REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master En chimie

Spécialité : Chimie Macromoléculaire

Thème

Etude de l'Encapsulation Des Composés Phénoliques

Par

BENAICHA ikram

Soutenu le : 26 Juin 2023

Devant le jury composé de :

REBOUH.S	Grade : MCA	Université de Médéa	Présidente
FARCH.S	Grade : MCB	Université de Médéa	Examinatrice
GHERDAOUI .D	Grade : MCB	Université de Médéa	Encadreur
BOUAZZA .F	Grade : MAA	Université de Médéa	Co-Encadreur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Tout d'abord je remercie Allah pour sa Bienveillance, de m'avoir
Donner la force, la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce
Mémoire et me guider au chemin du savoir ;
et je tiens à exprimer mes remerciements
A Mme CHARDAOUI .D de son soutient pour arriver à ce résultat. Je remercie
également Mme BOUAZZA .F pour son aide dans le travail de laboratoire
Mes sincères remerciements sont adresses également :
A Mme REBOUH.S d'avoir accepté la présidence du jury,
A Mme FARCH.S d'avoir accepté, d'examiner et d'évaluer mon travail.
À tous les étudiants de master Chimie Macromoléculaire 2023,

À tous mes collègues de laboratoire les étudiants de master Chimie
Pharmaceutique.
À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou
indirectement,
à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail

Tout d'abord et spécialement à mes parents pour leurs encouragements tendresse, disponibilité et leurs sacrifices durant toutes mes années d'étude, c'est
grâce à eux que je suis arrivée à cette étape de ma vie merci ma mère, merci mon père.

Et aussi ma tante Souad et Mes sœurs Nada, Lina et Ayate

Mon frère Houdaifa

Aussi a toutes ma grande famille mes grand père

Mes oncles et leur famille
Mes cousins et cousines

Toutes mes amies

Mes enseignants de spécialités Chimie

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو تحقيق تغليف المركبات الفينولية لقشور الرمان وتحديد الظروف المثلى للحصول على معدل تغليف جيد بجرعة المستخلص والبوليفينول والفلافونويد والعفص بطريقة الخطة التجريبية.

من النتائج التي تم الحصول عليها بمقايسة الأشعة فوق البنفسجية ومنحنيات المعايرة التي تم الحصول عليها بارتباط أكبر من 99٪، استنتج أن طريقة الأشعة فوق البنفسجية كافية لحساب معدل تغليف المركبات الفينولية لمستخلص لحاء الرمان عن طريق القياس الكمي للمستخلص، البوليفينول، مركبات الفلافونويد والعفص.

معدل التغليف على أساس محتويات البوليفينول، الفلافونويد هو 97.169٪، 88.463٪ وبجرعة المستخلصات 97.226٪ وبالنسبة لجرعة التانينات، فإن طريقة الجرعة بواسطة الأشعة فوق البنفسجية ليست كافية لحساب معدل تغليف الفينول مجمعات سكنية.

والمقارنة بين المستويين 2 و3 تحديد التفاعل بين العوامل المدروسة والنموذج الرياضي للتنبؤ ANOVA أتاح لنا تحليل بمعدل التغليف، حيث نجد نموذجًا جيدًا بين العوامل بارتباط 99٪ للفلافونويد، 100٪ للجرعة المستخرجة و38٪ للبوليفينول الكلي.

الكلمات المفتاحية: التغليف، المركبات الفينولية، المرئية فوق البنفسجية، الخطط التجريبية

Abstract :

The objective of this work is to encapsulate phenolic chemicals extracted from pomegranate peels and to find the ideal conditions to achieve a satisfactory rate of encapsulation by extract dose, polyphenols, flavonoids, and tannins using an experimental plan technique.

The UV assay results and calibration curves obtained with correlation greater than 99% indicate that the UV method is adequate for calculating the rate of encapsulation of the phenolic compounds by quantification of extract, polyphenols, flavonoids, and tannins.

The rate of encapsulation is 97.169% based on polyphenol and flavonoid content, 88.463% based on extract dosage, and 97.226% based on tannin dose via UV.

The ANOVA analysis and the comparison between level 2 and 3, allowed us to determine the interaction between the factors studied and the mathematical model to predict the rate of encapsulation, where we find a good model between the factors with a correlation 99% for flavonoids, 100% for extract dosage and 38% for total polyphenols.

Keywords : Encapsulation, Phenolic compounds, UV-visible, experimental designs.

Résumé :

L’objectif de ce travail est réalisé l’encapsulation des composés phénoliques des écorces de grenade et déterminer les conditions optimales d’obtenir un bon taux d’encapsulation à partir dosage d’extrait, polyphénols, flavonoïdes et tanins par méthode de plan d’expérience.

D'après les résultats obtenus par le dosage UV et les courbes d’étalonnage obtenues avec corrélation supérieure à 99 %, ont déduit que la méthode UV est adéquate pour calculer le taux d’encapsulation des composés phénoliques de l'extrait d'écorces de Grenade par la quantification d’extrait, polyphénols, flavonoïdes et tanins.

Le taux d’encapsulation à base les teneurs des polyphénols, les Flavonoïdes sont 97.169%, 88.463% et par dosage d’extraits est 97.226% et pour le dosage de tannins, la méthode de dosage par UV n’est pas adéquate pour calculer le taux d’encapsulation des composés phénoliques.

L’analyse ANOVA et la comparaison entre les interactions des deux niveau 2 et 3, nous a permis de déterminer l’interaction entre les facteurs étudient et le modèle mathématique pour prédire le taux d’encapsulation, ou on a trouvé un bon modèle entre les facteurs avec une corrélation de 99% pour les flavonoïdes, 100% pour le dosage d’extrait et 38% pour les polyphénols totaux.

Mots clés : Encapsulation, Composés phénoliques, UV-visible, plans d’expérience.

.

Liste des Figure	**pages**
Figure I.1 Principale classes de Flavonoïdes	**5**
Figure II.1 Schéma de principe du procédé de gélification de gouttes	**19**
Figure II.2 Schéma de Congélation de gouttes	**19**
Figure II.3 Mécanisme de la gélification	**20**
Figure II.4 Enrobage/encapsulation de particules avec des liquides	**20**
Figure II.5 Principe du procédé Polycondensation Interfaciale	**21**
Figure II.6 Micro-encapsulation par polymérisation	**22**
Figure II.7 Schéma de fonctionnement d'un procédé de Spray-Drying	**25**
Figure II.8 Schéma du procédé de Lyophilisation (freeze drying)	**26**
Figure II.9 Coacervation (séparation de phase)	**27**
Figure II.10 Encapsulation par émulsion double	**28**
Figure II.11 Encapsulation par émulsion double/émulsion simple	**28**
Figure III.1 Structure chimique du polymère d'alginate **BOUDERGA 2005**	**37**
Figure III.2 Représentation de l'alginate de sodium	**38**
Figure III.3 Représentation de la chaîne de cellulose **Kamel et al, 2008**	**40**
Figure III.4 Structure moléculaire de la carboxyméthylcellulose sodique **Sik Hwang, 2004**	**41**
Figure III.5 Voie de production de la carboxyméthylcellulose sodique	**41**
Figure IV.1 Ecorcer de grenade avant et après le séchage	**49**
Figure IV.2 Etapes de préparation de la poudre du grenade	**49**
Figure IV.3 Protocole d'extraction **Pierre et Lis, 2007**	**50**
Figure IV.4 (**a ; b**) L'agitation dans l'agitateur magnétique ; Séparation des impuretés par la centrifugation	**50**
Figure IV.5 (**a ; b**) Spectre UV de l'extrait avant ; et après la dilution	**51**
Figure IV.6 Variation de la couleur après réaction de complexation (PPT)	**52**
Figure IV.7 Variation de la couleur après réaction de complexation (Flavonoïdes)	**52**
Figure IV.8 Variation de la couleur après réaction de complexation (Tanins)	**53**

Figure IV.9 Procéder de préparation des solutions d'ALG-Na (de 1%) et CMC (de 2%)	**55**
Figure IV.10 Procéder d'encapsulation	**56**
Figure IV.11 (**a ; b**) Agitation magnétique de mélange d'ALG-Na et/ou CMC avec l'extrait ; Prélèvement 5ml de solution obtenu par une seringue médicale de 5ml	**57**
Figure IV.12 (**a ; b**) Avec la seringue versée goute à goute chaque 5ml dans chaque les 3 solutions de CaCl2 pendant 40min ; rincer les capsules avec l'eau distiller et après filtrer dans un papier filtre à l'abri de la lumière et de l'aire	**57**
Figure IV.13 Après le séchage conserver les capsules dans les boites pétries stériliser à l'abri de la lumière et à température de 4°C	**57**
Figure V.1 Courbe d'étalonnage d'effet d'absorption de concentration à base UV	**63**
Figure V.2 (a, b, c) Courbes d'étalonnages d'effet d'absorption de concentration	**64**
Figure V.4 Capsule formé pour essais (0 ;20% ;2%) (1 ;40% ;2%)	**67**
Figure V.5 Capsules formé pour essais (1 ;20% ;2%) (0 ;30% ;4%)	**67**
Figure V.6 Capsules formé pour essais (1 ;20% ;2%) (1 ;40% ;4%)	**68**
Figure V.7 Masse capsules expérimentale en fonction masse prédicteur par interaction de niveau 2	**71**
Figure V.8 Masse capsules expérimentale en fonction masse prédictives par interaction de niveau 2	**71**
Figure V.9 (a, b) L'influence du CMC/ALG sur les masses des capsules	**72**
Figure V.10 l'influence du Ci en PP sur les masses des capsules	**73**
Figure V.11 (a, b) L'influence de CMC/ALG*Ci en PP sur les masses des capsules	**73**
Figure V.12 teneur flavonoïdes expérimentale en fonction de prédicteur ANOVA niveau 2	**76**
Figure V.14 teneur flavonoïdes expérimentale en fonction de prédicteur ANOVA niveau 3	**77**
Figure V.15 (a, b) L'influence du Ci en PP et C ($CaCl_2$) sur le taux à base teneur flavonoïdes	**77**
Figure V.16 (a, b) L'influence d'interaction entre Ci en PP * C ($CaCl_2$) sur le taux à base teneur flavonoïdes	**78**
Figure V.17 le taux d'encapsulation à base dosage de l'UV expérimental en fonction de prédicteur ANOVA interaction niveau 2	**81**

Figure V.18 le taux d'encapsulation à base dosage de l'UV expérimental en fonction de prédicteur ANOVA interaction niveau 3	**82**
Figure V.19 (a, b) Influence du Ci en PP et CMC/ALG sur le taux d'encapsulation à base dosage de l'UV	**82**
Figure V.20 La variation de taux d'encapsulation à base dosage de l'UV pour CMC/ALG* C ($CaCl_2$) en fonction de CMC/ALG	**83**
Figure V.21 Variation de taux d'encapsulation à base teneur des Polyphénols en fonction du Ci en PP (Niveau 2 et 3)	**85**
Figure V.22 Influence du Ci en PP * C ($CaCl_2$) en fonction de Ci en PP sur taux d'encapsulation à base teneur des Polyphénols	**85**
Figure V.23 Variation du taux d'encapsulation à base teneur des Polyphénols en fonction de C ($CaCl_2$)	**86**
Figure V.24 Influence du Ci en PP * C ($CaCl_2$) en fonction de C ($CaCl_2$) sur le taux d'encapsulation à base teneur des Polyphénols	**86**

