} = (1 - e^{-k_1 t}) \qquad \text{(I.5)}$$

b. Modèles de diffusion non Fickiens

La libération prolongée est une diffusion par transport, où le PA s'hydrate puis passe à travers les micropores des chaines polymériques préalablement gonflées par effet du solvant, et enfin diffuse vers le milieu extérieur.

c. Modèle d'Higuchi

Ce modèle décrit la libération des PA solubles et peu solubles incorporés dans les systèmes matriciels. L'équation du modèle s'écrire globalement comme suit :

$$\frac{C_t}{C_\infty}=\frac{M_t}{M_\infty}= k_H.t^{1/2} \quad \text{(I.6)}$$

d. Modèle de Welbull

L'écart du profil de libération du modèle de Wegner aux premiers temps est dû principalement au ralentissement de relargage, dans ce cas la cinétique de libération est décrite par une équation exponentielle en fonction du temps.

Cette expression est donnée par l'expression suivante :

$$\frac{C_t}{C_\infty}=\frac{M_t}{M_\infty}=(1-e^{\left(\frac{t-t_0}{t_D}\right)^\beta} \quad \text{(I.7)}$$

I.5.4.Paramètres influençant de la libération modifiée

Il est à noter que les paramètres influençant la libération d'un PA encapsulé sont :

- Solubilité du Principe actif dans le milieu de libération et dans la membrane polymérique.
-Taux d'encapsulation
- Interaction chimique entre le PA et polymère (qui doivent être minimisées) ;
- Caractéristique morphologiques du système de libération (porosité, tortuosité, surface, forme et caractéristiques du polymère telles que le poids moléculaire.

Chapitre II

Les biopolymères

II.1.Introduction

La chimie des polymères est née de la connaissance d'un biopolymére courant : la cellulose, plus connue sous le nom de bois. Les biopolymères sont des polymères issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables [2]. Ces polymères connaissent depuis quelques années un réel essor du fait de leurs origines biologiques et surtout de leur caractère biodégradable. Leurs utilisations en substitution ou même en mélange à d'autres polymères synthétisés à partir d'hydrocarbures offrent donc des applications intéressantes. En effet, dans un monde où les matériaux recyclables ou biodégradables prennent peu à peu plus de place, les biopolymères sont de plus en plus valorisés [35].

Les premières applications des biopolymères ont été développées dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire mais, à ce jour, ces polymères tendent même à remplacer des composites dans des secteurs extrêmement variés [36].

En effet, il convient de dresser un aperçu général sur des connaissances actuelles de cette classe de polymères naturels, dont l'attrait s'explique par ses propriétés physico-chimiques et biologiques remarquables ainsi que ses utilisations sous différentes formes dans un contexte d'applications potentielles.

II.2. Définition

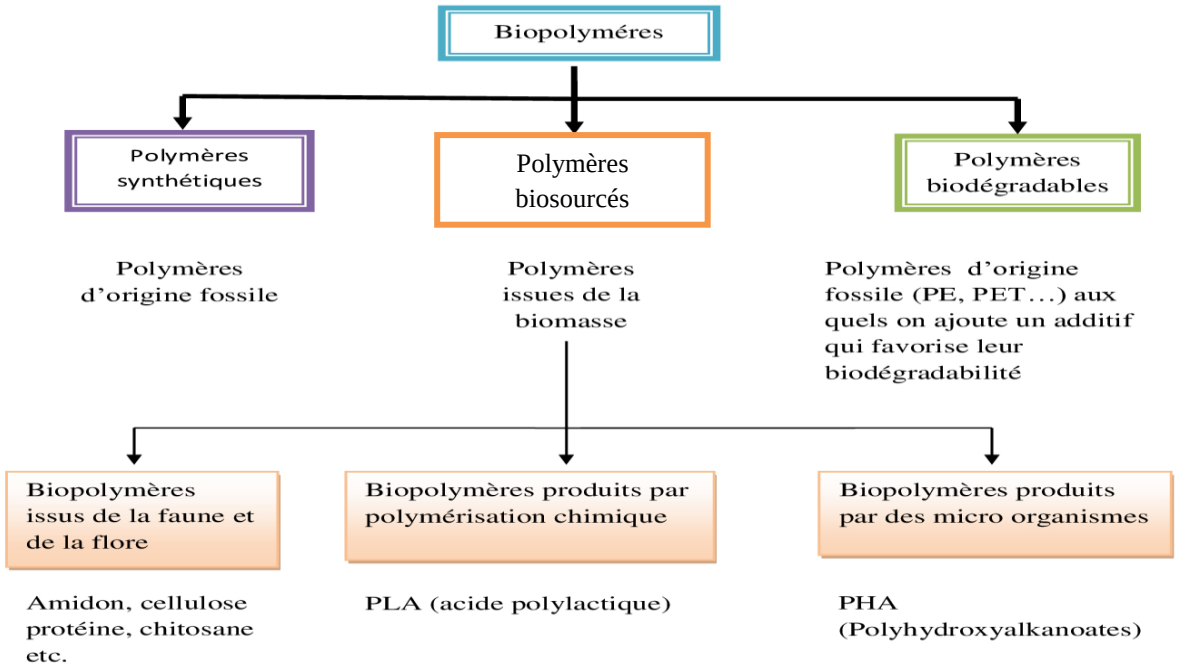
Les biopolymères sont des polymères présents dans des organismes vivants ou synthétisés par ceux-ci. Ils comprennent notamment les polymères provenant de ressources renouvelables qu'on peut polymériser pour fabriquer des bioplastiques [37].Les biopolymères peuvent constituer à l'avenir des solutions intéressantes pour remplacer les emballages en plastique (sacs plastiques...), consommateurs de pétrole, et non biodégradables [38]

II.3.Différentes familles des biopolymères

Ils peuvent être classés en trois familles (figure II.1):

- Les polymères issus directement des ressources végétales et animales comme les polysaccharides, les protéines et les polynucléotides.
- Les polymères issus d'origine bactérienne comme les Polyhydroxyalcanoates (PHA).

-Les polymères obtenus indirectement par polymérisation de monomères eux-mêmes issus de ressources végétales comme l'acide lactique, résultant de la fermentation de sucres ou encore des composés monomères réactifs dérivés d'huiles végétales [39]



Figures II.1 : Grandes familles des biopolymères [40]

II.3.1.Les polysaccharides

Les polysaccharides constituent la famille de biopolymères les plus répandus et les plus utilisés. Ils sont appelés également glycines, sont constitués de monosaccharides lié entre eux par des liaisons glucidiques, on distingue les homopolsaccharides et les hétéro-polysaccharides selon qu'il présente un ou plusieurs types de monosaccharides Les polysaccharides simples ou complexes synthétisés par des organismes vivants entrent dans la composition de la plupart des cellules (microbiennes, animales et végétales). Parmi les plus connus, on peut citer la cellulose, l'amidon, la chitine. Ces polysaccharides sont constitués de 100 à 1 000 motifs D- glucopyranose reliés entre eux par des liaisons acétal [41, 42]

a. La cellulose

L'élément constitutif du bois et de la tige du maïs, est la substance la plus abondante de la surface de la terre. Elle est utilisée dans la fabrication du papier. C'est un matériau peu couteux semi-cristallin. Par ailleurs, la lignine est un sous-produit de cellulose des usines de

pâte et papier habituellement traitée comme une matière résiduelle de peu d'utilisation économique, plutôt utilisée pour sa capacité énergétique. La cellulose modifiée est utilisée dans différents produits, tels que le papier adhésif et les manches de brosses à dents [41]

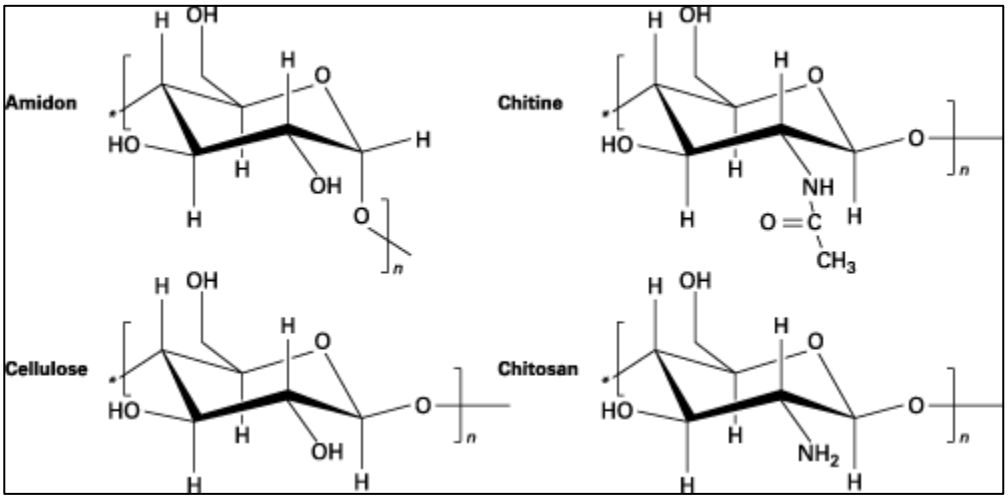


Figure II.2. Différents motifs de répétition des polysaccharides [42]

b. Le chitosane

Le chitosane est une substance très peu répandue dans la nature. Il est rare et n'est présent que dans les parois cellulaires d'une classe particulière de champignons, les zygomycètes (Rhizopus, Mucor, etc.) de bactéries et de levures et chez certains insectes comme dans la paroi abdominale des reines termites. La source majeure du chitosane vendu commercialement provient de la désacétylation de la chitine obtenue à partir de crustacés [43]

Grâce à ses groupements amines libres, ce composé possède des propriétés intéressantes très différentes de celles de la chitine. Le chitosane, soluble dans les acides faibles, possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement. La structure chimique du chitosane est présentée dans la Figure II.3 [44]

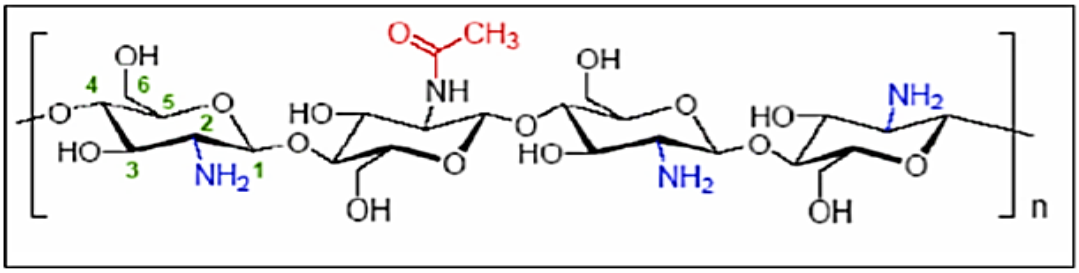


Figure II.3. Structure chimique du chitosane [44].

c. *Les alginates*

- *Définitions :* Les alginates sont des copolymères c'est à dire polymères issus de la copolymérisation d'au moins deux types de monomères chimiquement différents non ramifiés : l'acideD-mannuronique (M) et l'acide L-guluronique (G) (figure II.4).

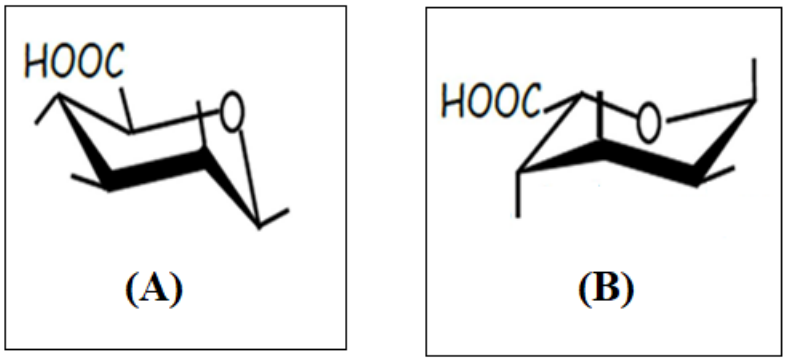


Figure II.4. Monomères de l'acide D-mannuronique (M) : (A) et l'acide L-guluronique (G), [45]

L'alginate est constitué de plusieurs unités de mannuronate et de gluconate dont le nombre varie de 100 à 3000. La liaison entre les monomères est de type β(1-4), (figure II.3).

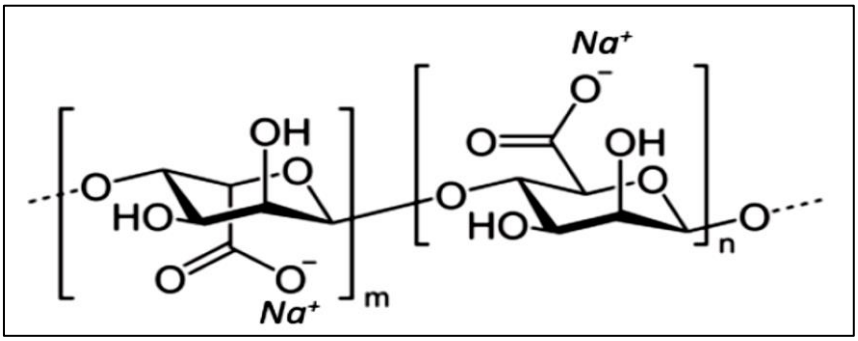


Figure II.5. Structure de l'alginate de sodium de formule $(C_6H_7Na_{1/2}O_6)_n$, [46].

L'alginate peut être synthétisé par deux biosources, les bactéries (*Azobacter vinelendii*et *Pseudomonas aeruginosa*) et essentiellement par les algues brunes. En effet ces dernières en sont constituées pour plus de 40 % de leur poids sec et le produit constitué le polysaccharide le plus abondant de ces organismes, ils constituent soit la matrice extracellulaire de ces organismes ou leur paroi La figure II.6, schématise la structure principale de la paroi des algues brunes.