Liste des Tableaux	**Pages**
Tableau III.1 Teneur en cellulose de quelques espèces végétales **Bledzki, 1999**	**40**
Tableau IV.1 Matériels utiliser	**48**
Tableau IV.2 Produits chimiques utiliser	**48**
Tableau IV.3 Proportions choisies pour la formulation des capsules	**54**
Tableau IV.4 Proportion et matrice choisies pour la réalisation de l'encapsulation	**58**
Tableau V.1 Les quantités du PPT, Flavonoïdes et Tanins calculé pour chaque rendement	**65**
Tableau V.2 Les valeurs calculer du rendement à partir le teneur des polyphénols, flavonoïdes	**65-66**
Tableau V.3 Analyse descriptive	**66**
Tableau V.4 Les masses prédictives obtenue pour le niveau 2 d'ANOVA	**68-69**
Tableau V.5 Les masses prédictives obtenue pour le niveau 2 d'ANOVA	**70**
Tableau V.6 Les Prédictions teneur des Flavonoïdes obtenue pour le niveau 2 d'ANOVA	**74-75**
Tableau V.7 Les Prédictions teneur des Flavonoïdes obtenue pour le niveau 3 d'ANOVA	**75-76**
Tableau V.8 Le taux d'encapsulation à base dosage de l'UV prédictives obtenue pour le niveau 2 d'ANOVA	**79**
Tableau V.9 Le taux d'encapsulation à base dosage de l'UV obtenue pour le niveau 3 d'ANOVA	**80-81**
Tableau V.10 Taux d'encapsulation à base teneur des Polyphénols prédictives obtenue pour l'ANOVA d'interaction niveau 2 et 3.	**84**

Liste des Symboles et Abréviations

ALG-Na	Alginate de sodium
CMC	Carbométhylcellulose
PPT	Polyphénols totaux
PP	Polyphénols
FLAV	Flavonoïdes
UV	spectromètre Ultra-Violet visible
λ_{max}	La longueur d'onde (UV-vis)
Abs	Absorbance (UV-vis)
C	Concentration
m	La masse
t PPT	Teneur des Polyphénols totaux
t FLAV	Teneur des Flavonoïdes totaux
t Tan	Teneur des Tanins
C ($CaCl_2$)	Concentration de la solution **$CaCl_2$**
Ci en PP	Concentration initial en ' Polyphénols'

Sommaire

Remercîments

Dédicaces

Résumé

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des Symboles et Abréviations

Introduction Générale ----------1

Chapitre I : Les Composés Phénoliques

I.1 Définition ----------4

I.2 Origines ----------4

I.3 Classification ----------4

I.3.1 Flavonoïdes ----------4

I.3.2 Phénols simple et les acides phénoliques ----------5

I.3.3 Stilbènes ----------5

I.3.4 Tanins ----------5

I.4 Localisation des composés phénoliques ----------6

I.5 Rôles et propriétés des composés phénoliques ----------6

I.5.1 Rôle physiologique ----------7

I.5.2 Rôle biologique ----------7

I.5.3 Autre rôle ----------8

I.6 Propriétés ----------8

I.6.1 Propriétés physico-chimique, extraction et caractérisation ----------8

I.6.2 Propriétés pharmacologiques et emplois ----------8

I.7 Composés phénoliques et santé humaine ----------9

I.7.1 L'activité anti-inflammatoire ----------9

I.7.2 L'activité antioxydant ----------10

I.7.3 Toxicité des composés phénoliques du grenadier ----------10

Références bibliographiques

Chapitre II : Généralité sur l'Encapsulation

Généralité

II.1 Procédés d'encapsulation ----------17

II.1.1 Procédés mécaniques ----------18

II.1.1.1 Spray drying ----------18

II.1.1.2 Gélification ou congélation de gouttes (Prilling) ----------18

II.1.1.3 Enrobage en lit fluidisé (spray coating) ----------20

II.1.1.4 Extrusion ----------20

II.1.2 Procédés chimiques ----------21

II.1.2.1 Polycondensation Interfaciale ----------21

II.1.2.2 Polymérisation ----------22

II.1.3 Procédés physico-chimiques ----------22

II.1.3.1 Coacervation ----------23

II.1.3.2 Evaporation – extraction de solvant ----------23

II.1.3.3 Gélification thermique d'émulsions (hot melt) ----------23

II.1.3.4 Emulsification ----------24

II.2 Procédés d'encapsulation pour les composés phénoliques ----------24

II.2.1 Procédés basés sur le séchage ----------24

II.2.1.1 Séchage par atomisation (spray drying) ----------24

II.2.1.2 Lyophilisation (freeze drying) ----------25

II.2.2 Coacervation (séparation de phase) ----------26

II.2.3 Encapsulation par émulsion double (émulsion E/H/E) ----------27

II.2.4 Gélification ionique ----------28

II.2.4.1 Principe de la gélification ionique ----------28

II.3 Les biopolymères utiliser dans la procédure d'encapsulation par Gélification ionique --29

Références bibliographiques

Chapitre III : Généralité sur l'Alginate de sodium et la Carbométhylcellulose

III.1 Introduction

III. L'alginate ----------36

III.2.1 Sources d'Alginate ----------36

III.2.1.1 Bactéries ----------36

III.2.1.2 Algues ----------36

III.2.2 Propriétés ----------36

III.2.2.1 Structure chimique ----------36

III.2.2.2 Solubilité et stabilité ----------37

III.2.2.3 pH du solvant ----------38

III.2.2.4 Présence d'ions divalents ----------38

III.2.2.5 Viscosité ----------38

III.2.3 Application de l'alginate dans les systèmes de délivrance des biomolécules ---------38

III.3 Cellulose ----------39

III.3.1 Carboxyméthylcellulose ----------40

III.3.2 Propriétés de la carboxyméthylcellulose sodique ----------41

III.3.3 Utilisation de la carboxyméthylcellulose ----------42

Références bibliographiques

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

IV.1 Introduction ----------47

Matériels ----------48

IV.2 Source végétale ----------49

IV.2.1 Poudre de grenade ----------49

IV.2.2 Préparation d'extrait ----------49

IV.3 Pré formulation ----------50

IV.3.1 Quantification de rendement globale par UV ----------51

IV.3.2 Quantification des extraits par le Dosage ----------51

IV.3.2.1 Dosage des Polyphénols totaux ----------51

IV.3.2.2 Dosage des Flavonoïdes totaux ----------52

IV.3.2.3 Dosage des tanins totaux ----------53

IV.4 L'encapsulation ----------54

IV.4.1 Réalisation de l'encapsulation ----------54

IV.5 Analyse statistique ----------57

IV.5.1 Quantification des Rendement globale, Polyphénols totaux, Flavonoïdes et les Tanins pour résidus ----------58

IV.5.1.1 Quantification de rendement analyse UV des résidus ----------59

IV.5.1.2 Dosage des Polyphénols totaux pour les résidus ----------59

IV.5.1.3 Dosage de Flavonoïdes totaux pour les résidus ----------59

IV.5.1.4 Dosage des Tanis totaux pour les résidus ----------59

Référence bibliographique

Chapitre V : Résultats et Discussion

V.1 Pré formulation ----------63

V.2 Après l'Encapsulation ----------65

V.2.1 Masse des capsules ----------68

V.2.1.1 Diagramme des effets d'interactions des facteurs sur masse du capsule ----------71

V.2.2 Taux d'encapsulation à base teneur des Flavonoïdes ----------74

V.2.2.1 Diagramme des effets d'interactions des facteurs sur le taux d'encapsulation à base teneur des Flavonoïdes ----------77

V.2.3 Taux d'encapsulation à base dosage de l'UV (%CAPS) ----------78

V.2.3.1 Diagramme des effets d'interactions des facteurs sur le taux d'encapsulation à base dosage de l'UV ----------82

V.2.4 Taux d'encapsulation à base teneur des Polyphénols (t PPT) ----------83

V.2.4.1 Diagramme des effets d'interactions des facteurs sur le taux d'encapsulation à base teneur des Polyphénols ----------84

V.3 Conclusion ----------87

Conclusion Générale

Introduction Générale

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires avec plus de 8000 structures phénoliques. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside **Bruneton, 2009 ; Šaponjac et al., 2016.**

Des études ont montré que les composés phénoliques protègent contre les cats cardiovasculaires. Maladie de l'artère coronaire. Ces composés naturels ont des propriétés antioxydants intéressantes elle a des implications importantes pour la prévention et le traitement des maladies inflammatoires. L'effet varie selon le type, la concentration et la composition. Taux d'absorption dans l'intestin grêle et sa dégradation par la flore intestinale. **Macheix** et al**., 2005.**

Afin de bénéficier de ces composés, on a réalisé la procédure d'encapsulation des composés phénoliques. Alors La **microencapsulation** est un procédé qui a un rôle de conservation ou bien pour protéger certains composés bioactifs, dans notre étude sont les composés ou les substances phénolique qui sont de source végétale.

La **microencapsulation** est un procédé par lequel des substances sont incluses dans des microcapsules ou microsphères afin de libérer leur contenu de façon contrôlée.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour faciliter l'encapsulation de composés bioactifs. Le choix de la méthode d'encapsulation la plus adaptée dépend essentiellement du type de matériau de base et des propriétés du produit final sur lequel l'encapsulation est appliquée. De plus, le choix du matériau de la paroi de la capsule a un grand impact sur les propriétés du matériau encapsulé, en particulier l'efficacité d'encapsulation.

Le type d'encapsulation qui a été utilisé dans notre travail est procédés chimiques, principalement la Gélification ionique.

Pour les applications biomédicales, les polymères d'encapsulation peuvent être cellulosiques.
Les microcapsules ou microsphères ainsi obtenues doivent alors être intégrées au matériau de l'application finale, qu'il s'agisse d'une prothèse ou de fibres d'un textile médical.

On a étudié l'encapsulation par des paramètres qui sont possible influer sur le rendement d'encapsulation des composés phénolique (Polyphénols, les Flavonoïdes et les Tanins), cette

étude est réalisé selon le plan d'expérience des trois paramètres influences : la proportion CMC/ALG, Concentration initial en Polyphénols et la concentration de $CaCl_2$.

Pour les calculs du taux d'encapsulation, Flavonoïdes et Polyphénols, ont fait un dosage pour l'extrait végétal et le résidu après l'encapsulation, et après ont fait la modélisation pour la vérification du paramètre qui sont effectué sur le plans d'expérience pour chaque essai.

Chapitre I : les composés phénoliques

I.1 Définition

Les composés phénoliques comprenant une grande variété de substances retrouvées dans tous les types de tissus des plantes ; ils constituent fréquemment les métabolites secondaires les plus abondants chez les fruits **Macheix, Fleuriet et Billot, 1990**. Le terme polyphénol peut être redéfini de façon plus précise du point de vue chimique comme étant un composé organique naturel qui possède au moins un anneau aromatique avec un ou plusieurs groupements hydroxyles rattachés à cette structure. Ces groupements fonctionnels peuvent toutefois être substitués par des alcools, esters, méthyle-ester, glycosides, …

I.2 Origines

Ils sont présents dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le composé phénolique considéré **Di Ferdinando** et al., **2014, Agati** et al., **2012**. Les composés phénoliques sont des constituants largement répandus dans des aliments d'origine végétale (fruits, légumes, céréales, olives, légumineuses, chocolat, etc.) et des boissons (thé, café, bière, vin, etc.) et responsables de plusieurs propriétés organoleptiques des aliments végétaux **Dai et Mumper 2010**.

I.3 Classification

Les composés phénoliques sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes. **Boros** et al., **2010.**

I.3.1. Les flavonoïdes : Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétérosides. Les flavonoïdes sont très largement répandus dans le règne végétal (les fruits, les légumes, les graines ou encore les racines des plantes) ; tous (plus de 6000 structures) possèdent le même élément structural de base, le noyau flavane constitué de deux noyaux aromatiques A et B et d'un hétérocycle oxygéné central C. **Vinayagam et Xu, 2015.**

Les flavonoïdes peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le nombre, la position

et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire **Figure I.1**. **Labbani 2021-2022**.

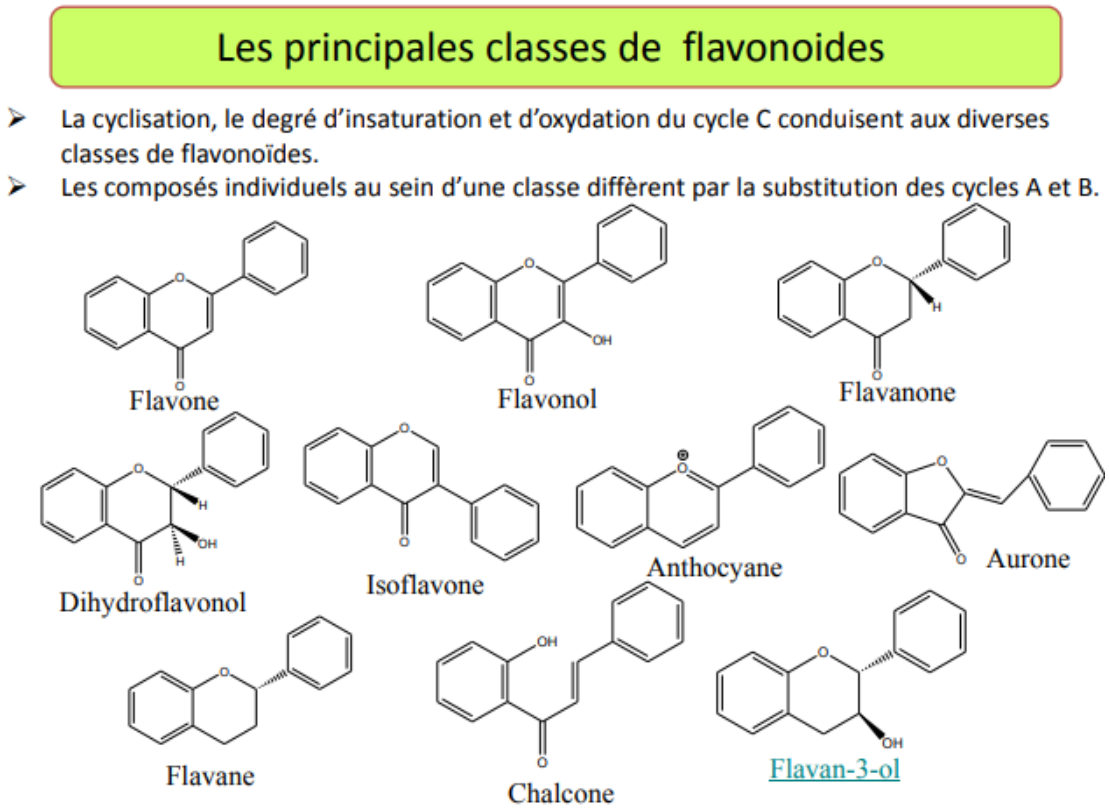


Figure I.1 Principale classes de Flavonoïdes **Labbani 2021-2022**

I.3.2 Phénols simple et les acides phénoliques : Un acide-phénol (ou acide phénolique) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. **Ignat *et al.*, 2011**

Ils se divisent en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques). **Pandey et Rizvi, 2009.**

I.3.3 Stilbènes : Les stilbènes sont un groupe de polyphénols non flavonoïdiques issu du métabolisme secondaire végétal, ont une structure chimique de base du type C6-C2-C6, composée de deux cycles aromatiques joints par un pont méthylène, qui sont connus pour leurs nombreuses propriétés biologiques comme les activités chémopréventives et neuro-protectrices. **Collin et Crouzet, 2011 ; Arraki, 2014.**

I.3.4 Tanins : Les tanins sont en quelque sorte des métabolites secondaires principalement disponibles dans les aliments et les boissons à base des plantes. Le nom « tanin » provient du

processus industriel de « tannage du cuir « dans lequel les peaux d'animaux sont transformées en cuir par le biais d'un traitement en aval. **Akhlash** et al., **2019.**

La classification de ces tannis comme « tanins hydrolysables » et polymérique non hydrolysables ont classées comme des « tanins condensées ». **khanbabaee** et al., **2001.**

- ✓ Tanins hydrolysables : Les tanins hydrolysables sont généralement composés d'une molécule de noyau de polyol, généralement du glucose, mais d'autre molécules de noyau peuvent inclure le glucitol l'ammamélose et l'acide shikimique, dont le groupe hydroxyle des polyols de noyau a été estérifié avec l'acide gallique*. **Naumann** et al., **2017**
- ✓ Tanins condensées : Les tanins condensés ou les proathocyanidines, sont constituées d'oligoméres ou de polymères de sous – unités flavan-3- ol. **Naumann *et al.,* 2017** Ils sont connus lorsque le couplage des unités individuelles se fait par la position C-4 de la première unité liée à C-8 ou C-6 de la deuxième unité, qui peut avoir un modèle de substitution différente. Les tanins trouvés dans le vin rouge et blanc, leur importance pour la vinification dépendent de leur réaction spécifique aux protéines qui à son tour est directement liée à leur degré de polymérisation. **khanbabaee** et al.,**2001.**

I.4 Localisation des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont omniprésents dans les végétaux, mais leur répartition au niveau tissulaire, cellulaire et subcellulaire n'est pas uniforme. Les composés phénoliques solubles sont présents dans les vacuoles tandis que celles insolubles se trouvent au niveau des parois cellulaires. Ces dernières sont plus ou moins riches en polyphénols selon la localisation de la cellule les parties charnues du fruit en sont pauvres (les polyphénols sont alors principalement contenus dans la vacuole), contrairement aux cellules dont la paroi a atteint le stade supérieur de rigidité (cellules de la peau et des pépins, épicarpes des grains de blé). **Knežević et al., 2012 ; Macheix et al., 1990.**

I.5 Rôles et propriétés des composés phénoliques

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans son utilisation par l'homme. **Macheix et *al.,* 2005** Les composés phénoliques sont des antioxydants qui ont plusieurs propriétés biologiques : anti-diabétique, anticancéreuse,

anti-inflammatoire, cardioprotectrice, antivirales antiasthmatique, antiseptique, hépato-protecteur, antifongique, antibactériennes, antivirales etc. **Kumar et Pandey, 2013.**

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, en particulier contre les radiations UV, les attaques microbiennes…etc... **Moheb et *al.*, 2011** Dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume et qualité nutritionnelles…) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules) et des produits qui en dérivent par transformation. **Macheix et al., 2005 ; Dicko et al., 2006**.

Dans les aliments, les composés phénoliques peuvent contribuer à l'amertume (principalement les flavanones), l'astringence, la couleur, la flaveur, l'odeur et la stabilité de l'oxydation de l'aliment. **Naczk et Shahidi, 2004** La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit l'incidence de nombreuses pathologies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les diabètes. **Hanhineva *et al.*, 2010.** Ils ont été décrits comme étant des antioxydants, des antiagrégants plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des antis tumoraux. **Hanhineva** et al., **2010**

I.5.1 Rôle physiologique :

En raison de leur structure polyphénolique, ils pourraient jouer un rôle dans les chaînes d'oxydo-réduction et modifier certaines réactions concernant la croissance, la respiration, la morphogenèse et la lignification. Ainsi le **Kaempherol** active l'auxine-oxydase tandis que la **quercétine** l'inhibe. De nombreux flavonoïdes, en raison de leur richesse en groupements phénols (OH), sont capables de se fixer sur certains protéines et enzymes, et de modifier ainsi les équilibrés enzymatiques; ils interviennent à différents stades du développement, notamment lors de la germination.

Les composés phénoliques dont l'absorption en U.V est importante, protègent les plantes vis-à-vis des rayonnements nocifs **Merghem., 2009**.

I.5.2 Rôle biologique :

Certains composés phénoliques ont des propriétés fongicides et insecticides qui protègent la plante contre l'attaque des champignons et des insectes.

Au niveau des feuilles et fleurs, les composés phénoliques ont un rôle attractif pour les abeilles ou répulsif sur les insectes herbivores entraînant ou non la consommation de feuillage **Merghem., 2009.**

I.5.3 Autre rôle :

Les flavonoïdes constituent une part non négligeable des phytoconstituants - principes actifs- solubles dans l'eau, de nombreuses plantes médicinales ayant une grande importance en phytothérapie actuelle. Les principes actifs sont divisés en nombreux sous-groupes : flavanes, flavanols, flavanones, flavones, catéchines **Merghem., 2009**.

I.6 Propriétés

I.6.1 Propriétés physico-chimique, extraction et caractérisation :

La solubilité :

- Les composés phénoliques libres sont solubles dans les solvants organiques polaires (alcool, cétone, éther), les solutions d'hydroxyde de Na et de carbonate de Na.

- Les hétérosides sont solubles dans l'eau.

Les composés phénoliques sont des composés instables :

- Oxydation surtout en milieu alcalin

- Isomérisation sous l'action des UV

L'extraction :

- Ils sont extrais par l'alcool ou les solutions hydro-alcooliques à pH légèrement acide **Sahraoui.W**.

I.6.2 Propriétés pharmacologiques et emplois :

Les composés phénoliques simples présentent un intérêt thérapeutique, ex :

- Propriétés antiseptiques urinaires (arbutoside)

- Propriétés anti-inflammatoires (acide salicylique)

- Propriétés antibactériennes et antifongiques

En général, les drogues sont employées soit en nature ou sous forme galénique simple (poudre, extrait, teinture) **Sahraoui.W.**

I.7 Les composés phénoliques et la santé humaine

Au sein de la grande famille des composés phénoliques, le Resvératrol, de la classe des stilbènes (C6-C2-C6) très présent dans la vigne, le raisin, les arachides, les mûres, la rhubarbe, a une activité anti-oxydante, cardio-protectrice et antiinflammatoire notables et bien documentées. Associé à la pipérine, du poivre par exemple, le resvératrol devient plus puissant. Il oblige la cellule à fonctionner comme si elle manquait d'énergie et active la biogénèse des mitochondries, inhibe l'agrégation plaquettaire, présente un intérêt dans les maladies cardio-métaboliques et cancéreuses **Labbani 2021-2022**.

Les flavonoïdes sont utilisés dans le traitement de la crise hémorroïdaire, des jambes lourdes, renforcent la paroi des vaisseaux capillaires. Ils sont protecteurs du foie. Les flavonoïdes sont des antiinflammatoires, antiallergiques et antispasmodiques **Labbani 2021-2022**.

I.7.1 L'activité anti-inflammatoire

L'inflammation, la première défense physiologique du corps humain, peut nous protéger des lésions causées par les blessures ou les empoisonnements. Ce système de défense peut anéantir les micro-organismes infectieux, éliminer les irritations et maintenir les fonctions physiologiques dans leur état normal. Cependant, une surexposition aux inflammations peut causer certaines dysfonctions physiologiques, telles l'asthme et l'arthrite **LEE et al., 2010**. Il y a plusieurs plantes riches en composés phénolique tel que la grenade, le nèfle, soja, …

Il y a de nombreuses preuves scientifiques qui démontrent clairement la propriété antiinflammatoire des plantes la grenade et de ses produits dérivés. Certains extraits de la grenade, notamment :

-Les pépins pressés à froid, inhibent l'action des enzymes cyclo-oxygénases et lipooxygénases in vitro.

-La cyclo-oxygénases est une enzyme très importante pour la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines, qui sont des médiateurs importants de l'inflammation.