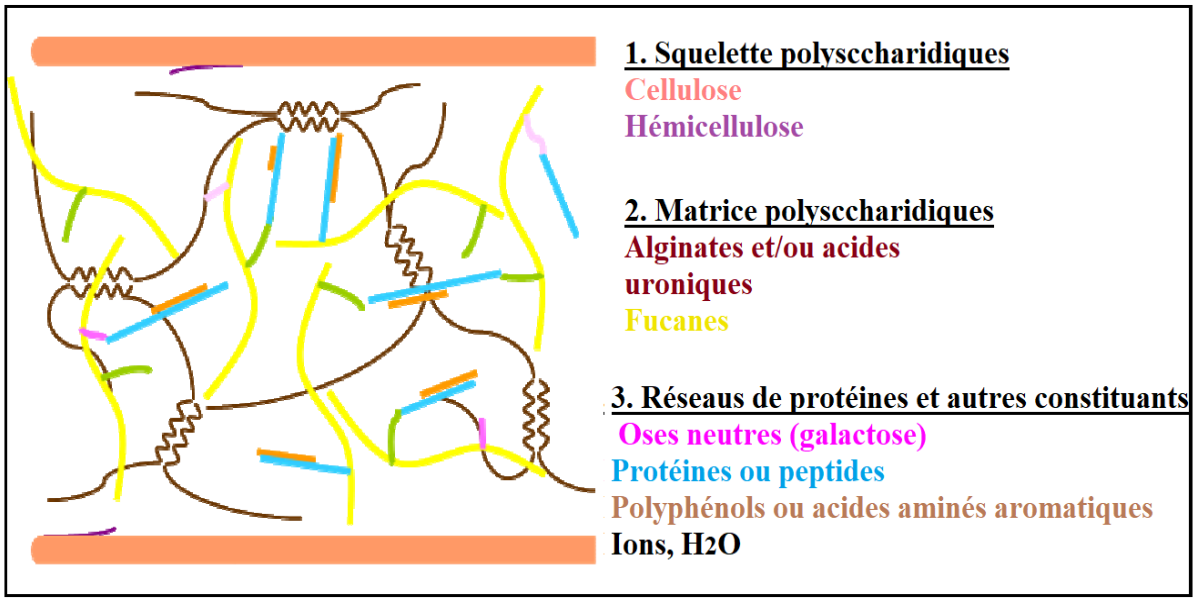


Figure II.6. Schéma simplifié de la paroi des algues brunes [47]

- *Propriétés physico-chimiques* :l'alginates sont classés parmi les hydrocolloïdes car ils sont solubles dans l'eau où ils se dissolvent pour former un gel avec des propriétés rhéologiques particulières.

Les propriétés physico-chimiques des solutions d'alginates dépendent d'une part de leur structure, c'est-à-dire de la proportion de résidus mannuroniques par rapport aux résidus guluronique (M/G) ainsi que du nombre et de la longueur des blocs MM, GG et MG, et d'autre part de nature du contre-ion. Les alginates monovalents sont parfaitement solubles dans l'eau carles groupements carboxyliques présents dans les molécules d'alginate sont ionisés, par contre L'addition de cations divalents (Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}) provoque la formation d'un gel élastique, où cations sont retenus dans une cage et interagissent avec les fonctions carboxylates et les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyles, (figure II.7) [47].

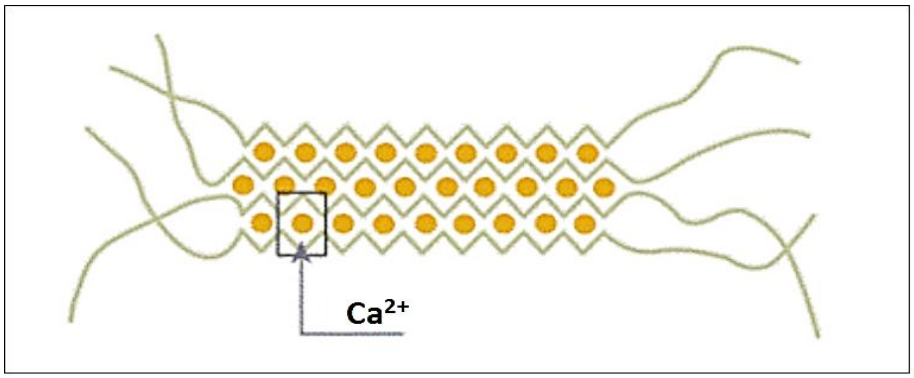


Figure II.7. Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "cage", [47].

- *Applications* :vu que l'alginate est une substance non toxique, inerte, biodégradable et non immunogène, elle présente donc les caractéristiques requises pour constituer un biomatériau d'excellence.

En effet, les alginates sont employés dans de nombreux domaines, à cause de ses diverses propriétés colloïdales, comme la rétention d'eau, la gélification et la stabilisation des émulsions. Les principales applications des alginates sont résumées dans le tableau II.2.

Par ailleurs, plusieurs biopolymères sont impliqués dans la microencapsulation y compris les alginates, ceux-ci peuvent accomplir les critères suivants :

- Perméabilité aux gaz
- Caractéristiques chimiques et fonctionnelles
- Emulsifiant naturel
- Possibilités de modification et de réticulation chimiques.

L'utilisation des alginates dans la microencapsulation a touché plusieurs domaines, où deux procédés ont été adaptés pour ceci [47]:

- La coacervation complexe
- Gélification des goutes, (figure II.8).

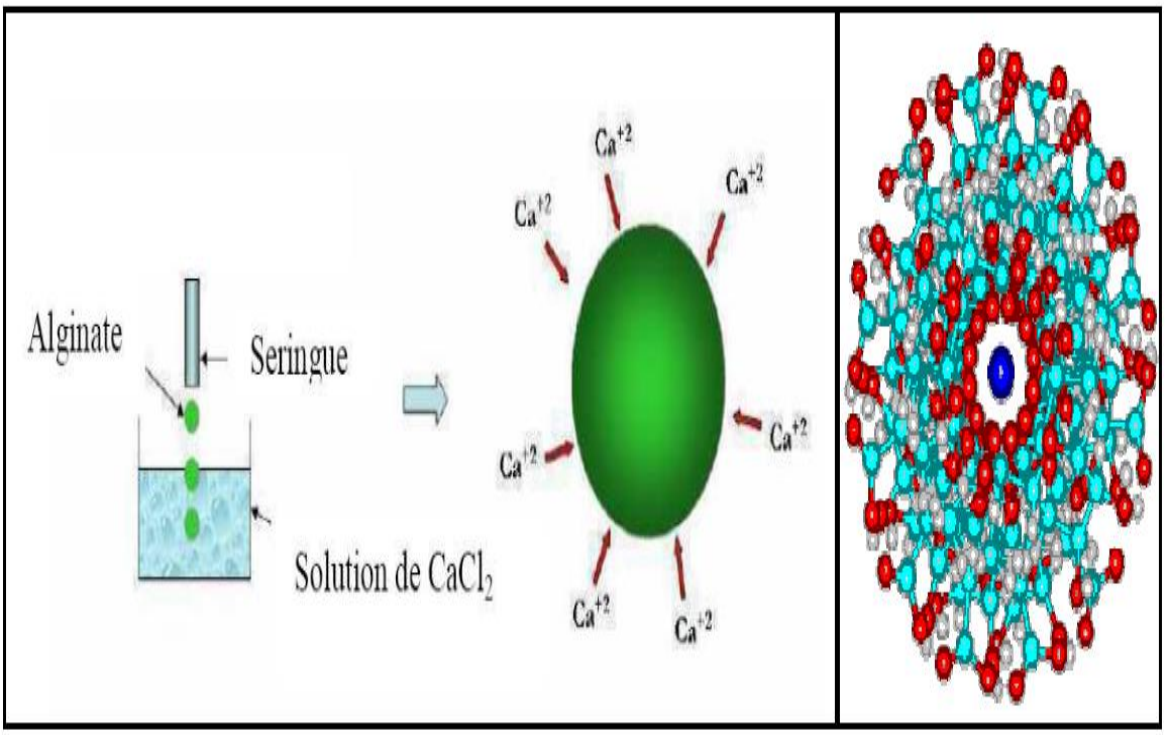


Figure II.8. Procédé de gélification de gouttes d'alginate et structure atomique d'une bille d'alginate, [47].

Tableau II.2. Principales applications des alginates, [47]

Domaine d'application	***Propriété***	***Exemple d'application***
Textile	Amélioration de rhéologie	Fabrication des teintures
Agro-alimentaire	Emulsifiant, gélifiant, Epaississant	Yaourt et crèmes glacées
Médical	- Gélifiant	- Inserts oculaires - Moulage dentaire
	- Modificateur de viscosité	- Remplissage vasculaire
Pharmacie	- Gélifiant, agent cicatrisant - Gélifiant, coagulant - Gélifiant, régulateur de pH	- Pansements cutanés - Pansements hydrostatiques - Pansements gastriques
Pharmaceutique	- Stabilisant, viscosifiant, liant, désintégrant	- Sirops - comprimé, capsules, - crèmes, gels.
Ingénierie tissulaire	- Vecteurs de délivrance	- Scaffold[1]
Cosmétique	- Agents adoucissant, filmogène, hydratant	- Préparation des crèmes et des parfums

[1] *:* Matrices qui servent de support à la reconstruction tissulaire.

II.3.2. Les protéines

Les protéines sont des arrangements réguliers de différents acides aminés. Ce sont les constituants de la matière vivante animale, tels que la peau, les muscles et les cheveux. La plupart des protéines utilisées comme biopolymères le sont à l'état naturel, telles que la laine et la soie. Elles sont également issues des plantes oléagineuses (colza, tournesol, soya), des protéagineux (pois, fèveroles), du son de céréales (gluten) ou de tissus animaux (collagène, gélatine) ou de produits animaux (caséine). L'inconvénient principal de leur utilisation est leur sensibilité à l'humidité [48].

II.3.3.*Les polymères d'origine microbienne*

Les polyesters naturels sont produits par de nombreuses variétés de bactéries et sont sensibles à la dégradation par les microbes. Les plus étudiées sont les PHA, parmi lesquels se retrouvent les PHB et les polyhydroxyvalérates (PHV). [49].

Le PHA est produit directement par des microorganismes, qui l'accumulent dans leurs cellules ou biologiquement, par la fermentation bactérienne de biomasse. Le PHB est un polymère semi-cristallin rigide (plutôt fragile) dont les propriétés mécaniques sont similaires à celles du polystyrène ou du polypropylène. C'est un produit de stockage intracellulaire des bactéries et des algues. Le polyhydroxybutyrate- cohydroxyvalérate (PHBV) est produit par fermentation bactérienne de biomasse [50].

II.3.4.*Les biopolymères synthétiques*

Ils sont obtenus par voie fermentaire, on les appelle biopolymères synthétiques ou chimiosynthétiques en raison de leur mode de fabrication. En effet, celui-ci consiste en une polycondensation (chauffage) de monomères naturels ou identiques aux naturels. Le plus connu est le PLA (Poly Acide Lactique) [39].

II.4.Propriétés des biopolymères

II.4.1.*Biodégradabilité*

La biodégradabilité est la propriété la plus importante pour caractériser l'impact d'un produit organique sur l'environnement. La biodégradabilité est un processus naturel de décomposition de la matière organique. Elle est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides conduisant à la formation de molécules simples et de fragments de plus petite taille. [51]

Quatre éléments y concourent : avant tout, les micro-organismes sans lesquels aucune biodégradation ne serait possible, l'humidité, l'oxygène et la température. La durée nécessaire pour une biodégradation totale des matériaux, pour la bio-assimilation, est importante à considérer, puisqu'en fonction de l'utilisation du matériau, une durée trop courte ou trop longue n'a pas nécessairement d'intérêt. [39]

La biodégradabilité peut toutefois, dans certains cas, être très utile sans qu'il n'y ait compostage, c'est le cas de certaines applications agricoles telles que le paillage par exemple.

II.4.2.*Biocompatibilité et biorésorbabilité*

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. [52] En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques des matériaux biorésorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant. Les biopolymères se dégradent naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libèrent des molécules assimilable et non toxique.

II.5.Applications des biopolymères

Trois grands créneaux d'applications sont identifiés par rapport aux propriétés des biopolymères : la médecine, l'agriculture et les emballages [53]. Les biopolymères sont utilisés dans des applications de courte durée, où leur biodégradabilité représente un avantage [56]. Ils sont également utilisés dans des applications plus durables [55]

II.5.1. Emballages et alimentation

Les biopolymères biodégradables présentent plusieurs avantages s'ils ne sont pas enfouis. Comme l'illustre la figure II.9de tous les biopolymères fabriqués en 2011, 77 % étaient destinés aux services alimentaires, à l'embouteillage et à d'autres fins d'emballage. Ils sont plus spécifiquement utilisés dans les sacs à déchets et emballage, les sacs pour résidus verts et matières putrescibles, divers produits pour le service de préparation alimentaire et la restauration [56,57]

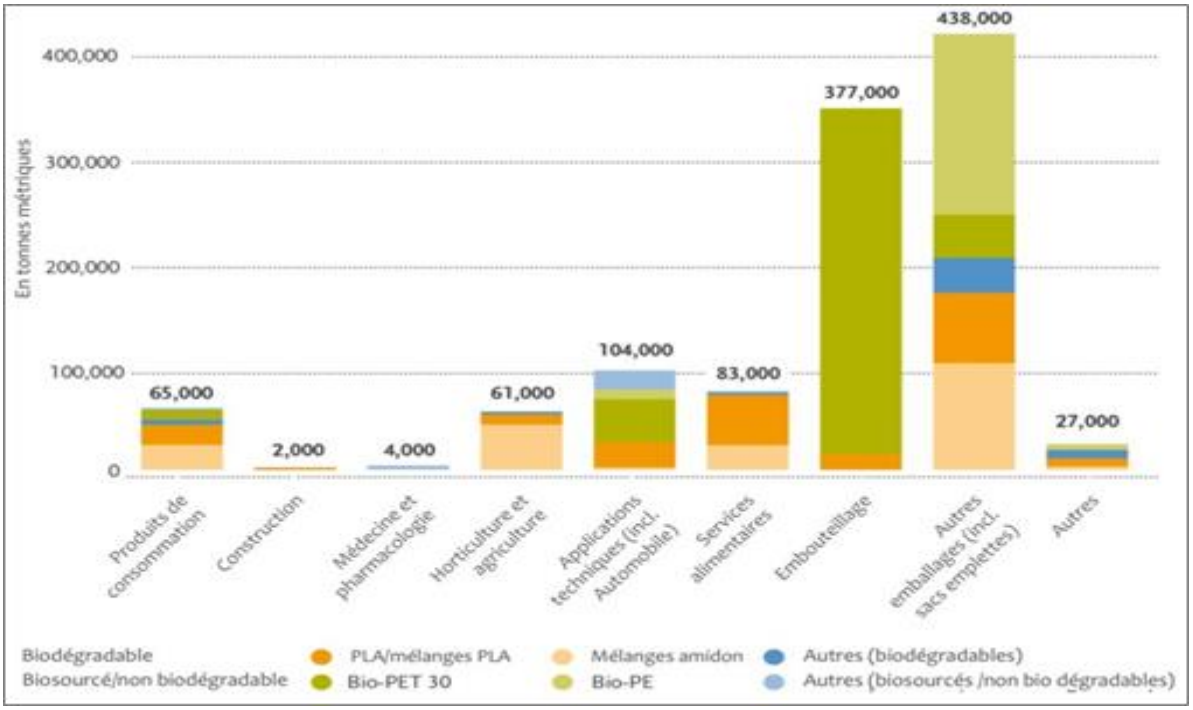


Figure II.9. Capacité de production mondiale des biopolymères pour divers application

II.5.2.*Domaine médicale*

Les premières applications des biopolymères sont médicales ; leur cout élevé de départ se justifie dans ces applications à haute valeur ajoutée. Les applications médicales sont nombreuses, plusieurs biopolymères étant biocompatibles en plus d'être biodégradables.