-La lipo-oxygénase conduit à la transformation de l'acide arachidonique en leucotriénes. (TOMAS-BARBERAN, 2010). LEE et al. (2010) ont analysé quatre tanins hydrosolubles, dont

la punicalagine et la punicaline, toutes isolées de la grenade. Chacun de ces composés, à différentes doses, produit une inhibition spécifique de la production de monoxyde d'azote. De plus, Larrosa et al. (2010) ont démontré que l'activité anti- inflammatoire de la grenade et due également à la présence d'acide ellagique qui contribue à la diminution des niveaux de prostaglandines.

I.7.2 L'activité antioxydant

L'oxydation « incontrôlée » qui se produit dans les tissus d'organisme humaine provoque le vieillissement, la dégénération et bien entendu la maladie. Cependant, l'organisme humain possède des antioxydants qui ont la capacité de le protéger contre les radicaux libres, tels les radicaux de l'oxygène et de l'azote ainsi que les radicaux lipidiques.

Les composés responsables du grand pouvoir antioxydant de la grenade et de ses produits dérivés ont été étudiés par de nombreux auteurs, aussi bien dans des modèles in vitro que dans des modèles in vivo.

L'activité anti-oxydante in vitro de la grenade et de ses produits dérivés a été évaluée par plusieurs auteurs **TEZCAN et al., 2009 ; JACOB et al., 2018**. TZULKER et al. (2007) ont déterminé que la haute capacité anti-oxydante de la grenade et de ses produits dérivés est due à la présence des punicalagines dans sa composition, et non pas aux anthocyanosides.

I.7.3 Toxicité des composés phénoliques du grenadier

L'écorce du grenadier, au XIXème siècle, souvent utilisée pour ses propriétés anthelminthiques, semble montrer quelques effets secondaires non négligeables. Ainsi, après administration d'une décoction d'écorce de racine, il fut observé, chez plusieurs patients, l'apparition de vertiges, d'étourdissements, d'une sorte d'ivresse, parfois des syncopes, et de légers mouvements convulsifs. Cependant, ces accidents étant fugaces et ne laissant aucune trace après leur manifestation, ils furent tolérés par les médecins de l'époque **Wald, 2009**.

Références bibliographiques

A

Akhlash, p., Singh., Sunil, K (2019). Applications of tannins in industry, doi; 10.5772/intechopen.85984

Abid et al., 2017 ; Hamedi et al., 2018 ; Vladić et al., 2020

B

Bruneton, J (2009). Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales; Tec et Doc Lavoisier: Paris, France

Boros et al., **2010**

Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath,G., Pluhar, Z ., Kilar, F., Felinger, A (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in Thymus species. Journal of Chromatography A **1217:** 7972–7980

C

Collin, S., Crouzet, J (2011). Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire. Paris, France : Lavoisier Tec et Doc

D

Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Agati, G et Tattini, M (2014). Multiple functions of polyphenols in plants inhabiting unfavorable Mediterranean areas. Environmental and experimental botany **103:** 107-116

Dai, J., Mumper, RJ (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules **15 :** 7313-7352

Dicko, MH., Gruppen, H., Traoré, AS., Alphons, GJ., Willem, JH et Berkel, V (2006). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use.Biotechnology and Molecular Biology Review **1 (1):** 21-38, April

J

JACOB et al., 2018

H

Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H et Poutanen, H (2010). Impact of Dietary Polyphenols On Carbohydrate Metabolism. Int. J. Mol. Sci **11:** 1365-1402

I

Ignat, I., Volf, I., Popa, VI (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, Food Chemistry **126:** 1821-1835

K

Khanbabaee, K., van, R (2001). Tannins: Classification and Définition DOI: 10.1039/b1010611

Knežević, SV., Blazekwic, B., Stefan, MB., Babac, M (2012). Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. In "Phytochemicals as nutraceuticals-global approaches to their role in nutrition and health. Edition Ven keteshwer Rao: 155-180

Kumar, S et Pandey, AK (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. The Scientific World Journal,162750

L

Labbani, Pr. LABBANI Composés phénoliques Chp 4 L3-BPV-FSNV/UFMC Biochimie végétale **2021-2022**

Laboratoire de pharmacognosie Dr Sahraoui W

LEE et al., 2010

LARROSA et al. (2010

M

Macheix, JJ., Fleuriet, A et Jay-Allemand, C (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Lausanne, Suisse. Presses polytechniques et universitaires romandes.

Macheix, JJ., Fleriet, A et Christian, A (2005). Les composés phénoliques des végétaux : unexemple de métabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausane

Moheb et *al.*, 2011

Moheb, A., Ibrahim, RK., Roy , R., Sarhan, F (2011). Changes in wheat leaf phenolome in response to cold acclimation. Phytochemistry **72:** 2294- 2307

Merghem R. **(2009)** Eléments de biochimie végétale. Bahaeddine Editions: 95-121

MERGHEM,Prof MERGHEM R Chapitre 2. LES COMPOSÉS PHENOLIQUES Acides phénols, Polyphénols, Flavonoides, anthocyanidines, tanins Université Constantine 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de Biochimie Licence Biochimie Support du cours GENIE BIOCHIMIQUE, VALORISATION DES SUBSTANCES D'ORIGINE VEGETALE

N

Naumann *et al.*, 2017

Naczk, M., Shahidi, F (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A **1054:** 95-111

P

Pandey et Rizvi, 2009

Pandey Kb et Rizvi SI (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity **2 (5):** 270 – 278

S

Singh B., Singh J. P., Kaur A. & Singh N. (2018). Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (Punica granatum L.) peel: A review. Food chem. 261: 75-86.

Smaouia S., Ben Hlimab H., Chakchouk Mtibaaa A., Fouratia M., Sellema I., Elhadefa Kh., Ennouria K. & Melloulia L. (2019). Pomegranate peel as phenolic compounds source: Advanced analytical strategies and practical use in meat products. Meat Science. 158: 120. **Dr.W.Sahraoui,** laboratoire de pharmacognosie

T

Tomás-Barberán, Mar Larrosa, María T. García-Conesa, Juan C. Espín, Francisco A. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health Research Group on Quality, Safety and Bioactivity of Plant Foods, CEBAS-CSIC, P.O. Box 164, Murcia 30100, **2010**. Spai Molecular Aspects of Medicine journal homepage: www.elsevier.com/locate/mam.

TEZCAN ; Filiz Tezcan a, Mine Gültekin-Özgüven b, Tuğba Diken a b, Beraat Özçelik b, F. Bedia Erim, Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices, Food Chemistry Volume 115, Issue 3, 1 August 2009, Pages 873-877

V

Vinayagam, R et Xu, B (2015). Anti diabetic properties of dietary flavonoids a cellular mechanism review. Nutr.Metab (Lond) **12:** 60

W

Wald E. (2009). Le Grenadier (Punicagranatum): Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes. Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré 1

Chapitre II : Généralité sur l’Encapsulation

Généralité

L'encapsulation est l'une des techniques couramment utilisées. Elle permet d'immobiliser les composés qui contient les huiles essentielles, composés phénoliques, …

Actuellement, les applications de l'encapsulation sont très nombreuses à plusieurs secteurs d'activités parant de la chimie à l'agro-alimentaire et pharmaceutique **Kolhe et al, 2003**. Suivant les domaines et les applications, l'encapsulation a pour but d'assurer la protection, la compatibilité et la stabilisation d'une matière active dans une formulation. Elle permet d'améliorer la présentation d'un produit ou encore de masquer une odeur ou un gout.

Pour les applications biomédicales, les polymères d'encapsulation peuvent être cellulosiques, mais surtout de synthèse comme les copolymères acryliques, les polyoéfines, les vinyliques... Les microcapsules ou microsphères ainsi obtenues doivent alors être intégrées au matériau de l'application finale, qu'il s'agisse d'une prothèse ou de fibres d'un textile médical.

Concernant la libération des substances actives, poursuit Mickaël Devassine, il y a deux grands principes. La libération peut être déclenchée par un stress physique tel que la température et la pression, un stress biologique tel que l'action d'enzymes ou un stress chimique tel que la dissolution. De plus, la libération de la substance active peut être contrôlée par dégradation du polymère ou par diffusion passive à travers les pores de la matrice.

II.1 Procédés d'encapsulation

Il n'existe pas de système d'encapsulation universel pour un médicament en particulier. Où la substance active à protéger est un complexe de molécules. Les extraits naturels, les limitations et les difficultés de développement sont considérables. Les différences entre les composés (hydrophilie/hydrophobicité, différences de poids moléculaire, fonctionnalités chimiques, etc.) conduisent à différentes interactions avec le matériau de revêtement, par exemple différents rendements d'encapsulation **Akdim, 2017**.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour faciliter l'encapsulation de composés bioactifs. Le choix de la méthode d'encapsulation la plus adaptée dépend essentiellement du type de matériau de base et des propriétés du produit final sur lequel l'encapsulation est appliquée. De plus, le choix du matériau de la paroi de la capsule a un grand impact sur les propriétés du

matériau encapsulé, en particulier l'efficacité d'encapsulation, et doit être soigneusement considéré **Dias et al., 2017**.

Les procédés industriels sont la plus couramment utilisés, donc on distingue 3 groupes de procédés :

II.1.1 Les procédés mécaniques : sont basés sur le séchage ou la solidification de gouttelettes contenant tous les constituants de la future particule.

II.1.1.1 Spray drying : La conduite de nébulisation/assèchement par sublimation est une conduite immuable en une privée habitacle qui permet de progresser une communication limpide originelle en une pointure microparticulaires sèche **Boukhouya, 2019**. 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. Le séchage par pulvérisation (atomisation ou nébulisation) est la technique la plus largement mise en œuvre pour la microencapsulation des composés bioactifs.

II.1.1.2 Gélification ou congélation de gouttes (Prilling) : Le principe de la technologie du Prilling est similaire au principe du spray drying, ceci près qu'il ne s'agit pas de séchage sous air chaud mais de refroidissement rapide de gouttelettes constituées d'une cire à haut point de fusion **Figure II.1, 2, 3**. Le principe est donc basé sur la solidification des cires **De Vos et al., 2010**.

La matrice d'encapsulation doit avoir un point de fusion très supérieur à la température de l'air de refroidissement ainsi qu'un pic de solidification le plus fin possible. L'actif peut être solide ou liquide, hydrophobe ou hydrophile. Les microsphères obtenues ont une granulométrie qui varie de 100 à 400 µm, avec un taux d'encapsulation pouvant atteindre 40 à 60% **kerdudo,2014**.

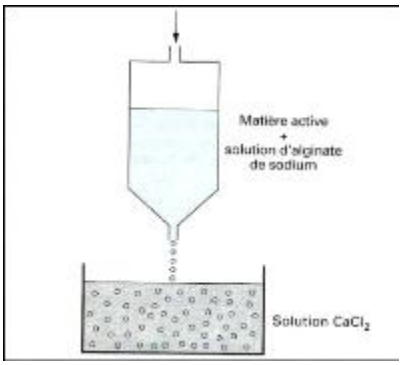


Figure II.1 Schéma de principe du procédé de gélification de gouttes

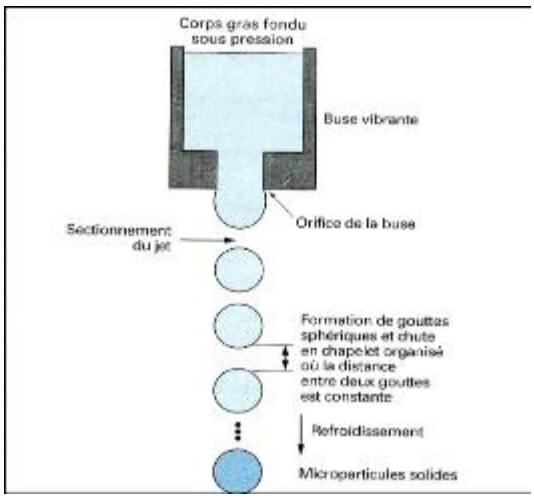


Figure II.2 Schéma de Congélation de gouttes

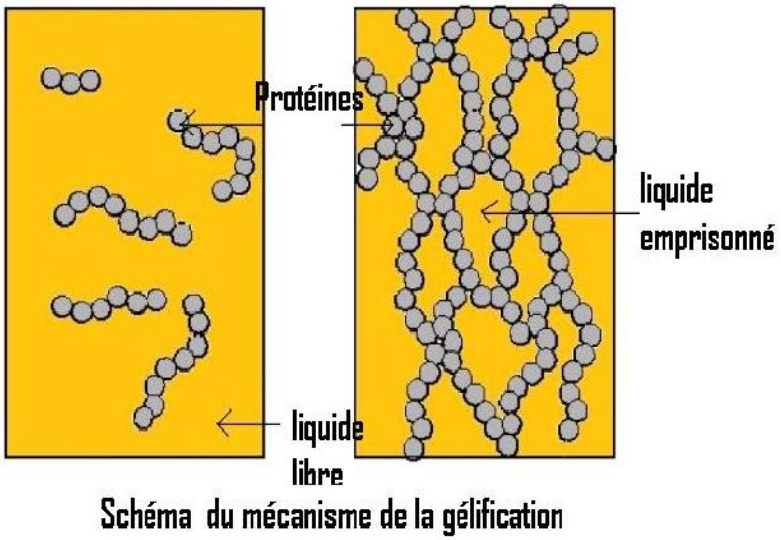


Figure II.3 Mécanisme de la gélification

II.1.1.3 Enrobage en lit fluidisé (spray coating) : Le procédé d'enrobage en lit fluidisé est une méthode qui s'applique exclusivement à des particules solides (granulés, cristaux) en les enrobant d'une couche uniforme **Gouin, 2004**, et des actifs liquides peuvent également être encapsulés sur des particules poreuses après absorption. Ce procédé comprend une séquence cyclique qui se décompose en 3 temps **Figure II.4** :

✓ Fluidisation de la poudre de particules;

✓ Pulvérisation du matériau d'enrobage sur les particules;

✓ Séchage de l'enrobage

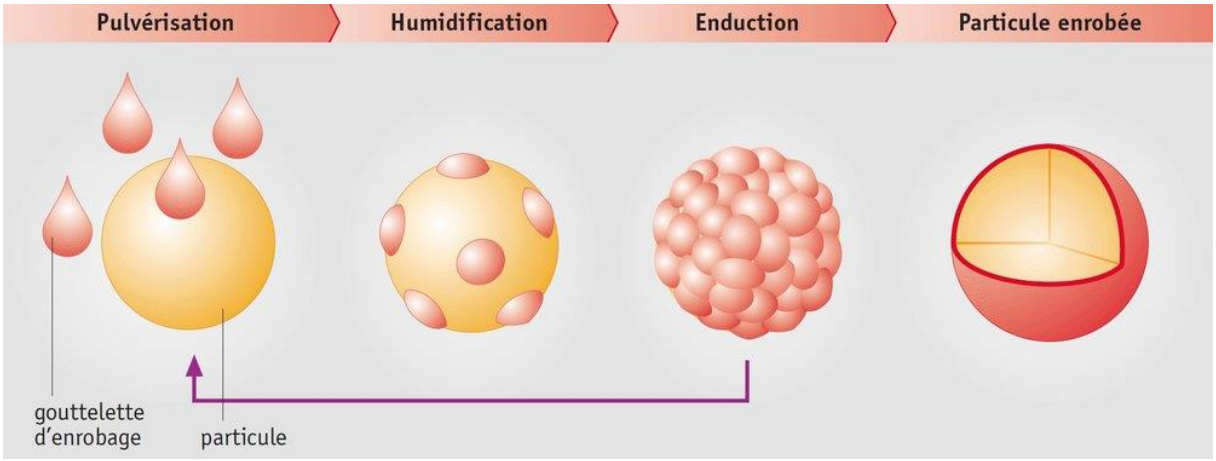


Figure II.4 Enrobage/encapsulation de particules avec des liquides

II.1.1.4 Extrusion : L'encapsulation par extrusion est utilisée presque exclusivement pour les substances volatiles et instables, telles que les arômes contenus dans les matrices glucidiques vitreuses **Gouin, 2004., Madene et al., 2006**.

La méthode d'extrusion consiste à déposer des gouttes d'une solution aqueuse du polymère (généralement de l'alginate de sodium) et à l'activer dans un bain gélifiant (pour l'alginate, le bain gélifiant est une solution de chlorure de calcium) **Nedovic et al., 2011**.

L'extrusion est une technique douce et pratique qui offre une encapsulation réussie d'une large gamme de composés, y compris des composés hydrophiles ou hydrophobes à longue durée de conservation **Shishir et al., 2018**.

II.1.2 Les procédés chimiques : Ils se caractérisent par l'initiation simultanée de la synthèse membranaire (ou matricielle) et de l'encapsulation du principe actif. Par conséquent, aucune matrice de revêtement préformée n'est utilisée dans les procédés chimiques**.**

II.1.2.1 Polycondensation Interfaciale : La polycondensation interfaciale s'applique à la fois aux solutions organiques et aqueuses ou aux solutions de substances actives liquides. Cette méthode implique deux monomères avec des groupes fonctionnels complémentaires (A et B), dont chacun se dissout dans une phase d'un système à deux phases. Avec cette méthode, les ingrédients actifs peuvent être encapsulés en utilisant un protocole en deux étapes **Figure II.5**. Dans un premier temps, une émulsion, phase dispersée contenant l'espèce à encapsuler et le monomère, est préparée. Cette émulsion est ensuite diluée pour obtenir le second monomère en phase continue. La réaction commence alors à l'interface des gouttelettes. A la fin de la réaction, un film contenant les espèces à encapsuler est obtenu **Boukhouya, 2019**.

La taille des microcapsules obtenues par polycondensation interfaciale est comprise entre environ 0,5 µm et 100 µm selon la taille initiale des gouttelettes d'émulsion **Richard et Benoit, 2000**.

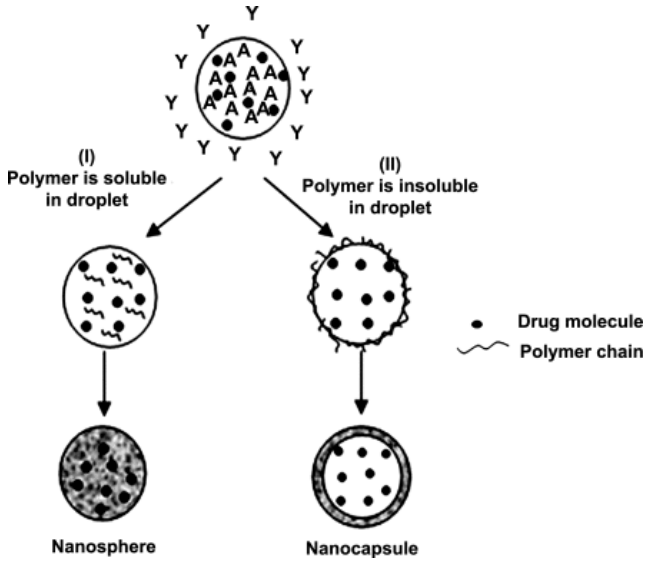


Figure II.5 Principe du procédé Polycondensation Interfaciale

II.1.2.2 Polymérisation :

La polymérisation est une technique d'encapsulation à l'aide de monomères ; Deux monomères réactifs sont dissous séparément dans des solvants immiscibles et mélangés afin de former une émulsion H/E (huile dans eau) ou E/H (eau dans huile) **Figure II.6**. Les monomères peuvent

alors réagir à l'interface huile/eau formant une membrane polymérique **Yeo et al, 2001, Whateley, 1996**.

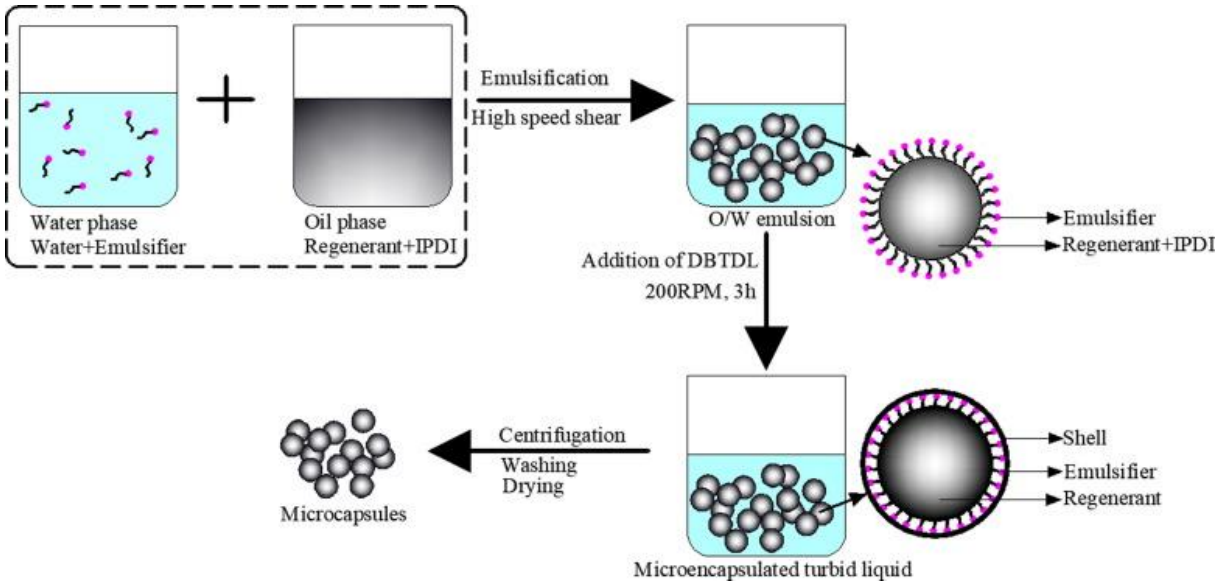


Figure II.6 micro-encapsulation par polymérisation

II.1.3 Les procédés physico-chimiques : sont dépendants :

-1- de la solubilité des agents enrobant sous l'effet de variations des conditions physiques (température, pH, ajout d'un non solvant ou d'un polymère incompatible…),

-2- de changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobants.

II.1.3.1 Coacervation :

La coacervation est une technique d'encapsulation simple et l'une des plus appliquées. Elle comporte trois phases principales **Shishir et al., 2018** :

-Premièrement : développement de phases non miscibles pendant le mélange pour le matériau de base, le matériau de revêtement et la phase liquide continue ;

-Deuxièmement : formation d'une couche d'encapsulation autour du composé actif en maintenant plusieurs paramètres, y compris le pH, la force ionique, la concentration du matériau de revêtement, le poids moléculaire et la température de la solution ;

-Finalement : solidification des capsules par des techniques de chauffage, de dissolution ou de réticulation. La coacervation correspond ainsi au phénomène de désolvatation des macromolécules, qui conduit à une séparation de phases en solution. A l'issue de ce phénomène,

le milieu présente deux phases : le coacervat (riche en polymère et pauvre en solvant) et le surnageant. Selon le nombre de biopolymères utilisés dans le processus de coacervation, on distingue la coacervation simple (un biopolymère) et la coacervation complexe (deux biopolymères ou plus).

II.1.3.2 Evaporation – extraction de solvant : La méthode d'évaporation et d'extraction de solvant est très utilisée pour préparer des microsphères chargées d'actifs variés et est basée sur l'emploi d'émulsion simple ou double selon le caractère hydrophile ou hydrophobe du principe actif **Yeo et al., 2001**. La microencapsulation par évaporation de solvant fait intervenir **Bile, 2015** :

- Une phase organique contenant le polymère, le solvant ainsi que le principe actif à encapsuler qui est dissout ou dispersé ;

- Une phase aqueuse contenant un agent stabilisant ;

- Un système d'agitation plus ou moins cisaillant ;

- Un système d'évaporation à pression et température ambiantes ou à pression réduite.