Elles sont utilisées pour l'encapsulation de médicaments à libération contrôlée, les fils de suture, les vêtements et accessoires médicaux, la peau artificielle, les vis et ligaments artificiels. Plusieurs types de biopolymères sont actuellement employés dans le domaine médical, dont le PLA, le PGA, les PHA et la cellulose. [53]

II.5.3. *Agriculture et horticulture*

Il existe plusieurs applications agricoles pour les bioplastiques, parmi lesquelles se retrouvent les films de paillage au sol, les pots et les ficelles, la libération contrôlée de pesticides et nutriments, le conditionnement de sols, la protection de semences, les plateaux à semences, les sacs d'engrais, les cordes pour les cultures marines ainsi que les pellicules destinées à la protection de plants[56, 57,59].

En agriculture marine, les biopolymères sont employés pour confectionner les cordes et les filets de pêche. Ils sont également utilisés comme supports pour les cultures marines [60].

Les films de paillage agricoles permettent de favoriser la croissance des plantes, en réduisant l'évaporation de l'eau, en réduisant les mauvaises herbes et en augmentant la température du sol. Les frais reliés à l'enlèvement de ces films représentent des couts supplémentaires à la production; leur biodégradabilité en humus permet donc de réduire les couts tout en optimisant la production agricole[58,60]. Des gains économiques et environnementaux évidents sont obtenus.

La libération contrôlée de produits chimiques, dans l'agriculture, est avantageuse pour l'environnement. En utilisant des biopolymères, il est possible de contrôler la quantité de produits émis, la période d'émission, leur emplacement et donc leur efficacité.

Ils permettent d'utiliser moins de produits et de limiter les déversements dans l'environnement (infiltration, volatilisation, dégradation) [60].Les polymères couramment utilisés en agriculture sont l'amidon, la chitine, l'acide alginique, la cellulose et la lignine [58].

II.5.4. Autres applications

Les biopolymères sont sporadiquement utilisés pour des applications plus spécifiques, tels que dans l'industrie automobile, l'électronique ou encore la construction, mais également pour des biens de consommation de courte durée comme les couches-culottes et les produits d'hygiène féminine[56,58].Des fibres destinées à l'ameublement et aux vêtements sont également développées[56,57].

CHAPITRE III

Application de L’émulsification/Gélification interne

III.1. Introduction

L'alginate est un biopolymére ayant des applications multiples et variées vue les propriétés physico-chimiques et biologiques intéressante qu'il présente.

Le procédé de gélification externe ou interne est l'un des principaux procédés impliqués dans l'encapsulation des matières actives (enzymes, microorganismes, principes thérapeutiques,). Dans ce cas, où la formulation est à base de l'alginate, l'encapsulation est assurée par voie physique en utilisant des cations bivalents tel que : Le calcium, le baryum...etc.

En effet, de nombreuses études ont été mises en point pour la microencapsulation par combinaison des opérations d'émulsification suivie d'une gélification en utilisant l'alginate de sodium. Cette méthode peut être interne ou externe.

Dans la gélification externe, un sel de calcium hydrosoluble induit la gélification d'alginate où les gouttelettes de l'émulsion sont converties en particule de différentes dimensions.

Par ailleurs, dans la méthode de gélification interne, une solution aqueuse d'alginate de sodium contenant un sel de calcium insoluble est émulsifiée dans une phase huileuse.

Lors de l'ajout d'un acide, les ions de calcium sont libérés à l'intérieur des gouttes d'alginate ce qui assurent la conversion de l'alginate de sodium en alginate de calcium [61].

III.2. Problématique de la recherche

La technique de gélification est basée sur la formation des particules ayant des dimensions supérieures à 100 µm, ces particules sont produites lors d'une réaction de réticulation des chaines d'alginates par permutation des ions de sodium par les ions bivalents tels que les Ca^{2+} (figure III.1).

Cependant, l'obtention des microparticules (> 100 µm) peut être réalisée par gélification des gouttelettes contenant le polymère (alginate) dispersées dans une émulsion qui se durcit lorsqu'ils réagissent avec les ions réticulant (figure III.2).

Dans ce cas, les microparticules produites sont obtenues soit lors de la gélification externe ou interne. Dans le premier cas, les particules sont hétérogènes en raison que la gélification a lieu au niveau de la surface avant le noyau, ce qui donne particules ayant une surface extérieure rigide et un noyau souple (figure III.2a) [62].

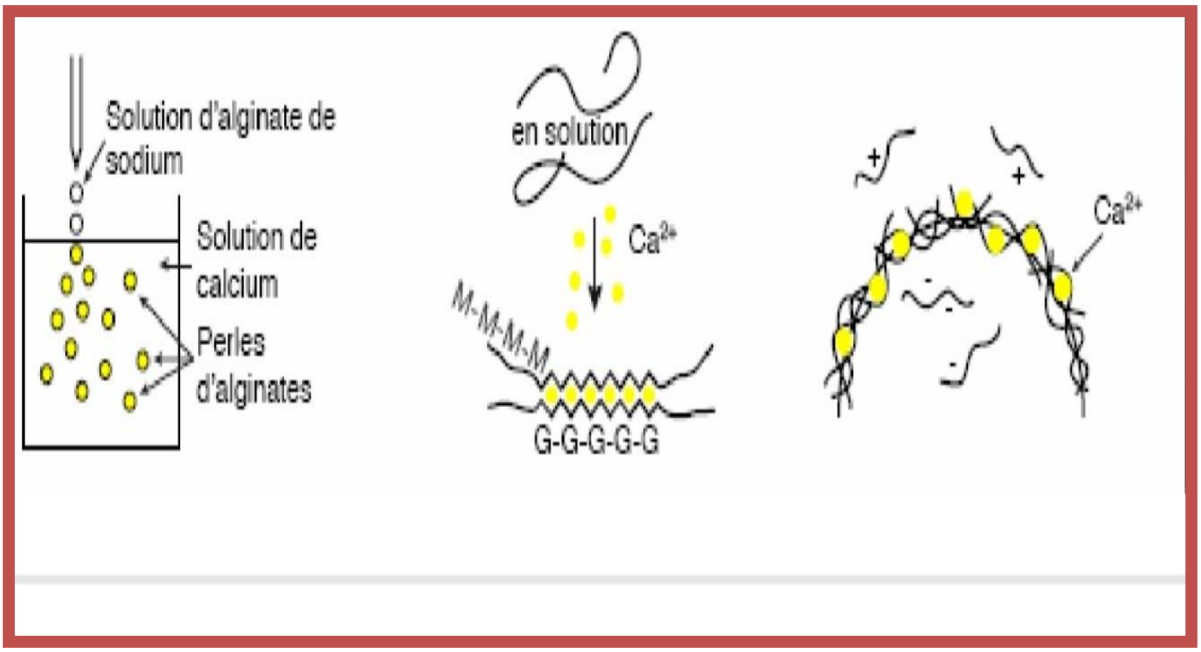


Figure III.1. Mécanisme de la gélification de l'alginate, [62]

En ce qui concerne la deuxième méthode, la gélification est assurée d'une manière homogène au-delà de la surface jusqu'au cœur de la particule, d'où la formation des particules molles avec une forte tendance à avoir un profil de libération contrôlée et plus rapide, [61,62] (figure III.2b).

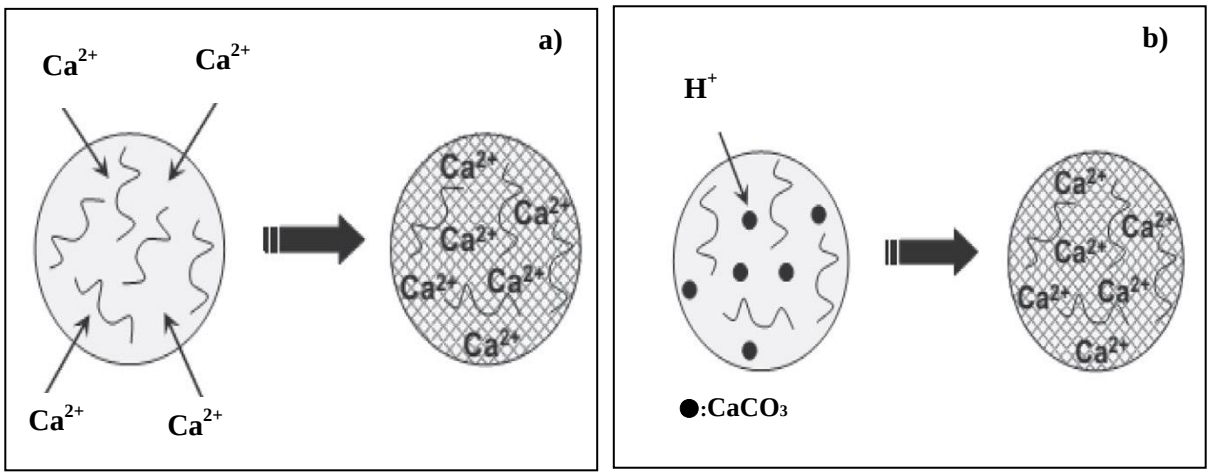


Figure III.2. Mécanisme de la gélification externe (a) et interne (b) [63]

En effet, notre étude s'oriente vers l'application de la méthode de gélification interne, où nous nous intéressons à synthétiser les principaux travaux de recherche basés sur l'encapsulation des différentes matières actives.

III.3. Applications de l'émulsification/gélification interne

III.3.1. Principe de la formulation

Généralement, cette méthode implique deux étapes : la première est la formulation de l'émulsion eau dans l'huile, où la phase huileuse est composé d'une huile minérale et d'un agent émulsifiant lipophile comme les polysorbates (span 80, span 85, …). La phase aqueuse, est une solution homogène d'alginate contenant le principe à encapsuler et le carbonate de calcium.

A l'émulsion formée, est ajoutée une solution acide où les protons assurent la libération d'ions Ca^{2+} ce qui implique la gélification des gouttelettes aqueuses en particules matricielles [64].

a. Préparation de l'émulsion

Cette étape consiste à préparer une émulsion huileuse dont l'étude est basée sur l'optimisation de certains paramètres tels que : la composition des phases, la teneur en tensioactif, la teneur de matière à encapsuler et la vitesse d'agitation [64].

b. Préparation des microsphères

Cette étape est basée sur la diminution du pH des gouttelettes afin de solubiliser le carbonate de calcium en produisant les ions Ca^{2+}, le dioxyde de carbone et l'eau (réaction III.1). Les ions calcium réticulent les chaines polymériques d'alginate. Dans cette étape, les paramètres dont dépend l'encapsulation sont : la concentration de carbonate de calcium et la concentration d'acide.

$$CaCO_3 + 2\ CH_3COOH \rightarrow (CH_3COO)_2Ca + H_2O + CO_2 \qquad \text{(III.1)}$$

La figure III.3, schématise toutes les étapes de la méthode émulsification/gélification interne [65].

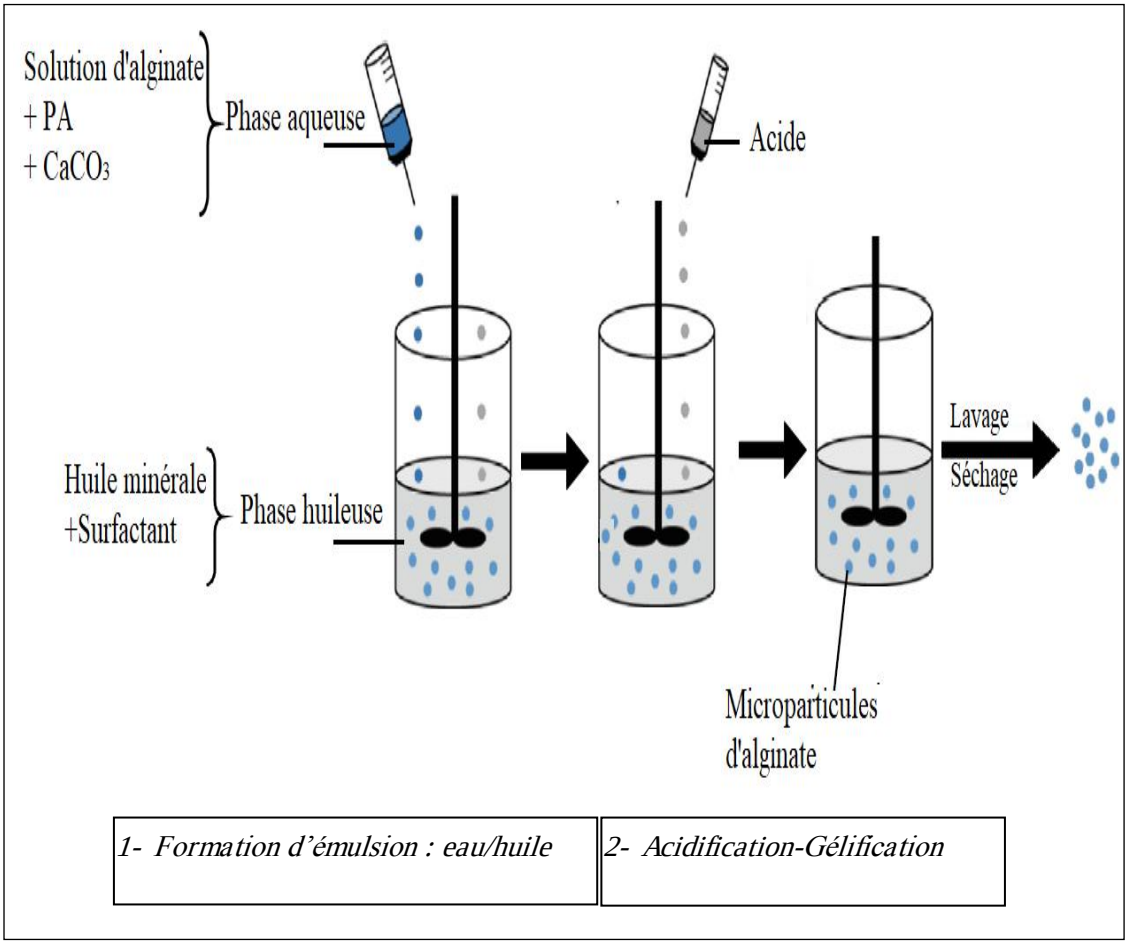


Figure III.3. Etapes de l'émulsification/gélification interne [65].