II.1.3.3 Gélification thermique d'émulsions (hot melt) : Ce procédé, également appelé hot melt, est basé sur la fusion du revêtement. La matière active à encapsuler est solubilisée ou dispersée dans cette matière fondue. L'ensemble est émulsionné dans une phase de dispersion, dont la température est maintenue au-dessus de la température de fusion de l'enrobage et pour laquelle le principe actif n'a aucune affinité : c'est-à-dire de l'eau distillée, si la substance à encapsuler est lipophile et de l'huile de silicone, par exemple si c'est. Soluble dans l'eau La solidification des sphères dispersées est obtenue par refroidissement rapide du milieu **Boukhouya, 2019**.

Comme de nombreuses substances actives sont thermolabiles, les matériaux crémaillères traditionnellement utilisés parmi ces mœurs de microencapsulation sont des lipides de bas porté de fusion. Les particules obtenues sont ici des microsphères d'une forme pouvant risquer traditionnellement de 30 à 300 µm **Boukhouya, 2019**.

Toutes les méthodes d'encapsulation à cause icelle-ci-là citée devant commencent par le quintette d'une dispersion (émulsion ou suspension).

La conclusion émulsion désigne une cavalcade entrant au moins double liquides non miscibles, lequel l'un est disperse parmi l'autre, en deçà une grandeur encore ou moins stable. Le soubassement de littéraux systèmes peut participer améliorée facilité à l'préfixe d'additifs littéraux que les tensioactifs **Theron, 2009**.

II.1.3.4 Emulsification : Par émulsion, on entend un système contenant au moins deux liquides non miscibles dont l'un est dispersé dans l'autre, sous une forme plus ou moins stable. La stabilité de tels systèmes peut être améliorée en ajoutant des additifs tels que des tensioactifs **Shishir et al., 2018**.

II.2 Procédés d'encapsulation pour les composés phénoliques

Plusieurs techniques sont décrites dans la littérature pour encapsuler des substances bioactives, notamment plusieurs sont les expériences réalisées pour encapsuler des composés phénoliques.

Parmi les réactives qui sont utiliser dans la Procédés d'encapsulation pour les composés phénoliques sont les l'Alginate de sodium et la Carbométhylcellulose (CMC) qui sont des biopolymère très couramment dans cette procédure et plus dans les sources les plus abondants dans le monde.

II.2.1 Procédés basés sur le séchage

Les techniques d'encapsulation sont souvent basées sur des processus des séchages en raison de la nature liquide des extraits qui contiennent les composés bioactifs. Le séchage par atomisation, lit fluidisé, lyophilisation…etc. parmi ceux-ci technologies, le séchage par atomisation est l'une des plus utilisées pour l'industrie alimentaire en raison de son faible coût et la flexibilité, ainsi que la lyophilisation, qui est très appropriée pour le séchage des composés thermosensibles car il conserve presque intacte les propriétés fonctionnelles initiales de ces composants. Cependant, le séchage et le matériau utilisé comme revêtement affectent généralement la capacité de rétention des composés dans la matrice. Par conséquent, il est très important de bien sélectionner les deux, le revêtement et la technique d'encapsulation, afin de maximiser l'incorporation et la rétention des composés fonctionnels dans la matrice d'encapsulation **Ballesteros et al., 2017**.

II.2.1.1 Séchage par atomisation (spray drying) :

Le procédé d'atomisation (ou spray drying) est un procédé mécanique de déshydratation qui induit la transformation de préparations liquides en poudres sèches. Différentes formes liquides

initiales peuvent permettre la micro-encapsulation de la matière active par atomisation **Benyahia et Hadbi., 2016**.

L'émulsion – la matière active est émulsionnée dans une solution contenant le matériau enrobant ;

La solution – la matière active et le matériau enrobant sont solubilisés dans le même solvant ;
La dispersion – des particules solides de matière active sont dispersées dans la solution de matière enrobante.

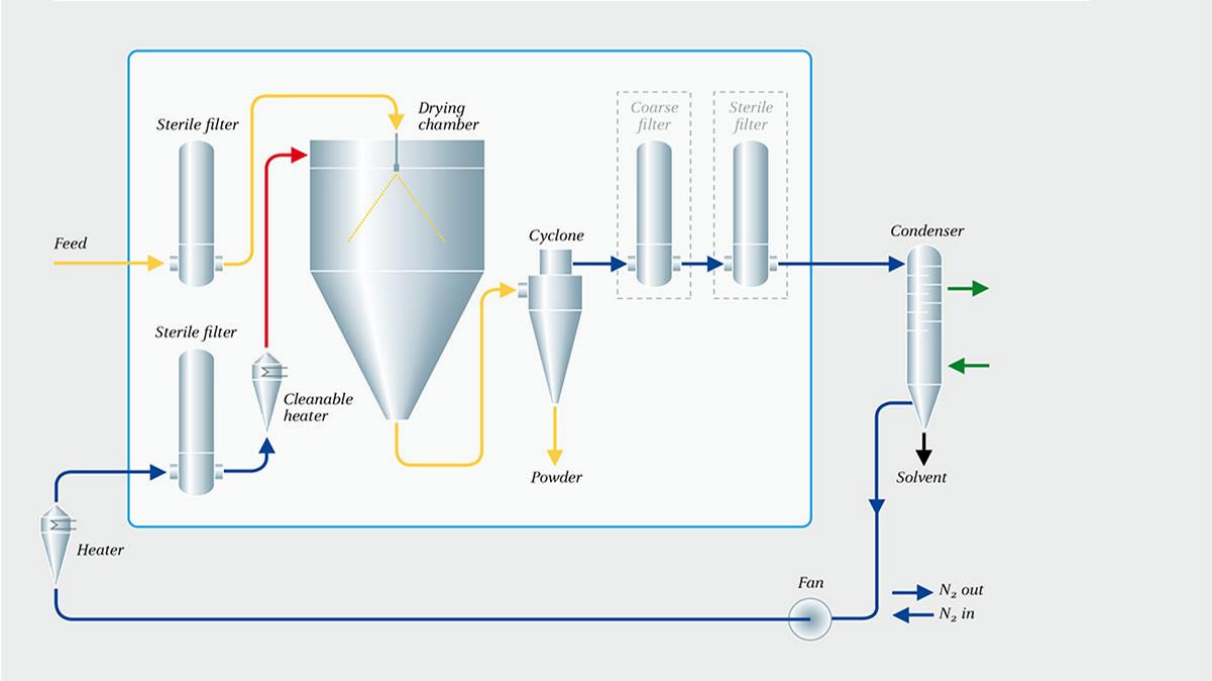


Figure II.7 Schéma de fonctionnement d'un procédé de Spray-Drying

II.1.2 Lyophilisation (freeze drying) :

La lyophilisation est connue aussi sous le nom de cryodessiccation et de séchage à froid. La lyophilisation, est l'un des procédés les plus utiles pour l'encapsulation des molécules thermosensibles et instables dans les solutions aqueuses. C'est une opération de déshydratation à basse température qui consiste à éliminer par sublimation, la majeure partie de l'eau contenue dans un produit initialement congelé. Ainsi, l'eau incluse dans le produit passe directement de l'état solide à l'état gazeux **Madene, 2006**. Donc, La lyophilisation consiste en l'élimination progressive de l'eau du produit préalablement congelé (phase solide) par passage à la phase vapeur, sans passer par la phase liquide. Ce changement d'état s'appelle la sublimation **Mellahi**

et Soualmi., 2015. On distingue trois phases majeures dans un cycle de lyophilisation **MellahietSoualmi.,2015 ; Madene, 2006** :

La congélation, où les produits sont réfrigérés à des températures de l'ordre de -20 °C à 80 °C. L'eau se transforme alors en glace ;

La dessiccation primaire sous vide, qui consiste à sublimer la glace libre (interstitielle), donc sans effet d'ébullition (pas d'eau en phase liquide), qui conduit à l'élimination de 85 à 90 % de l'eau d'un produit ;

La dessiccation secondaire, qui permet d'extraire par désorption les molécules piégées à la surface des produits séchés, qui conduit à l'élimination des 10% d'eau liée restants et, en fin de processus, l'obtention d'un produit faible en teneur en eau.

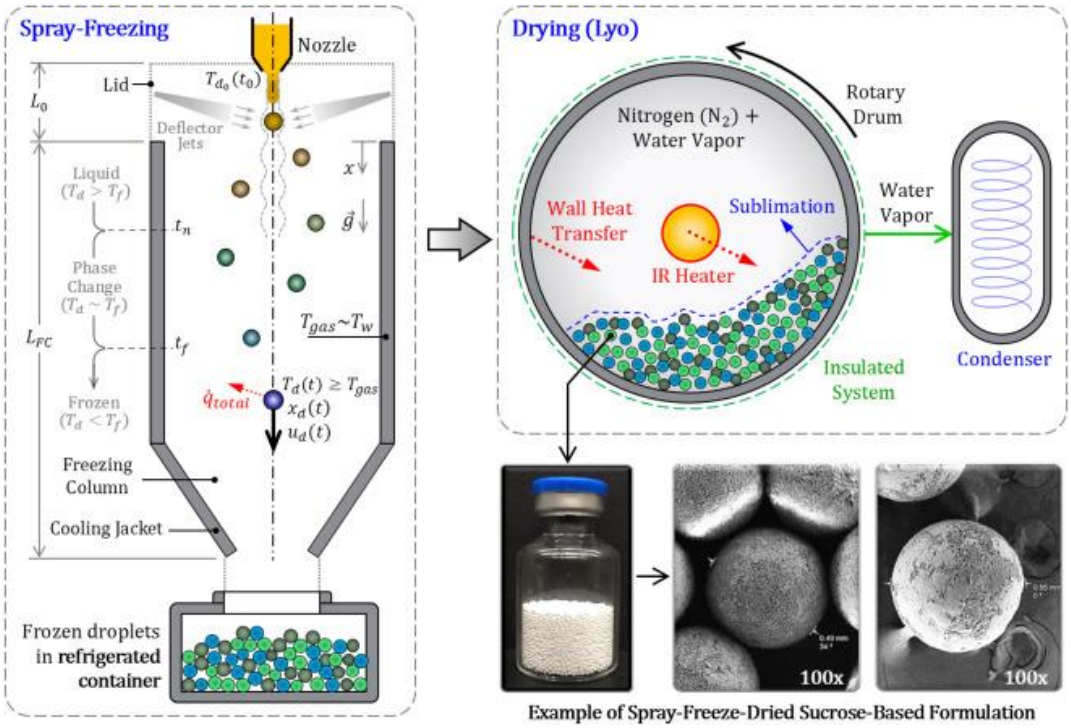


Figure II.8 Schéma du procédé de Lyophilisation (freeze drying)

II.2.2 La coacervation (séparation de phase) :

Il s'agit d'un mécanisme de séparation de phases qui se produit dans les solutions de polymères et mettant en jeu la formation de micro domaines riches en polymères (coacervats) coexistant avec une phase continue pauvre en polymères **Quellet, 2016**.

Dans certaines conditions, la phase coacervat forme une couche continue qui enrobe le matériau à encapsuler. Les microparticules formées peuvent être collectées par centrifugation ou filtration, puis lavées avec le solvant approprié, séchées et durcies par des techniques thermiques, de réticulation ou de désolvatation **Peng et al.**, **2014**. Par conséquent, la coacervation est un processus en trois étapes **Figure II.9** :

Formation d'une émulsion huile-dans-eau (h / p) (le composé actif est dispersé dans la phase aqueuse et le polymère est dissous dans la phase organique) ;

Dépôt du revêtement polymère liquide sur le matériau de noyau et

Stabilisation et durcissement du matériau de revêtement pour former des microcapsules auto-entretenues **Lazko et al., 2004**.