III.3.2. Matières encapsulées

a. Molécules et micro-organismes biologiques

Que soit dans les particules d'alginates ou de chitosane formées par les méthodes classiques, les molécules de protéines (enzymes ou hormones) sont souvent exposées à la chaleur, à la forte agitation mécanique et à l'exposition aux solvants organiques, ce qui entraine une détérioration moléculaire de la protéine. En effet, l'utilisation de la méthode d'émulsification-gélification, qui est considérée d'une part comme technique d'encapsulation douce et d'autre part une méthode de choix de production des particules de taille déterminée [66].

Cette méthode a fait l'objet de plusieurs recherches ciblées vers l'immobilisation des molécules biologiques telles que : le sérum albumine bovin (SAB), le probiotiques, et l'ADN plasmide. Le tableau III.1 récapitule les différents travaux réalisés.

Tableau III.1. Représentation de quelques travaux de recherche réalisés sur l'émulsification-gélification interne.

Molécule ou micro-organisme	***SAB***	***Insuline***	***ecdysone***	***Levure (Y235)***	***Bifidobacteriu mBB-12***	***ADN***
Concentration d'alginate (%, m/v)	2	2	2	1.5	1.5	2
Concentration de $CaCO_3$ (%, m/v)	0.5	5	5	N-I	5	0.5
Concentration de matière active (%,m/v)	25	0.1	0.5	N-I	1	0.2
Proportion de la phase huileuse (%, v/v)	50	70	80	50	80.3	N-I
Rapport molaire : acide/Ca^{2+}	3	3.5	3.5	N-I	3.5	3
Rendement d'encapsulation (%)	62.4	75	80.5	80	N-I	80
Référence	[66]	[67]	[68]	[69]	[70]	[71]

N-I : Non indiqué.

b. Principes thérapeutiques

L'encapsulation des PA dans les systèmes microparticulaires utilisant divers biopolymères et différentes techniques a été largement étudiée et ceci dans le but d'améliorer la perméabilité à travers les épithéliums intestinaux et de protéger ces principes contre les enzymes digestives. Comme pour l'encapsulation des matières biologiques, la préparation des microparticules en impliquant la méthode d'émulsification-gélification interne constitue un choix intéressant pour les principes médicamenteux.

Très peu d'études ont été réalisées concernant l'application de cette méthode sur l'encapsulation des principes thérapeutiques, on cite ici celle effectuée sur le diclofénac sodique, [72].

III.4.Récapitulation du travail de recherche sur le diclofénac sodique [72]

Cette étude avait pour objectif de préparer, d'optimiser et de caractériser les microsphères d'alginate chargées de diclofénac sodique.

En effet, l'effet de certains paramètres tels que : le rapport massique : PA/alginate, la concentration de l'émulsifiant et la vitesse d'agitation sur certains paramètres physico-chimiques et biopharmaceutiques des microparticules obtenues sera présenté.

III.4.1. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation

a. Présentation des paramètres étudiés

Ce travail vise à appliquer la planification des expériences où trois variables indépendants ont été choisis (tableau III.2).

Tableau III.2. Variables et niveaux choisi pour l'encapsulation du diclofenac sodique

Variable / Niveau	*Vitesse d'agitation (tr/min) : X1*	*[masse PA/masse alginate] (g/g) : X2*	*Concentration du span 80 (%, v/v) : X3*
-1	200	1/1	1
0	400	1/2	1.5
1	600	1/3	2

b. Protocole expérimental d'émulsification-gélification interne

- *Préparation de l'émulsion eau/huile* **:** Différentes concentrations de la solution d'alginate de sodium ont été préparés en dissolvant une masse d'alginate dans 30 ml d'eau chaude puis le diclofénac de sodium (m=0.5g) a été dispersé dans cette solution à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 10 min.

Une suspension de $CaCO_3$ à 5% (m/v) a été ajoutée à la solution d'alginate. Ce mélange a été dispersé à différentes vitesses dans l'huile de paraffine (phase interne de 30%, v/v) contenant différentes concentrations de span 80.

- *Préparation des microsphères* **:** Après émulsification, 20 ml d'huile de paraffine contenant 0,2 ml d'acide acétique glacial (rapport molaire acide/Carbonate de calcium est de 3,5) ont été ajoutés à l'émulsion en vue de la solubilisation du carbonate de calcium.

Les différentes formulations réalisées sont récapitulées dans le tableau III.3.

Tableau III.3. Formulations correspondantes aux combinassions des trois paramètres étudiés

Paramètres / ***Formulation***	***Rapport : PA/polymère (g/g)***	***Volume du span 80 (ml)***	***Vitesse d'agitation (tr/min)***
F1	1/1	1.5	200
F2	1/1	1	400
F3	1/1	2	400
F4	1/1	1.5	600
F5	1/2	1	200
F6	1/2	2	200
F7	1/2	1.5	400
F8	1/2	1.5	400
F9	1/2	1.5	400
F10	1/2	1	600
F11	1/2	2	600
F12	1/3	1.5	200
F13	1/3	1	400
F14	1/3	2	400
F15	1/3	1.5	600

- *Rinçage et séchage des microsphères* **:** Une solution de $CaCl_2$ (0,05 M) contenant 1% de tween 80 a été ajoutée à l'émulsion pour récupérer les microsphères gélifiées, ces dernières ont été récupérées par décantation.

Les microparticules ont été lavées successivement avec une solution de $CaCl_2$ (0,05 M) contenant 1% de tween 80 puis avec une solution tampon acétate (pH4.5). Les

microparticules récupérées ont été séchées à température ambiante pendant 48 h et ont été conservées dans un dessiccateur.

c. Caractérisation morphologique et granulométrique

La caractérisation granulométrique est assurée par tamisage, et la taille moyenne des microparticules été attribuée en tant que pourcentage de microparticules retenues à chaque tamis multiplié par la taille moyenne des particules du tamis utilisé.

L'analyse de la forme et de la texture superficielle a été réalisée par microscopie électronique à balayage.

d. Quantification des paramètres d'encapsulation

La teneur de diclofénac sodique encapsulé a été déterminée comme suit : 100 µg de microparticules préparées ont été écrasé dans un mortier puis transféré dans une fiole jaugée de 100 ml et dilué dans une solution tampon phosphate pH 7,4 et est agité 5 h.
L'échantillon a été filtré et la concentration du médicament a été déterminée par spectrophotomètre UV-Vis à 277 nm.

Les paramètres d'encapsulation de diclofénac sodique concernant le rendement et l'efficacité d'encapsulation sont déterminés en utilisant les deux expressions : I.1 et I.3respectivement.

e. Etude de cinétique de libération in vitro du DS

Le test de dissolution a été réalisé pour une masse de 100 mg de microparticules dans un dissolu-test (USP 24) réglé à une vitesse de 50 tr/min et porté à une température de 37±0.5 °C.

Deux milieux de dissolution ont été utilisés successivement.

D'abord, 500 ml de HCl (0.1N) porté à pH 1.2 a été utilisé pendant 2 h, poursuit d'une solution de KH_2PO_4 (7M) contenant le NaOH et porté à pH7.4. Un volume de 3 ml a été prélevé aux intervalles : 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.25, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7 et 8h puis analysés par spectrophotomètre UV-Vis à la longueur d'onde maximale du DS.

Les paramètres cinétiques de la libération in vitro du DS ont été déterminés afin de trouver le modèle approprié à l'aide d'un programme informatique spécifique. Plusieurs modèles ont été testés.

III.4.2. Résultats et discussions

a. Caractérisation morphologique et granulométrique

Les résultats de la distribution des tailles des particules obtenues sont détaillés dans le tableau III.4. L'intervalle de distribution des diamètres le plus étroit a été observé pour les formulations : F10, F11, F13, F14 et F15, dont la taille des microparticules se situe entre 200 et 315 µm.

Un profil de distribution intermédiaire a été enregistré avec F10 : 400–315 µm. De plus, le pourcentage de fraction des fines particules (160–100 µm) a été obtenu pour la formulation F7, où elle augmente avec l'augmentation de la concentration du span 80 et avec la vitesse d'agitation. En outre, une légère des augmentations de la taille des microparticules a été détectée pour les formulations : F4, F9, F8, F7, F2, F3, F12 et F1, dans lesquelles les tailles de particules s'étendent de 630 à 400 µm.

Tableau III.4. Pourcentage de fraction massique de distribution des tailles Des microparticules de DS

Formulation	*(890-630) µm*	*(630-400) µm*	*(400-315) µm*	*(315-200) µm*	*(200-160) µm*	*(160-100) µm*
F1	27.72	29.85	16.33	19.76	3.38	2.963
F2	14.68	29.59	29.35	14.88	9.0	2.5
F3	17.29	33.513	24.97	12.865	5.941	5.42
F4	8.04	29.78	18.67	29.33	11.29	2.56
F5	32.68	25.58	15.55	20.27	5.53	0.39
F6	29.73	28.59	14.58	16.57	5.75	4.78
F7	16.42	27.24	26.05	20.74	4.68	4.87
F8	15.24	27.08	23.12	25.67	5.24	3.65
F9	13.32	30.01	12.70	28.31	9.77	5.89
F10	5.25	22.37	32.65	19.76	14.29	5.68
F11	6.66	22.62	19.73	27.65	15.89	7.45
F12	22.26	31.05	16.21	22.25	5.01	3.22
F13	13.55	19.46	18.05	32.54	7.54	8.86
F14	11.60	21.50	16.54	35.86	7.45	7.05
F15	9.79	27.80	15.69	31.13	11.34	4.24

La vitesse d'agitation est le paramètre le plus important pour contrôler la dispersion du PA dans de la matrice et la taille des gouttelettes dans la phase continue. Il a été démontré que l'augmentation de la vitesse d'agitation entraîne généralement une diminution de la taille des microparticules, car elle produit des gouttelettes d'émulsion plus petites grâce à l'existence des forces de cisaillement plus fortes et une turbulence accrue, [73].Dans cette étude, une vitesse d'agitation élevée (600 tr/min) produit des microparticules de petite taille tandis que qu'une vitesse d'agitation inférieure (200 tr/min) donne des microparticules de grande taille.
La caractérisation de la forme et de la surface des microparticules chargées de DS (formulations F5 et F7), montre comme l'indique la figure III.4, que la surface des particules de la formulation F5 est rugueuse et possède une forme irrégulière tandis que celles de la formulation 7, possèdent une surface lisse et légèrement poreuse.

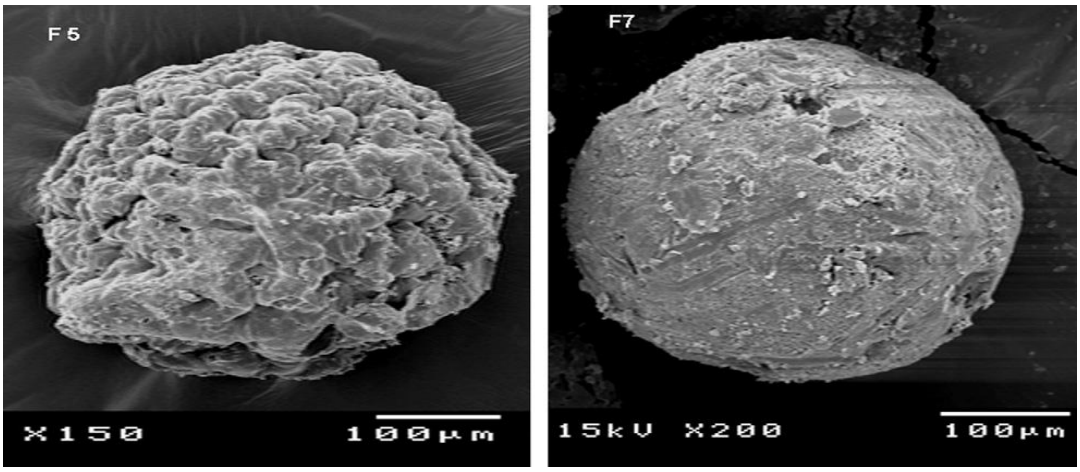


Figure III.4. Micrographie par MEB des microparticules obtenues selon les formulations F5 et F7.

b. Quantification des paramètres d'encapsulation

Les différents résultats sont illustrés dans le tableau III.5. Un RE maximal (97.55%) a été obtenu avec la formulation F13, dans laquelle la vitesse d'agitation est de 400 tr/min, la concentration du span80 est de 1% et la masse d'alginate est maximale. L'augmentation de la vitesse d'agitation et de la concentration de l'agent tensioactif provoque une diminution du RE (79.55%), cas de formulation F11.

L'efficacité d'encapsulation est maximale pour les formulations F5, F12 et F1, ce qui correspond à une vitesse d'agitation de 200 tr/min et une concentration faible ou moyenne de tensioactif

d'autre part les microparticules préparées aux vitesses d'agitation plus élevées et/ou des

concentrations de span 80 plus élevées conduisent à une faible efficacité d'encapsulation (66.2%, formulation F3).

Tableau III.5. Rendement et efficacité d'encapsulation des microparticules de DS

Formulation	***RE (%)***	***EE (%)***
F1	92.98±3.92	93.70±3.67
F2	91.80±4.44	92.90±4.26
F3	66.20±6.90	83.93±3.78
F4	75.66±6.68	81.82±5.01
F5	96.36±4.02	96.75±4.21
F6	70.21±3.94	85.02±2.98
F7	81.69±4.92	88.39±3.65
F8	88.65±6.24	90.25±4.46
F9	87.15±4.92	88.54±3.98
F10	73.53±4.68	86.90±4.34
F11	78.36±4.36	79.55±3.87
F12	95.28±2.48	89.07±4.22
F13	89.04±3.32	97.41±4.78
F14	78.84±4.16	82.29±3.66
F15	84.68±3.36	85.30±4.44

c. Etude de la cinétique de libération in vitro de diclofénac sodique

Pour toutes les formulations réalisées, les microparticules d'alginate restent intactes à pH 1.2. Selon la figure III.5, la libération in vitro du PA (F1 à F4) en milieu acide est faible (moins de 17%) où aucun gonflement n'a été observé. Cela est dû à la faible solubilité du diclofénac sodique aux pH bas. Cependant, le passage aux pH alcalins, conduit à une amélioration prononcée de la libération du DS à raison du phénomène de gonflement et à l'augmentation de la solubilité du diclofénac sodique.

Pour les formulations F2 et F4, 100% de DS a été libérée après 8h de dissolution, ceci est dû d'une part au piégeage des cations Ca^{2+} pour les ions phosphate et d'autre part par l'échange

de ces cations avec les ions $Na^{+,}$ ce qui implique un accroissement de la pression osmotique à l'intérieur du gel en faisant son gonflement.

En considérant les formulations F5 à F11, la libération illustrée par la figure III.6 montre que cette dernière atteint un maximum de 16.99% après 2h pour la formulation F11, 83.34% après 4 h et 100% après 8h. Cependant, le minimum de libération est atteint pour la formulation F6.

De plus, la figure III.7, traduit la libération du DS à partir des particules préparées pour des concentrations d'alginate de sodium (1.5%). Dans ce cas, les combinaisons correspondant à une concentration élevée de span 80 et une vitesse d'agitation de 400 tr/min, la libération est lente à pH alcalin (F14 et F12). En revanche, des libérations rapides sont observées en utilisant des concentrations plus basses de span 80 et de vitesse d'agitation plus élevées (F15 et F13).

En effet, il a été noté que l'augmentation de la concentration d'alginate de sodium, provoque une rétention du DS légèrement plus élevée à pH 1.2 et sa libération diminue lorsque la concentration d'alginate augmente.

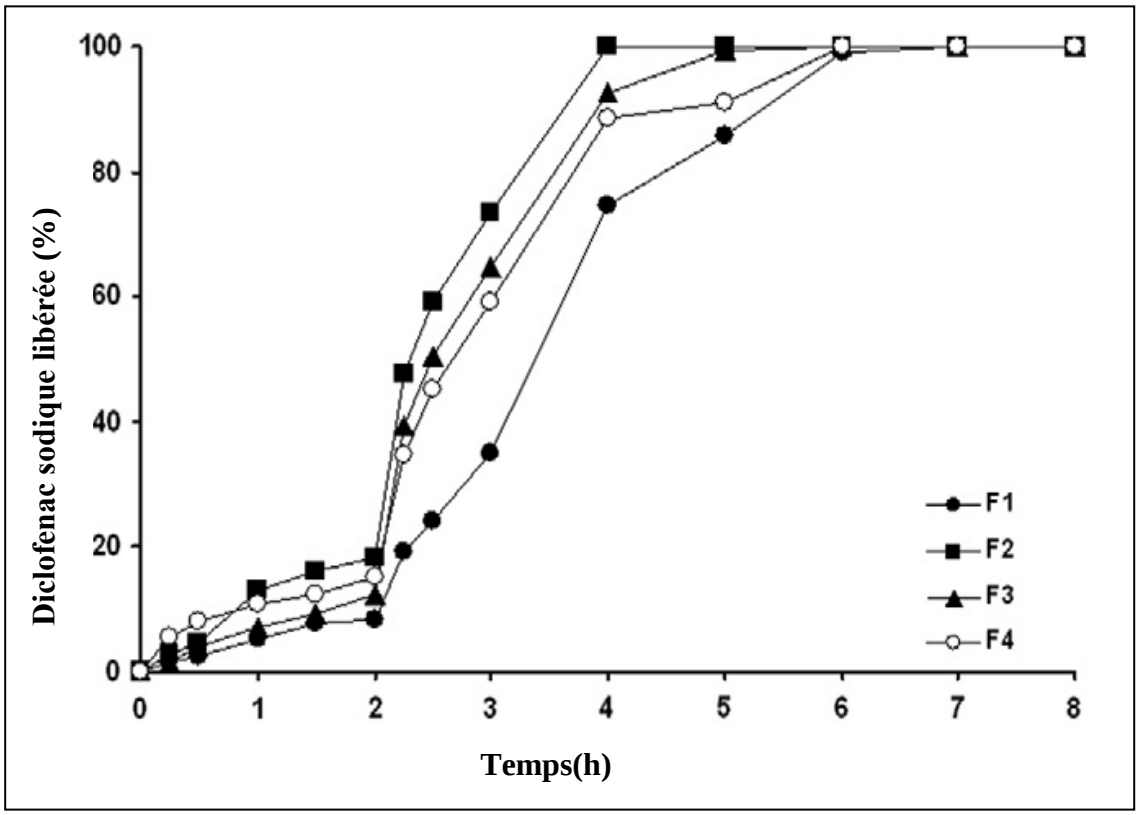


Figure III.5. Profil de libération in vitro de diclofénac sodique à partir des microparticules d'alginate ; rapport PA/polymère=1/1.

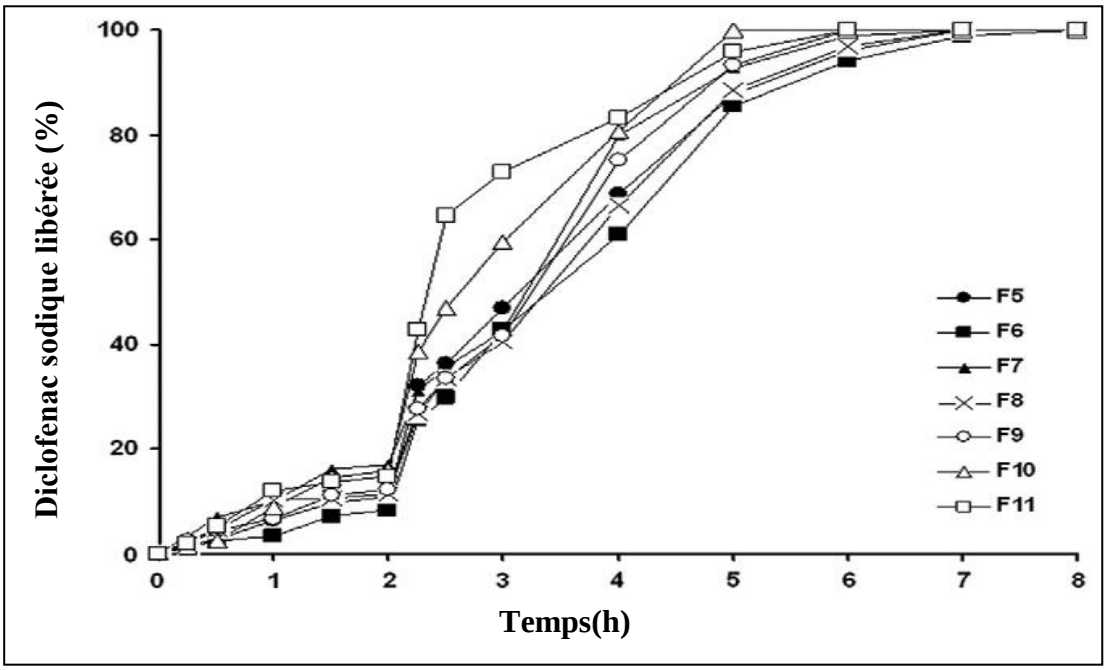


Figure III.6. Profil de libération in vitro de diclofénac sodique à partir des microparticules d'alginate ; rapport PA/polymère=1/2.

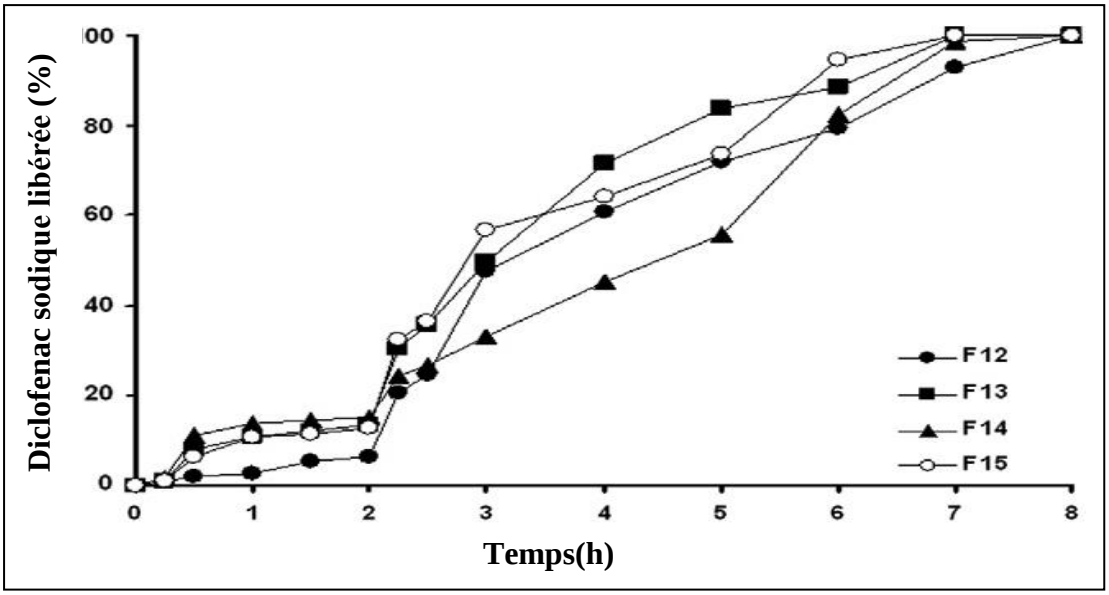


Figure III.7. Profil de libération in vitro de diclofénac sodique à partir des microparticules d'alginate ; rapport PA/polymère=1/3.

D'autre part, l'étude des effets des paramètres X1, X2 et X3 sur la cinétique de libération est détaillée sur les figures III.8 à III.10. Il est impératif de noter que les paramètres Y1, Y2 et Y3 correspondent à la libération du DS après 2, 4 et 8 h respectivement.

A l'issu de ces figures, il est clair que si X1 diminue et X2 augmente, la libération Y3 diminue, ceci indique qu'une corrélation négative entre Y3 et X2 (figures III.8b-III.10b). De plus, pour des niveaux moyen et inférieur de X3, l'augmentation de X1 n'a pas d'influence sur la libération in vitro Y3. Cependant, en augmentant X1 la libération n'est prononcée que pour des niveaux moyen et élevé de X2 et X3 d'où l'existence d'une corrélation positive entre Y3 et X1.

Ainsi, la libération Y3 n'est observée qu'à un niveau X1 élevé et aux niveaux moyens et élevés de X2.

En conclusion, les résultats obtenus montrent que l'effet de la concentration du span 80 n'est pas significatif, tandis que l'effet de la vitesse d'agitation et celui du rapport PA/polymère sont significatifs où la vitesse d'agitation doit être à un niveau bas (200tr/min) alors que le rapport PA/polymère soit fixé à un niveau élevé (1/3).

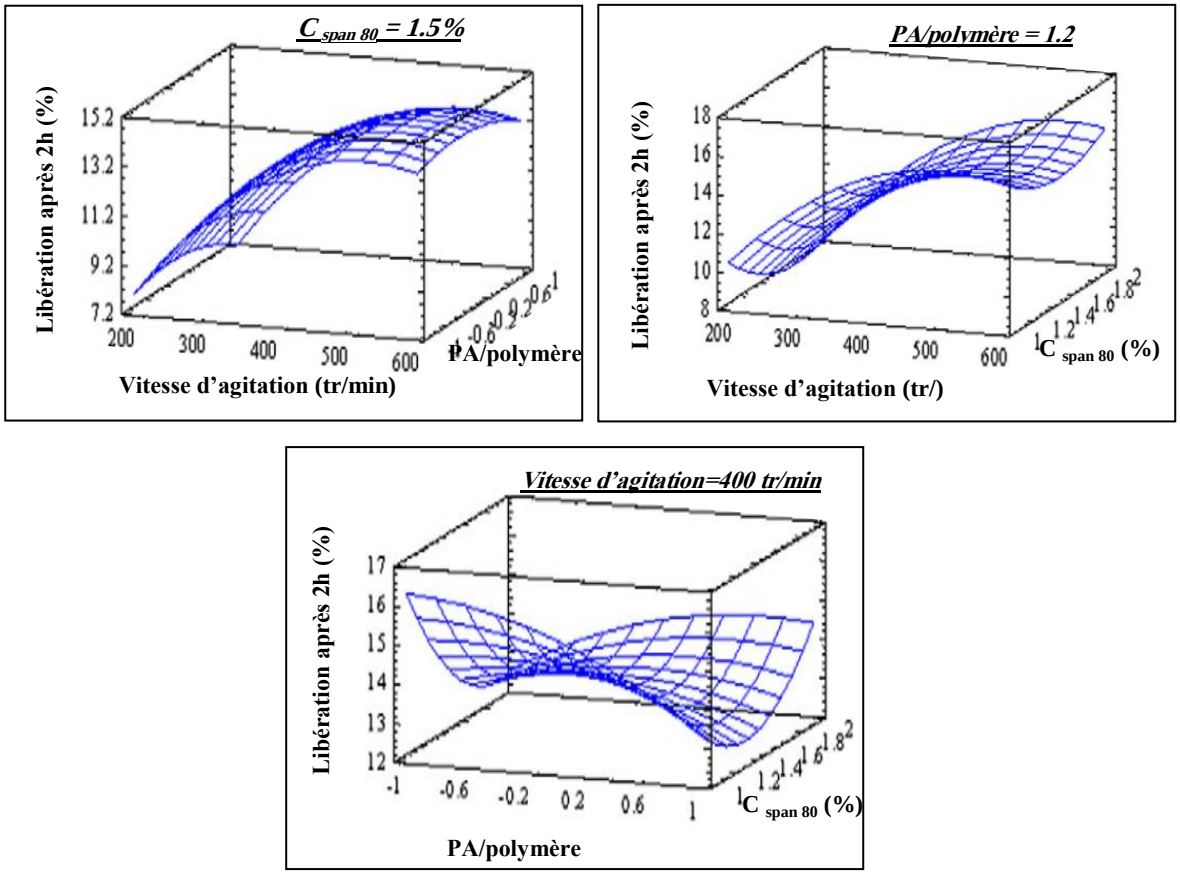


Figure III.8. Représentation tridimensionnelle de l'effet de la vitesse d'agitation (X1), rapport PA/polymère (X2) et concentration du span 80 (X3) sur la libération du DS (Y1), après 2 h.