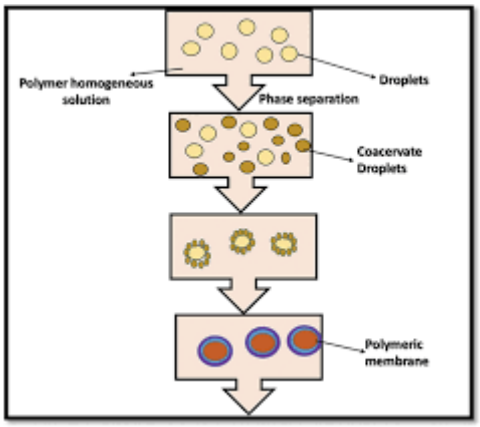


Figure II.9 La coacervation (séparation de phase)

II.2.3 Encapsulation par émulsion double (émulsion E/H/E)

Les émulsions sont une dispersion hétérogène de deux liquides non miscibles, l'un des liquides étant dispersé sous forme de petites gouttelettes sphériques dans l'autre. Les émulsions peuvent être classées comme des dispersions biphasiques, des émulsions simples, telles que l'huile dans l'eau (H / E) ou l'eau dans l'huile (E / H) ou des dispersions multiphases complexes connues sous le nom d'émulsions multiples **Figure II.10**,**11**. Les émulsions multiples peuvent être divisées en quatre types : mono-noyau, multi-noyaux, Janus et compartiments multiples. L'émulsion à noyau unique en fonction du nombre de phases (deux, trois, quatre et cinq phases) peut être divisée en gouttes double, triple quadruple et quintuple **Vladisavljevi´c et al., 2017**. Double émulsion ou « Émulsions d'émulsion » est une émulsion dans laquelle l'émulsion primaire est ensuite dispersée dans un autre liquide (phase continue) **Benichou et al., 2004**.

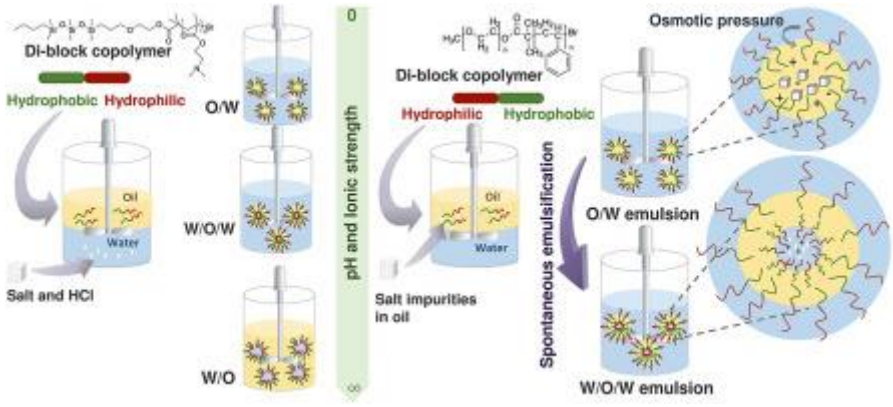


Figure II.10 Encapsulation par émulsion double

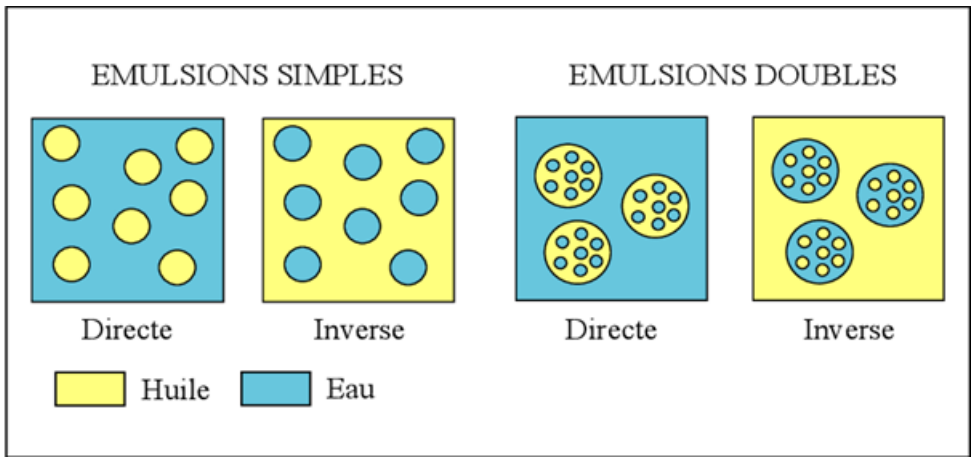


Figure II.11 Encapsulation par émulsion double/émulsion simple

II.2.4. La gélification ionique

Le potentiel élevé de cette procédure le maintiendra en vigueur parmi les méthodes les plus modernes ou automatisées, comme une variante abordable et cohérente.

II.2.4.1. Le principe de la gélification ionique

La technique de GI peut être définie comme un processus physicochimique de durcissement des gouttelettes par chélation de polyélectrolyte avec des ions polyvalents. Elle implique simplement l'interaction d'un polymère ionique avec l'ion de charge opposée pour initier la réticulation tout en formant une coquille sous forme de gel polymérique. Le polysaccharide est dissous dans une solution aqueuse pour obtenir son ion. Cette solution est ensuite ajoutée goutte à goutte sous agitation continue à la solution polyanionique. En raison de la complexation entre les charges opposées, le polysaccharide subit une gélification ionotropique et se précipite pour former des particules sphériques. **Giri.T, (2016)**

II.3 Les biopolymères utiliser dans la procédure d'encapsulation par Gélification ionique

Pour notre étude ont été réaliser la technique de gélification ionique pour l'encapsulés notre extrait. Ce technique est fait par des biopolymères à des propriétés physico-chimique spécifiques pour ce type de procédure.

Les matériaux enrobant peuvent être des polymères d'origine naturelle (gélatine, chitosan, alginate de sodium, etc.), des polymères semi-synthétiques exemple les dérivés cellulosiques(CMC), des polymères synthétiques (acryliques, styréniques, PEG, PPG, PLA…) ou bien encore des lipides solides (acides gras, cire de carnauba…).

Le choix de la matrice ou membrane doit être fait en fonction de l'application, pour garantir la stabilité des particules dans le produit fini (ex. stabilité hydrolytique dans les adoucissants) ou encore la facilité de libération de l'actif (ex. fragilité mécanique pour la cicatrisation de rayure). Différents autres facteurs physico-chimiques comme la charge électrique de surface, la mouillabilité, la porosité ou l'épaisseur orienteront le choix du polymère.

La nature de l'enrobant, au même titre que l'état physique de l'actif, impacte fortement la cinétique de libération. **polymerexpert.fr**

Références bibliographiques

A

Akdim, L (2017) (2016). Comparaison de méthodes d'absorption et d'encapsulation de l'huile essentielle de *Copaifera Officinalis L*. en vue d'une application en cosmétique. Travail de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de master bioingénieur en Sciences agronomiques. Autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech, 54p.

B

Boukhouya, I (2019). Elaboration de microparticules chargées d'Amoxicilline et de Théophylline à partir de polymères biodégradables ; Etude cinétique de leur libération. Thèse de doctorat en Chimie. Université Djillali Liabes de Sidi Bel-abbes, 212p.

Bile, J (2015). Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés. Thèse de doctorat en Chimie théorique et/ou physique. Université Claude Bernard - Lyon I, 243.

Ballesteros, LF., Ramirez, MJ., Orrego, CE., Teixeira, JA et Mussatto, SI. (2017). Encapsulation ofantioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. Food Chemistry **237:** 623-631.

Benyahia, H., Hadbi, F (2016). Microencapsulation de la poudre de l'écorce de grenade (PEG) par coacervation complexe (pectine/caséine): Essai d'incorporation dans le yaourt. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master en Génie des Procédés. Université M'hamed Bougara Boumerdes, 54p.

Benichou et al., **2004**

D

Dias, D R., Botrel, DA., De Barros, FRV et Borges, SV (2017). Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional food, Current Opinion in Food Science **13:** 31–37.

De Vos, P., Faas, MM., Spasojevic, M et Sikkema, J (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. International Dairy Journal **20 :** 292-302.

De Kruif et al, 2004

G

Gouin, S (2004). Micro-encapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. Trends in Food & Technology **15:** 330-347.

Giri.T, (2016). Nanoarchitectured Polysaccharide-Based Drug Carrier for Ocular. Nanoarchitectonics for smart delivery and drug targeting. **2016** :119.

K

Kerdudo, A (2014). Optimisation de la conservation des cosmétiques : impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation. Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'université de Nice – Sophia Antipolis CHIMIE, 232p.

Kerdudo et al, 2015

Kolhe et al, 2003

L

Lazko, J., Popineau, Y. et Legrand, J.(2004). Soy glycinin microcapsules by simple coacervation method. Colloids Surf. B. Biointerfaces 37, 1 – 8.

M

Madene, A (2006). Etude des Transferts d'Arômes Encapsulés dans une Matrice Alimentaire type Génoise. Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. Université de Lorraine, 128p.

Mellahi, D.,Soualmi, T (2015). Optimisation de quelques paramètres de lyophilisation d'un anti-inflammatoire à base du diclofénac sodique. Génie des Procèdes. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, 59p.

Michael, 2009

Martins et al, 2014

Martins et al, 2010

Martin, S., riantsitohaina, R (2002).Mécanismes de la protection cardiaque etvasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annals de cardiology et d'angéiologie **51:** 304-315.

N

Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F et Durrieu, V (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. Industrial Crops and Products **42 :** 469-479

Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., Bugarski, B (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. Procedia Food Science **1 :** 1806 - 1815.

P

Peng, C., Jovanovi, KK., Markovi, T., Markovi, D., Gligorijevi, N., Radulovi, S et Sokovi, M (2014). Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (Sinapis alba) seed essential oil by complex coacervation. Food Chem **165 :** 560-568

polymerexpert.fr https://polymerexpert.fr/blog/lencapsulation-chimique-et-physicochimique-dactifs/

Q

Quellet, C (2016). Microencapsulation des parfums en cosmétique

R

Richard, J., Benoit, JP (2000). Microencapsulation. Tech. Ing. J **2210:** 1–20.

Raychaudhuri et Chakraborty, 2016,

Ray, S., Raychaudhuri, U et Chakraborty, R (2016). An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. Food Bioscience **13:** 76-83.

S

Shishir, MRI., Xie, L., Sun, C., Zheng, X., Chen, W (2018). Advances in micro and nanoencapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters, Trends in Food Science and Technology **78:** 34–60

Shishir, MRI et Chen, W (2017). Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. Trends in Food Science and Technology **65:** 49–67.

T

Theron, F (2009). Conception et mise en œuvre d'un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale. Thèse de doctorat en Génie des Procédés et de l'environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse, 203p.

V

Vladisavljevi´c, G., Al Nuumani, R et Nabavi, S (2017). Production Microfluidique d'émulsions multiples, Micromachines **8 (3):** 75

Vandamme et al, 2007

W

Whateley, TL (1996). Microcapsules: Preparation by interfacial polymerization and interfacial complexation and their applications. Microencapsulation: Methods and Industrial Applications, Benita, S., Ed. Marcel Dekker, 349-375

Y

Yeo, Y., Baeck, N., et Park, K (2001). Microencapsulation methods for delivery of protein drugs. Biotechnology and Bioprocess Engineering **6(4) :** 213-230

Chapitre III : Généralité sur l'Alginate de sodium et la Carbométhylcellulose

III.1 Introduction

La sélection de la matrice d'encapsulation est une étape préliminaire nécessitant une approche méthodologique rigoureuse. Le choix des biopolymères est crucial puisqu'il détermine les propriétés des microparticules et donc l'efficacité de protection et conservation des principes actifs (les composés phénoliques).