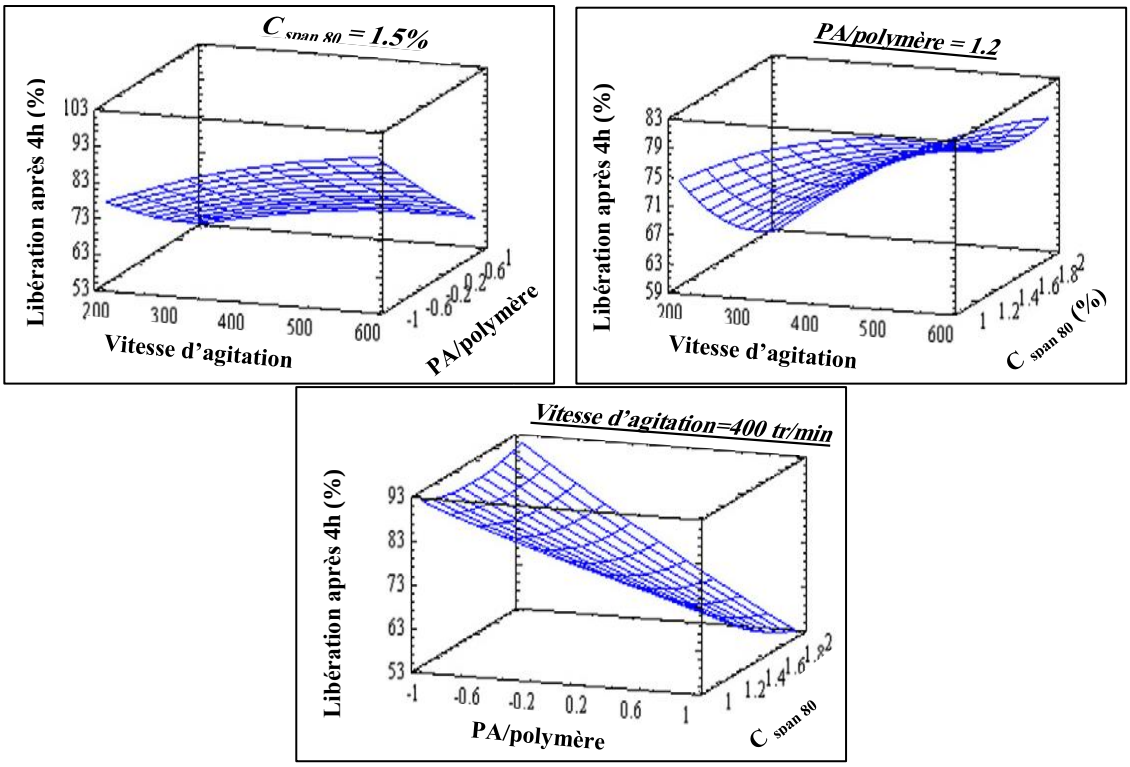


Figure III.9. Représentation tridimensionnelle de l'effet de la vitesse d'agitation (X1), rapport PA/polymère (X2) et concentration du span 80 (X3) sur la libération du DS (Y1) après 4 h.

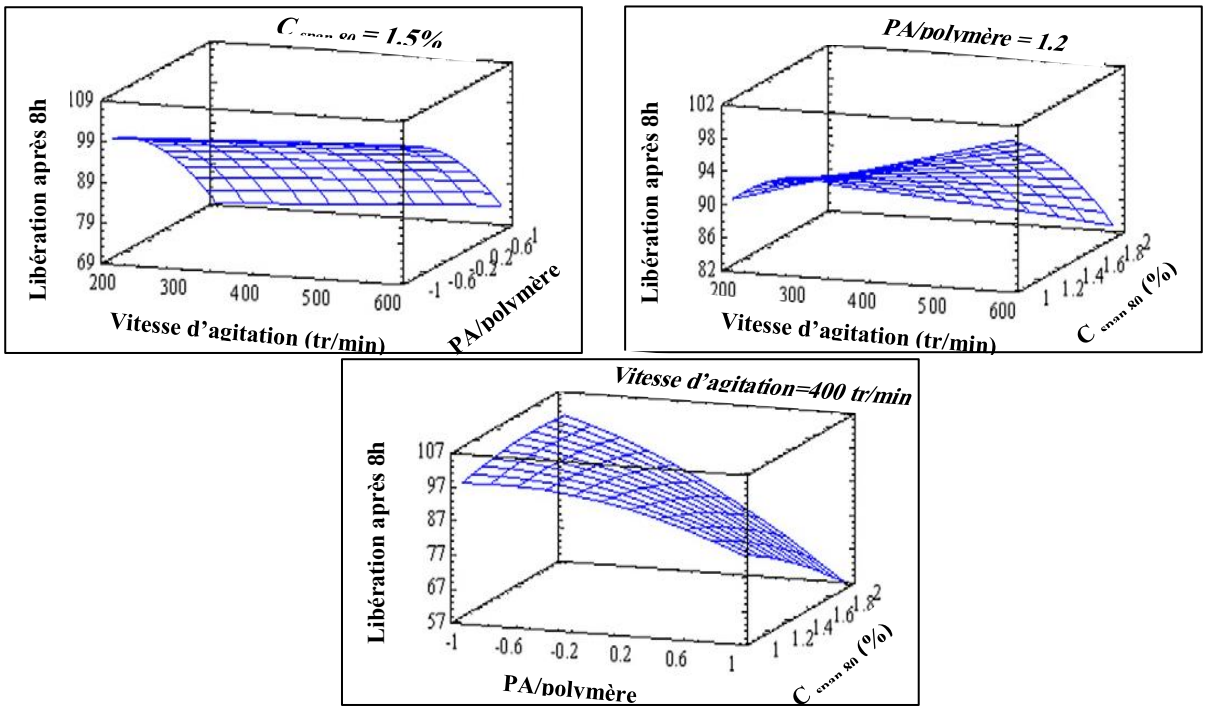


Figure III.10. Représentation tridimensionnelle de l'effet de la vitesse d'agitation (X1), rapport PA/polymère (X2) et concentration du span 80 (X3) sur la libération du DS (Y1) après 8 h.

De ce fait, les meilleures conditions conduisant à une libération minimale après 4h correspondent à la formulation F14 (45.26%) où la vitesse d'agitation est de 400 tr/min, le rapport PA/polymère est de 1/3 et la concentration du span 80 est de 2%.

Chapitre IV
Partie expérimentale

IV.I. Introduction

Notre travail consiste à encapsuler un PA dans des microsphères en vue de préparer un système à libération modifiée. Pour ce faire nous avons utilisé deux bio polymères très impliquées en industrie pharmaceutique.

L'étude menée vise à atteindre les objectifs suivants :

- Application de l'encapsulation par la combinaison : émulsification puis gélification interne.

- Caractérisations des microsphères obtenues.

Pour ce faire, nous avons utilisé les matières premières, le matériel suivant et nous avons appliqué les méthodes expérimentales suivantes.

IV.2. Matières premières

Les matières premières utilisées sont présentées dans le tableau IV.1.

Tableau. IV. 1. Matières premières utilisées.

Matière première	***Role***
Alginate de sodium	Polymère matriciel
Chitosane	Polymère d'enrobage
Span 80	Agent d'émulsification
Huiled'olive	Phase huileuse
Eau distillée	Véhicule

IV.2.1. Principe actif [74]

C'est une substance chimique qui possède des propriétés thérapeutiques. Cette substance n'est pas obligatoirement chimiquement pure. Elle peut être composée de plusieurs isomères.

IV.2.2 Excipients

a. Huile d'Olive

Est une variété d'huile alimentaire, à base de matière grasse végétale extraite des olives (fruits d'olives cultivés en oliveraie d'oléiculture) lors de la trituration dans un moulin à huile,

Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive sont résumées sur le tableauIV.2.

Tableau. IV. 2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles d'olives[75]

Caractéristique	***Unité***	***Description ou valeur***
Aspect	---	Très fluide
Odeur	---	Sans
Couleur	---	Vert
Gout	---	Intense ou fruit vert
Miscibilité		Non miscible à l'eau
Viscosité	Cp	84
Masse volumique à 20°C	g/cm^3	0.914-0.918

b. Alginate de sodium

L'alginate se présente en poudre ou granulés qui donnent des solutions dont la viscosité varie avec le degré de polymérisation.

Les caractéristiques de l'alginate de sodium utilisé dans cette étude sont présentées dans le tableau IV.3.

c. Chitosane

C'est un polysaccharide qui présente dans la carapace des crustacés et des mollusques. Vue sa les groupements amines que contient la molécule du chitosane, il trouve de nombreuses applications en pharmacologie, cosmétologie, médecine et en traitement des eaux.

Les caractéristiques du chitosane utilisé dans cette étude sont présentées dans le tableau IV.4

Tableau. IV. 3. Caractéristiques physico-chimiques de l'alginate de sodium (Sigma-Aldrich).

Caractéristique	***Unité***	***Description ouvaleur***
Aspect	---	Poudre blanche-jaunatre.
Odeur	---	Sans
Gout	---	Sans
Solubilité	---	- Insoluble: Ethanol, ether, chloroform, solvents organiques, solutions aqueuses (pH <3). - Solution colloïdale: dansl'eau.
Point de Fusion	°C	> 300
Viscosité (1g/1)	Cp	15-25

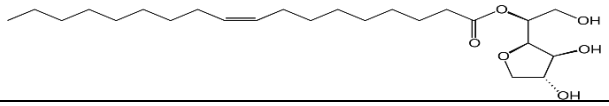
Tableau. IV. 4. Caractéristiques physico-chimiques du chitosane utilisé (Sigma-Aldrich)

Caractéristique	***Unité***	***Description ouvaleur***
Aspect	---	Poudre amorphe de couleur beige
Odeur	---	Sans odeur
Solubilité		- Insoluble dans l'eau et les solvants organiques. - Soluble dans les acides dilués (comme l'acideacétique)
Degré de dés-acétylation	%	75-85
Poidsmoléculaire	kDa	190-310
Point de Fusion	°C	
Viscosité à 1% dans l'acide acétique à 1% (25°C)	cps	200-800

d. Span 80

De la famille des esters des orbitane (classe de tensioactifs non ionique). Il est utilisé comme émulsifiant dans la préparation des émulsions eau dans huile. Les paramètres de ce tensioactif sont décrits dans le tableau IV.5.

Tableau. IV. 5. Caractéristiques du tensioactif utilisé (Sigma-Aldrich)

Caractéristique	***Description ou valeur***
Nom chimique	Monooléate de sorbitane
Formulechimique	
Masse Molaire	428.62 g/mol
Densité (20°C)	0.986 g/cm^3
HLB	4.3

e. Autres réactifs chimiques

Tous les réactifs chimiques utilisés dans ce travail sont ordonnés dans le tableau IV.6.

Tableau. IV. 6. Réactifs chimiques utilisés

Réactif	***Formule***	***Fournisseur***
Acideacétique glacial	$C_2H_4O_2$	KGaAAllemagne
Acidechlorhydrique	HCl	Honeywell FLUKA
Acétate de sodium	$C_2H_3NaO_2$	VWR Chemical
Carbonate de calcium	$CaCO_3$	UNIVR
Chlorure de potassium	KCl	VWR CHEMICALS
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	HUMISTORE
Chlorure de sodium	Na Cl	VWR Analarnormapur
Dihydrogénophosphate de potassium	KH_2PO_4	VWR CHMICALS
Dihydrogénophosphate de sodium	NaH_2PO_4	VWR International SAS
Hydrogénophosphate de potassium	$KHPO_4$	VWR Analarnormapur
Tween 80	$C_{64}H_{124}O_{26}$	VWR

IV.2.3. Matériel

Les manipulations réalisées ont nécessité d'utiliser le matériel détaillé dans le tableau IV.7.

Tableau. IV. 7. Matériel utilisé.

Matériel	***Marque***
Balance électrique	Sartorius
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	SCIENTIFICA
pH-mètre	HANNA
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier(FTIR)	SHIMADZU
Spectrophotomètre UV-Vis	(UV mini-1240 SHIMADZU)
Microscope optique	OPTIKA
Dissolutest	SOTAX
Conductimètre	WTW
pied à coulisse	ABSOLUTE DIGIMATIC

IV.3. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation

IV.3.1. Caractérisations spectrales des matières premières

Cette partie consiste à caractériser le PA, l'alginate de sodium et le chitosane par UV-Vis et FTIR.

a. Caractérisation par UV-Vis du PA

- ***Principe [76]***

La spectrométrie d'absorption moléculaire dans le domaine ultraviolet, dont l'absorption des longueurs d'ondes allant de18à380nm, et celle du visible de 380à800nm, est une technique d'analyse des composés chimiques à partir des groupements d'atomes qui absorbent le rayonnement électromagnétique.

L'absorption de la lumière UV-Vis par les molécules provoquent des transitions électroniques avec différentes d'énergie où les longueurs d'onde d'absorption dépendent de

du type de l'électron de la substance analysée.

- ***Mode opératoire***

Il résume dans la détermination de la longueur d'onde et dans l'établissement de la courbe d'étalonnage.

En premier lieu, le balayage a été effectué pour des solutions aqueuses de PA de 20mg/l aux pH 1.2, 7 et dans l'eau distillée. La courbe obtenue permet d'identifier la valeur de max de la molécule de PA.

En second lieu, et aux longueurs d'onde maximales identifiées, on mesure les DO pour une série de solutions aqueuses préparées aux pH 1.2, 7 et dans l'eau distillée de concentrations allant de 0 à 50 mg/l. Les courbes d'étalonnage obtenues s'expriment par la variation de la DO en fonction de la concentration du PA.

b. Caractérisation des matières premières par FTIR

- ***Principe [76]:***

La spectroscopie IR est basée sur l'absorption des radiations électromagnétiques qui corresponds à des longueurs d'onde comprises entre 0.78 et 1000 µm, cette bande spectrale est devisée en trois régions : proche IR (12 500 à 4000 cm^{-1}), moyen IR (4000 à 400 cm^{-1}) et IR lointain (400 à 10 cm^{-1}). La région du moyen infrarouge est la plus utile du fait des informations aboutis sur les structures des composés examinés.

La FTIR est une technique d'analyse utilisée pour obtenir les spectres d'absorption ou d'émissionoùl'échantillonesttraverséavecunfaisceaudelumièrepolychromatiquecequi entraine une absorption simultanée aux différents nombres d'onde. La séparation des différentes radiations et la mesure de l'énergie absorbée pour chacune d'elles est réalisée à l'aided'unsystèmedefrangesd'interférences.Lamesuredel'intensitélumineusedechaque frange permet de déterminer interféron-gramme.

- ***Mode opératoire***

Les spectres FTIR ont été obtenus par préparation des pastilles de PA/KBr, alginate de sodium/KBr et chitosane/KBr avec une proportion de 1 %. Tous les échantillons ont été préalablement séchés à l'étuve à 50°C pendant 6h.

Lapréparationdespastillesaétéréaliséeparbroyagedelasubstanceàanalyserenprésence du KBr, le mélange est ensuite comprimé sous une pusse (presse).Enfin, les pastilles sont été mises pour analyse FTIR où les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la

gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}.

IV.3.2. Préparation des microparticules

a. Préparation des solutions tampon, **[77]**

- *Solution tampon acétate pH4.5*: Dans une éprouvette graduée de 1 L, introduire 800 ml d'eau distillée et ajouter 2,99 g de sodium d'acétate puis laisser sous agitation jusqu'à dispersion totale de la poudre.
- *Solution tampon pH 1.2 :* Cette solution se compose de chlorure de potassium et l'acide chlorhydrique (50ml de KCl à 0,2 N+85ml d'HCl à 0,2N) dans 200ml d'eau distillée.
- *Solution tampon pH 7.4 :* Cette solution contient 2.315 g de sodium hydrogeno phosphate de sodium anhydre (Na_2HPO_4) et 4.358 g de dihydrogenophosphate de sodium anhydre (NaH_2PO_4) dans 800 ml d'eau distillée .Le pH final de la solution est ajusté avec une solution d'acide phosphorique ou une solution de NaOH à 0,1M. Le volume final de la solution est ajusté à1000ml avec l'eau distillée.
- *Solution tampon saline pH=7.4 :* Cette solution contient 2.38g de $Na_2HPO_4 .12H_2O$ (ou l'équivalent de Na_2HPO_4anhydre), 0.19g de KH_2PO_4et 8g de NaCl dans 1000ml l'eau distillée.

b. Principe du procédé d'émulsification

Cette expérience consiste à préparer une émulsion eau dans huile en utilisant un agent émulsifiant (Span 80).

Pour ce faire, nous avons préparé des émulsions E/H en faisant varier les concentrations d'alginate, de carbonate de calcium ainsi que la proportion de la phase aqueuse.

c. Etapes de préparation des microsphères

1. Préparation de la solution (S1) d'alginate de sodium et de PA

Cette étape consiste à dissoudre une masse d'alginate de sodium et une masse de PA dans un volume d'eau distillée.

2. Préparation de la suspension de carbonate de Calcium

Une masse de carbonate de calcium est mis en suspension aqueuse afin d'assurer les ions

calcium.

3. Préparation de la phase aqueuse(S2)

LaphaseaqueuseestcomposéedelasolutionS1etdelasuspensiondecarbonatedecalcium. Le mélangea été mis sous agitation pendant15min.

4. Préparation de la phase huileuse

Il s'agit de la solution d'huile d'olive à une teneur de 1.5% de Span 80.

5. Préparation de l'émulsion

Elle consiste à ajouter la phase aqueuse(S1) à la phase huileuse portée sous agitation à1000 tr/min pendant15min.

6. Gélification

Elle est assurée par addition graduelle à l'aide d'une pipette, un volume(V)d'acide acétique glacial (Vacide acétique glaciale) qui dépend de la masse de $CaCO_3$

7. Lavage et rinçage des microsphères

La phase huileuse a été éliminée et les microsphères obtenues contenues dans la phase aqueuse ont subi deux opérations de lavage et de rinçage :

- La première par une solution de $CaCl_2$(0.05M)à1%detween80 (V=150ml),où le mélange a été porté sous agitation.
- La deuxième, et après avoir récupérés les microsphères par filtration, elle a été réalisée par une solution tampon acétatepH4.5.

8. Enrobage par chitosane

Cette étape consiste à faire mélanger les microsphères obtenues dans une solution de chitosane à 0.5 % (dans l'acide acétique glacial) contenant le $CaCl_2$ à 0.5%. Le mélange a été porté sous agitation pendant 1h.

En fin, les microsphères ont été filtrées puis rincées à l'aide d'une solution de $CaCl_2$ à 0.5%.

9. Séchage

Apres récupération des microsphères, ces dernières ont été portées dans des boites de pétris

puis séchées à l'air libre.

IV.4.3. Caractérisation des microsphères

a. Analyse par microscopie optique

La morphologie et la forme des particules prises à l'état humide et à l'état sec a été réalisée à l'aide de microscope optique.

b. Analyse granulométrique des particules

Un choix au hasard de trois séries de particules contenant 20 particules prises à l'état sec et à l'état humide a été réalisé. Puis nous avons mesuré le diamètre moyen à l'aide d'un pied à coulisse.

c. Etude du gonflement des particules

Cette étude permet d'établir son taux d'absorption et l'augmentation de volume des particules au cours du temps. Trois milieux de gonflement ont été testés :

Milieu 1 : solution tampon pH=1.2.

Milieu 2 : solution tampon pH=7.4.

Milieu 3 : eau distillée.

Le mode opératoire consiste à réaliser les étapes suivantes :

- Peser environ 50mg (n fois) de particules sèches sur une balance analytique de précision.
- Incorporer ces particules dans 25ml du milieu de dissolution.
- A des intervalles de temps réguliers (15min pendant la 1^{er}h puis chaque 1h jusqu'à 8h), les particules sont retirées du milieu de dissolution, posées sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide;
- Peser les capsules obtenues à l'aide d'une balance analytique de précision.

Le taux de gonflement (TG) sera calculé en utilisant l'expression (IV.1)

$$TG\ (\%) = \frac{mo - mi}{mo} \quad \text{(IV.1)}$$

Avec m_o : Masse initiale de PA m_i : Masse finale de PA

d. Quantification du PA encapsulé

0.4g de particules séchée se immergées dans 25ml de solution tampon saline (pH=7.4) dans un flacon ambré. Ce mélange est agité à 200 tr/min pendant 24h.Ensuite, la solution a été centrifugé à 5000tr/min et le surnageant a été recueilli pour calculer la quantité de PA présente dans les billes. Le contenu de PA sera calculé à partir de l'absorbance mesurée à une longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{max}) par spectrophotomètre UV-Vis.

Les différents paramètres d'encapsulation seront calculés en utilisant les expressions I.1 à I.3.

e. Etude de la cinétique de libération du PA encapsulé

Le mode opératoire du test de dissolution in vitro de KF a été réalisé dans un dissolut est. L'expérience consiste à utiliser un godet de 900 ml de milieu de dissolution (pH1.2etpH 7.4etl'eaudistillée).Pendant cet essai le dissolut est réglé à un et température de 37±0,5

°C et une agitation de 100 tr/min. Introduire 100 mg de microparticules dans le panier et le placer dans le dissolut est sous agitation pendant un intervalle de temps bien déterminé. Prélever 10 ml de milieu de dissolution et filtrer immédiatement d'un filtre seringue de porosité0,45µmpuisremplacélemêmevolumeprélevéaveclemilieudedissolutionpour la reconstitution du volume totale du godet. Les échantillons obtenus sont analysés par spectrophotométrie UV-Vis.

f. Analyse par FTIR

Cette analyse a été réalisée sur les microparticules séchées à l'étuve à 50°C pendant 6h.

IV.4 Présentation de quelques résultats obtenus

IV.4.1. Formulation des émulsions eau/huile

Les émulsions eau dans huile sont formulées par dispersion des gouttelettes de la solution aqueuse contenant l'alginate de sodium et le PA dissout dispersée dans l'huile d'olive contenant le span 80.

Sur ce principe, nous avons réalisé les 8 combinaisons décrites dans le tableau IV.10.

Sur les 8 formulations, nous avons effectué une vue par microscope optique .Les photos des émulsions obtenues sont illustrées sur les figures IV.1 etIV.2.

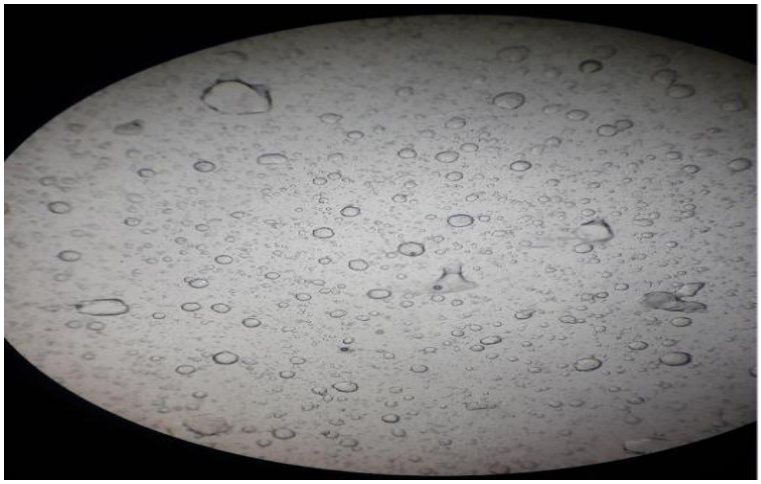


Figure. IV. 1. Vue microscopique de l'émulsion E/H à 30% de phase aqueuse ; grossissement : x100.

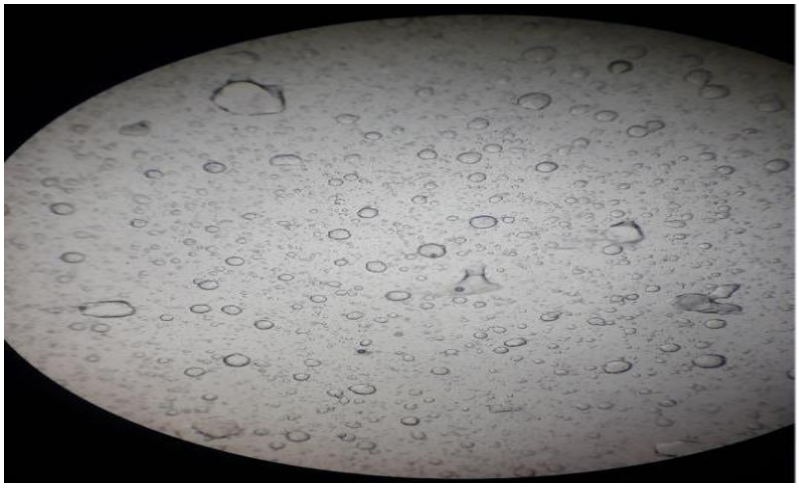


Figure. IV. 2. Vue microscopique de l'émulsion E/H à 40% de phase aqueuse ; grossissement x100.

Pour les formulations d'émulsions E/H aux proportions correspondantes, les gouttelettes sont individualisées et possèdent des formes circulaires (pour toutes les concentrations d'alginate de sodium).

IV.4.2 Microsphères obtenues

Pour les deux formulations obtenues, nous avons tenté à optimiser les concentrations de carbonate de calcium et celle de l'acide acétique glacial.

A cette étape, seuls les essais de 1 et2 ont été réalisés et ceci sans passer aux étapes de

séparation et de séchage.

Les formulations correspondantes sont illustrées sur les figures IV.3 à IV.4.



Figure. IV. 3. Aspect des microparticules obtenues pour l'essai N°1.



Figure. IV. 4. Aspect des microparticules obtenues pour l'essai N°2

Conclusion générale

Vue que l'objectif initial était réorienté vers la mise en détail d'une étude théorique, ceci nous a permis de synthétiser les constatations suivantes :

- La microencapsulation est une méthode usuelle pour la fabrication des systèmes à libération prolongée car elle permet d'offrir aux agents matriciels utilisés, la possibilité de modulation de la libération.

Cette technique a montré son efficacité pour l'encapsulation des matières de diverses natures, dont cette efficacité est dédiée par l'aspect qualitatif et quantitatif des systèmes microparticulaires obtenus.

- Les polymères biodégradables voire les agents matriciels enrobant les microparticules, constituent le paramètre clé pour la mise en formulation de ces derniers. L'alginate de sodium est le polymère le plus utilisé qui vérifié outre sa propriété principale, les exigences suivantes : agent de stabilisation, agent de suspension, agent de viscosité, liant pour comprimés, agent de désintégration pour comprimés et émulsifiant, … De ce fait, l'industrie pharmaceutique voire biotechnologique s'est intéressé toujours aux sels d'alginate (utilisés seul ou combiné avec autres biopolymères), ceci a été reflétée par le développement de nouvelles formes contenant un ou plusieurs substances actives, issues de différentes techniques d'encapsulation.
- Les microsphères d'alginate préparées par émulsification/gélification interne, présentent certaines caractéristiques telles que : la morphologie, la taille, la texture, les paramètres d'encapsulation et la cinétique de libération. Celles-ci dépendent fortement des paramètres de formulation et ceux du procédé.

L'analyse du travail réalisé par Mahmoud et al (2013). Et qui avait pour objectif de formuler les microparticules à libération contrôlée en utilisant la technique d'émulsification/gélification interne, nous a permis de constater que :

- L'application des plans d'expérience a conduit à la conception de quinze formulations basées sur la variation de trois paramètres à savoir : la vitesse d'agitation, le rapport molaire : quantité de principe à la quantité d'alginate de sodium et la concentration de l'agent émulsifiant : span 80.
- L'efficacité d'encapsulation pour toutes les formulations se situe entre 66.2 % et 96.36%.

- Les résultats achevés par le chercheur révèlent que l'augmentation de la vitesse d'agitation provoque la diminution de la taille des microsphères. Cependant, l'augmentation de la concentration du span 80 conduit aux microparticules lisses et poreuses. En effet, pour la plus part des formulations la cinétique de libération du diclofénac sodique est d'ordre zéro.

En perspective, nous proposons d'atteindre à avenir les objectifs initialement ciblés, à savoir :

- Préparation et optimisation des microparticules d'alginate seul ou combiné aux d'autre biopolymères, en application l'émulsification/gélification interne ;
- Caractérisation physico-chimique et biopharmaceutique des microsphères obtenues ;
- Etude comparative avec d'autres techniques d'encapsulation.

Références Bibliographiques

[1]. B.Boh, D.Kardos, « Microcapsules patent and Product" Journal of microencapsulation landon,6,(2003).

[2]. C.Cini, P.Badot, E.Guidal. "Chitine et chitosane du biopolymères à l'aaplication "Presses universitaires de franche-comté (2009)

[3]. E. Murano, "Use of Natural polysaccharides in the microencapsulation techniques"Journal of Applied ichtyology, 14, (1998)

[4]. I.Boukhouya,"Elaboration de microparticules chargées d'Amoxicillineet de Théophylline à partir de Polymères Biodégradables ; Etude Cinétique De Leur Libération "Thèse De Doctorat, Université De Jillali De Didi Bel Abbes (2018)

[5]. J.P.Blitz, V.M. Gun'ko, D. Poncelet, "Microencapsulation: Fundamentals, methods and application. " Heidelberg Publishers (2006)

[6]. B.Baras.,J.Gillbard., " Preparation and characterization of protein-loadedpoly(ε-caprolactonemicroparticles for oral vaccine." International journal of pharmaceutics 184,(1999)

[7]. J. Richard,J.Benoit.P"Microencapsulation ", Techniques de l'ingénieur, J2210,2.(2013).

[8]. P.B.Deasy,M.Dekker, " Microencapsulation anddrugProcessus." drugs and pharmaceutical sciences series, New York ,20, (1984).

[9]. C.Thies,"Microencapsulation Encyclopedia"Polymer Science and Engineering, 9, (1987).

[10]. B.K.Green., L .Scheleicher,."Manifold record material".US .Patent,10, (1956.)

[11]. T.Vandamme, D. Poncelet, P. Subra-Paternault, "Microencapsulation des sciences aux technologies", Technologique &Doucument, Paris,(2007).

[12]. Y.ZhuImmobilized, S.T. Yang., "Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable resources", Elsevier Sience ,(2006)

[13]. B.V.Elsevieré «bioprocessing for valueadded Products from Renevable Resource» technologies and application, 9.(2007)

[14]. S.L.Poe, M.Kobaslija, T.McQuade," Mechanism and application of a Microcapsule enabed multicatalyst reaction " journal of the american chemical society 129,(2007).

[15]. C.Dubernet, J.C.Rouland, J.Pbenoit ," Ibuprofen-loaded ethylcellulose microspheres : analysis of the matrix structure by thermal analysis " Journal of Pharmaceutical Science 80,(1991).

[16]. M.Stevanović, J.Savić, B.Jordović, D.Uskoković, B.Biointerfaces, "fabrication, in vitro degradation and the release behaviours of pol(DL-lactideco-glycolide " 59,(2007)

[17]. M.Chávarri, I. Marañón, R.Ares, F.C.Ibáñez, F.Marzo, M.D.C.Villarán," microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions " International. Journal of Food Microbiol, 142, (2010)

[18]. S.Bourgeois, M.A.Bolzinger, J.Pelletier, J.P.Valour, S.Briançon , InternationalJournal of Cosmetic Science , 32,(2010)

[19]. K.C.Gupta, M.N.V Ravi Kumar, «Materials in Medicine » , Journal of Material Science , 12,(2001).

[20]. S.H.Anwar,B.Kunz, " the infuence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules : Comparison of spray granulation,spray drying, freeze drying " Journal of food Engineering, 105,(2011)

[21]. A.Diego-Taboada, L.Maillet,J.H.Banoub,M.Lorch, A.S.Rigby,A.N.Boa, G.Mackenzi, «Anchorablephosphorylcholine copolymer synthesis and cell membrane membrane mimetic antifouling coating fabrication for blood camparible application »Journal ofMaterials Chemistry .(2013)

[22]. M.Fuchs, C.Turchiuli, M.Bohin, M.E.Cuvelier, C.Ordonnaud, M.N.Peyrat-Maillard« Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration », Journal of food Engineering, 75, (2006)

[23]. S.Leclercq,C.Milo,G.Reineccius, Effects of Cross-Linking,« Capsule Wall Thickness, and Compound Hydrophobicity on Aroma Release from Complex CoacervateMicrocapsules»Journal of Agricultural and Food Chemistry,57,(2009)

[24]. S.Giraud, " Microencapsulation d'un diisocyanate et d'un phosphate d'ammonium - Application élaboration d'un système polyuréthane monocomposant à propriété retardatrice de flamme pour l'enduction textile", Thèse de doctorat, UniversitédeLille, (2002).

[25]. A.Nesterenko, "Étude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue deleur application en microencapsulation ". thèse de doctorat, Université de Toulouse, (2012).

[26]. J.Bile , « Micro encapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés », Thèse de Doctorat, Université Cloud Bernard-Lyon l, (2015).

[27]. https://www.capsulae.com/: consulté le 29/04/2020.

[28]. C.Arroudj,H.Benameur, "Etude d'un procédé de micro encapsulation par émulsification d'un principe actif anti-inflammatoire et caractérisation biopharmaceutique", Mémoire de Master, Université A. Mira, Bejaia (2016).

[29]. É.M. Soares-La tour, « Synthèse de microcapsules biosources pour des applications cosméto-textiles », Université Claude Bernard - Lyon I, (2012).

[30]. C.P. Reis, R.J. Neufeld, A.J. Ribeiro, F. Veiga, « Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles », Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 2 (8), (2006)

[31]. E.Morales,M.Rubilar,C.BurgosDíaz,F.Acevedo,M.Penning,C.Shenec,"Alginate/Shella c beads developed by external gelation as a highly efficient model system for oil encapsulation with intestinal delivery",Food Hydrocolloids, (2016)

[32]. Y.Y.Yang, T.S.Chung,N.P. Ng, « Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method» . Biomaterials, 22,(2001)

[33]. S.S.Shah, Y.Cha,C.G.Pitt, «Poly(Glycolic Acid-Co-Dl-Lactic Acid) – Diffusion or Degradation Controlled Drug Delivery ». Journal of Controlled Release. 18,(1992)

[34]. M.L.Brusch,«Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems, chapter 5: Mathematical models of drug release » , Edition Woodhead Publishing, (2015).

[35]. Colloque chimie verte journée biopolymère, biomatériaux, chimie verte www.chimievert.com consule le (29.04.2020)

[36]. J.Fourier. "platforme de chimie analytique UFR de chimie "université Grenoble1.2008

[37]. . www.techniques-ingenieur.fr consule le(02.05.2020)

[38]. fr.wikipedia.org/wiki/ biopolymère consule le 04.05.2020

[39]. L.BOUZIDI, S.CHANOUNE, « Elaboration et Caractérisation d'un Composite Totalement Biodégradable », Université A. MIRA – BEJAIA,) 2017).

[40]. https://www.google.com/ search?q=biopolymeres- organigramme consule le (18/03/2020).

[41]. D.Voet ,J.G.Voet. «Biochimie » 2 édition2ème édition traduction de 3ème édition américaine par : G.Rousseau, L.Domenjoud.(Gross et Kalra, 2002);.D.Rutot, P.Dubois. « Les biopolymères biodégradable l'enjeu et de mai »

[42]. N.Jarroux. "Les biopolymères différentes familles, propriétés et applications", Technique de l'ingénieur, Paris(2008)

[43]. Aljawish, "Fonctionnalisation enzymatique du chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologiques et physico-chimiques de ces nouveaux biopolymères "Université de Lorraine,thèse de mémoire doctorat .(2013).

[44]. Rintsanal. "contrubution a la valorisation des dechets de Crabe en vue du produire de chitosane par purification enzymatique" (2016)

[45]. S.Ouriachi , " Etude des matériaux a changement de phase (MCP) et leur application dans le stockage thermique " thèse doctorat ,université Saad de Blida.(2019)

[46]. K.lakrid "adsorption du cadmium en system contenu sur la mont marillonite pontée a l'Aliminuim encapsulé par l'Alginate de sodium ".Thèse de doctorat. Université Saad de Blida (2014)

[47]. E.Vincent « les alginates et leurs applications en pharmacie et ingénierie. application à la construction d'un biomatériau » , Sciences pharmaceutiques, Thèse de doctorat ,université de Lorraine .(2010)

[48]. H.Bewa, " Matériaux polymères biodégradables et applications (Note de Synthèse II). (Synthèse sur les produits biodégradables ". France, ADEME Éditions, 16,) 2006)

[49]. G.Castelan, "Polymères biodégradables. In Anonyme, Bioprocédés dans les domaines de la santé, de l'agroalimentaire et de la chimie " . Éditions Techniques de l'ingénieur. France,) 2010).

[50]. L.Avérous, "Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch" A Review. Journal of Macromolecular Science ,Polymer Reviews, 44. (2004)

[51]. http://www.cndp.fr/ portails-disciplinaires/ file admin user uploadé/Physique-chimie/Ressources_RNSTL/Polymeres.pdf consulte le (25/04/2020).

[52]. https://www.google.com/ search?q=biopolymeres- organigramme consulte le (29/025/2020)

[53]. H.N.Rabetafika,M.Paquot,P.Dubois , " Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique. Biotechnologie, Agronomie "Société et Environnement. 10. (2006).

[54]. Accountabilityiskey - Environmental communications guide for bioplastics "Guide des bonnes pratiques en communication pour les biopolymères "., Européen Bioplastiques ,Berlin,(2012)

[55]. J.H.Son, Murphy, R.J.,R.Narayan, Davies, G.B.H. " Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics " Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, (2009)

[56]. .Luckachan, G.E.,Pillai, C.K.S. " Biodegradable Polymers- A Review on Recent Trends and Emerging Perspectives" Journal of Polymers and the Environment, 19 ,(2011).

[57]. .S.Madival, R.Auras, S.P.Singh, R.Narayan"Assessment of the environmental profile of PLA, PET and PS clamshell containers using LCA methodology"Journal of Cleaner Production, 17. (2019)

[58]. N.Jarroux, "Les biopolymères :différente familles, propriétés et application. In Anonyme,Bioprocédés dans les domaines de la santé, de l'agroalimentaire et la chimie. " Technique de l'ingénieur, Paris,(2010).

[59]. G.Castelan, "Applications Polymères biodégradables " Techniques ingénieur,(2010)

[60]. A.Castiaux, H.N.Rabetafika, L.Janssens, M.Paquot, P.Dubois, "Développement durable et ressources renouvelables "université de namur. (2006).

[61]. J-Y.Leong,W-H.Lam,K-W.Ho,W-P.Voo,M.F-X.Lee,H-P.Lim,S-L.Lim,B-T.Tey,C.Poncelet,E-S. Chan, "Review, Advances in fabricating spherical alginate hydrogelswith controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems", Particuology, (2015).

[62]. N.T.ThanhUyen, Z.A. Abdul Hamid, N.X. Thanh Tram, N.Ahmad, "Fabrication of alginate microspheres for drug delivery: A review", International Journal of Biological Macromolecules, 153,(2020).

[63]. www.cuisine-innovation.comconsulte le (27-07-2020)

[64]. S.H.Ching, N.Bansal, B. Bhandari, "Alginate gel particles–Areview of production techniques and physical properties" ,Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57,(2017).

[65]. J.Paques, "Formation of Alginate nanospheres", Thèse de Doctorat, Université de Wageningen,(2014).

[66]. C. M. Silva, A. J. Ribeiro, I. V. Figueiredo, A. R. Gonc¸alves, F. Veiga, "Alginate microspheres prepared by internal gelation: Development and effect on insulin stability", International Journal of Pharmaceutics, 311, (2006).

[67]. G. W. Vandenberg, J.Nouè, "Evaluation of protein release from chitosan-alginate microcapsules produced using external or Internal Gelation ", Journal of microencapsulation 18,(2001).

[68]. H. Guan, D. Chi, J. Yu, H. Li, "Encapsulated ecdysone by internal gelation of alginate microspheres for controlling its release and photostability", Chemical Engineering Journal, 168,(2011).

[69]. H.Song,W.Ramdas,.K.Paul, K.DileepW.Yu, M.Gao, X.Liu, X.Ma, "Microencapsulated probiotics using emulsification technique coupled with internal or external gelation process", Carbohydrate Polymers, 96,(2013).

[70]. A.T.Holkem,G.C.Raddatz,J.S.Barin,E.M.Flores,E.I.Muller,C.F.CodevillaC.Jacob-Lopes, C.R.. Grosso, "Production of microcapsules containing Bifidobacterium BB12 by emulsification/internal gelation", LWT - Food Science and Technology 76(2017)

[71]. D.Quong,RJ.Neufeld,G.Skjåk-Bræk,D.Poncelet,"External Versus Internal Source of Calcium During the Gelation of Alginate Beads for DNA Encapsulation", Biotechnology And Bioengineering, 57,(1998)

[72]. M.Ahmed,S.AbdEl-Rasoul,S.H.Auda,Mohamed,A.Ibrahim,"Emulsification/internal gelation as a method for preparation of diclofenac sodium–sodium alginate micro particles", Saudi Pharmaceutical Journal, 21,(2013).

[73]. D.Perumal,"Microencapsulation of ibuprofen and Eudragit RS100 by the emulsion solvent diffusion technique ".International Journal of Pharmaceutics, 218, (2001).

[74]. https// www.futura-sciences.com : consulte le (30/04/2020)

[75]. https// fr.m.wikipedia.org : consulte le (30/04/2020)

[76]. M.Hamon,F.Pellerin.,M.Guernet,G.Mahuzeir, "Chimie analytique, Méthodes spectrales et analyse organique", tome 3", Edition Masson, 2ème Edition, Paris,(1990)

[77]. Pharmacopée Européenne ,10éme Edition,(2009)