Pour notre travail ont été choisie l'Alginate de sodium et la Carbométhylcellulose comme des biopolymère réaliser dans l'encapsulation par technique de gélification ionique.

L'alginate est utilisé dans les formulations galéniques à libération immédiate avec effet systémique soit comme agent de liaison soit comme désintégrant.

Cependant certaine formes nécessitent une libération prolongée et l'alginate de sodium est utilisé pour y parvenir **Tønnesen, H.H. and J. Karlsen 2002**.

La même chose pour la Carbométhylcellulose qui est utilisée comme matrice pour protéger les biomolécules comme l'ADN, et aussi pour les principes actifs comme les vitamines à cause de la biocompatibilité ces propriétés.

Pour la réalisation de notre procédure d'encapsulation ont été utiliser des quantités variables entre ces deux polymères car l'influences de cette proportion entre les deux sur la procédure d'encapsulation.

III.2 L'alginate

Est un hétéropolysaccharide linéaire, extrait de différents types d'algues brunes et rouges. Il est constitué de deux unités structurales ; l'acide D- manuronique et l'acide L-guluronique.

L'acide alginique est un produit intermédiaire dans la fabrication industrielle d'alginate, l'acide alginique est transformé en alginate commercial par l'incorporation de différents ions tels que : sodium (Na+), potassium (K+), magnésium (Mg+) et calcium (Ca++) **Khalil et Mansour, 1998 ; Homayouni et al., 2007**.

III.2.1 Sources d'Alginate

Les alginates sont issus de deux sources principales, bactéries et algues brunes.

III.2.1.1 Bactéries :

Plusieurs espèces bactériennes sont impliqués dans la synthèse d'alginate, essentiellement les bactéries aérobies fixatrices d'azote « Azobacter vinelendi » mais aussi le Pseudomonas aeroginosa qui est une bactérie pathogène, la molécule d'alginate présente un rôle important dans le cycle de vie de la bactérie, elle offre une protection vis-à-vis l'action des phagocytes, les antibiotiques et la déshydratation par la formation d'une capsule qui enferme la bactérie. Le progrès de la science dans la manipulation génomique a permis par cette voie de synthèse de contrôler la structure du polymère ainsi la production d'un alginate en copolymère en Bloc.

Cette voie de synthèse est moins courante par rapport à la synthèse à partir les algues et cela revient à plusieurs paramètres comme le cout mais indépendante des conditions climatiques et la pollution **Vincent, E et Ertesvaê G H, H.H., Schjerven H, Svanem big and Valla S**.

III.2.1.2 Algues :

Les alginates polysaccharidiques naturelles issues des algues brunes, constituent 40% de leur poids sec, c'est un mélange d'alginate. **Vincent, E et Ertesvaê G H, H.H., Schjerven H, Svanem big and Valla S**.

III.2.2 Propriétés

III.2.2.1 Structure chimique :

Le polymère d'alginate est composé de deux unités monomériques : les résidus d'acide D-mannuronique (M) liés par des liaisons beta (1→4) et des résidus d'acide L-guluronique (G) liés par des liaisons alpha-(1→4). La structure de base des alginates est constituée d'unités

linéaires non ramifiées de polymères constitués de monomères disposés en blocs de M et des résidus G entrecoupés de régions contenant des séquence M-G au sein de la structure comme le montre la **Figure III.1 Travan, A., et al 2009 et Draget, K., 2009.**

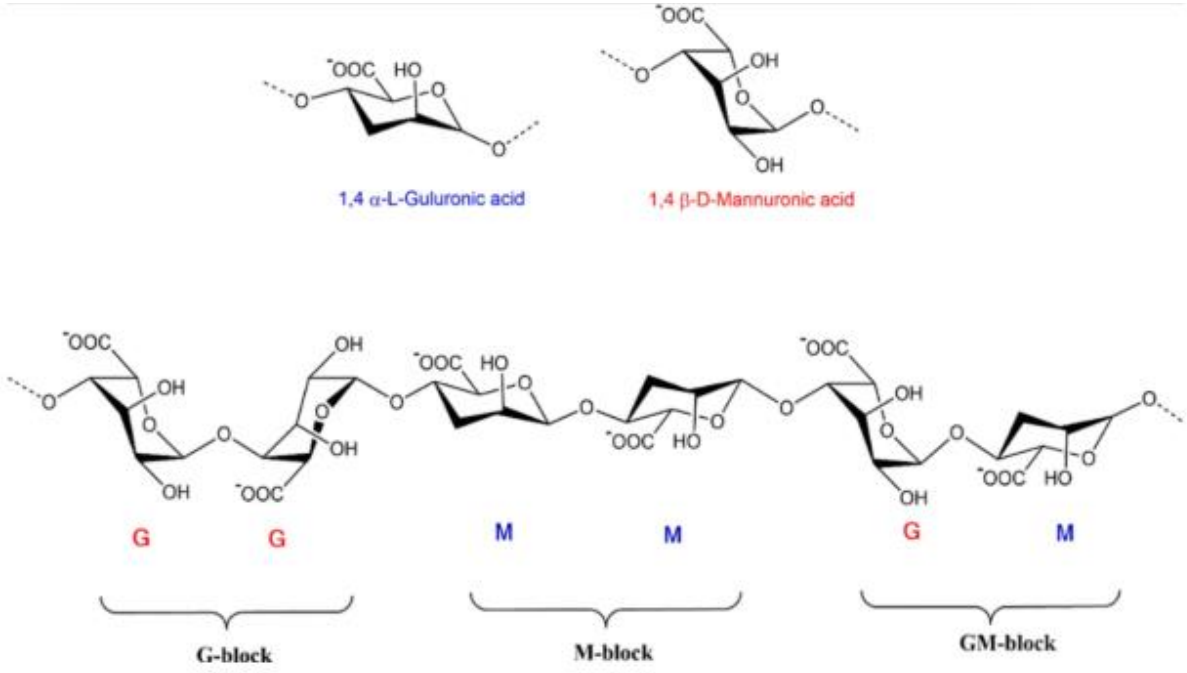


Figure III.1 Structure chimique du polymère d'alginate **BOUDERGA 2005**.

La composition d'un polymère d'alginate varie selon l'origine de l'espèce d'algue dont il est extrait. La proportion et les séquence des résidus M et G détermine le poids moléculaire et modifie les propriétés physiques de ce dernier. Le polymère d'alginate peut comporter des régions homopolymériques constituées exclusivement d'un seul type de monomère (blocs M ou blocs G) ou une séquence hétéropolymèriques composée de résidus M et G (blocs MG) **Ertesvaê G H, H.H., Schjerven H, Svanem big and Valla S Pawar, S.N. and K.J. Edgar.**

III.2.2.2 Solubilité et stabilité :

La stabilité de l'alginate au stockage est excellente lorsque la poudre est stockée dans un récipient bien fermé (à sec) **SMIDSRéD O, H.A.a.L.B 1966**.

Sa solubilité varie en fonction de type de solvant utilisé, soluble dans l'eau froide formant des solutions visqueuses de nature colloïdale et insoluble dans les solvants organiques (éther, chloroforme...) et les solvants de nature alcoolique dont la teneur en alcool est supérieure à 30%. La solubilité de l'alginate dépend de trois paramètres principaux **Draget, K., 2009**.

III.2.2.3 pH du solvant :

La valeur du Pka du polymère d'alginate est voisin des valeurs des monomères qui le composent soit 3,38 et 3,65 pour l'acide mannuronique et l'acide guluronique respectivement **Draget, K., 2009.**

III.2.2.4 Présence d'ions divalents :

La solubilité d'alginate et influencé par l'interaction de ses groupement carboxylique (–COO) avec les ions divalents (Ca2+, Mg2+.....), cette constatation est importante pour choisir les bons ingrédients de préparation par exemple éviter l'eau qui est dure dont les teneurs en calcium sont assez élevées **Ben Messaoud, G 2015**.

III.2.2.5 Viscosité :

Il existe différents grades d'alginate de sodium avec des viscosités différentes en fonction de leur provenance, espèces d'algues et de la saison ce qui donne une variation structurelle du polysaccharide. Il existe aussi une relation inversement proportionnelle entre la viscosité et la vitesse de cisaillement **Ben Messaoud, G 2015 et Colwell, D.E., et al 1984.**

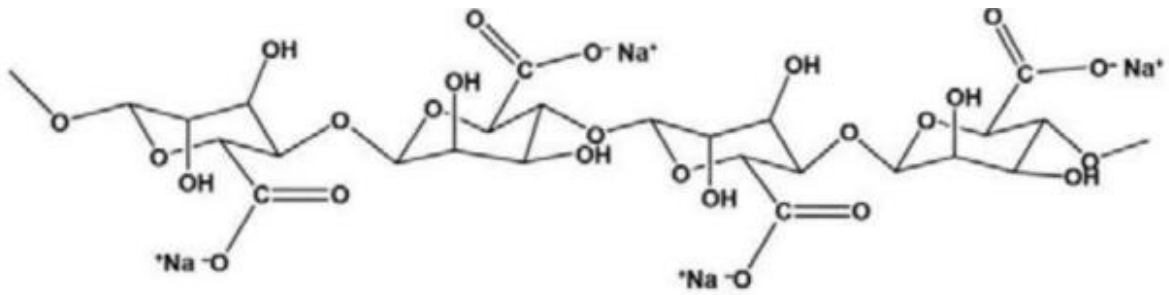


Figure III.2 Représentation de l'alginate de sodium.

III.2.5 Application de l'alginate dans les systèmes de délivrance des biomolécules

L'alginate peut être utilisé comme matrice pour le piégeage ou la délivrance des biomolécules telles que l'ADN, des protéines et des cellules, le processus de gélification doit être doux, sans l'usage des solvants organiques pour conserver la structure tridimensionnelle du ces biomolécules. La libération se fait par diffusion avec une vitesse qui peut être contrôlée par revêtement des microparticules de l'alginate **Tønnesen, H.H. and J. Karlsen 2002**.

La biocompatibilité et l'immunogénicité de l'alginate varie en fonction de rapport M/G et en fonction de présence des impuretés mutagènes. Cependant l'alginate riche en G plus que M est plus biocompatible, d'autres facteurs tels que la taille et la forme des microparticules, la composition et la viscosité de la membrane influence sur l'immunogénicité de l'alginate. La polarité de quelque type de protéines peut entrer en compétition avec le calcium pour les sites de l'acide carboxylique disponible sur l'alginate ce qui entraine la réduction de taux de diffusion où conduit à l'inactivation de la protéine. Il est donc nécessaire d'ajouter des additifs (acide polyacrylique) qui protège l'agent actif de l'alginate **Tønnesen, H.H. and J. Karlsen 2002**.

En plus de son usage pour la véhiculassions des biomolécules dans le tractus gastro-intestinale, l'alginate grâce à sa propriété mucoadhésive peut être utilisé en tant véhicule potentiel de délivrance des biomolécules dans les tissus muqueux **Tønnesen, H.H. and J. Karlsen 2002.**

III.3 La cellulose

Il y a un peu plus de 180 ans, Anselme Payen découvrait et isolait de la cellulose à partir de plantes vertes **Le Roux, 2003**. Depuis, de nombreuses recherches ont donné lieu à d'innombrables revues concernant ce polymère.

La cellulose reste le bio-polymère le plus abondant sur la planète et est largement exploitée dans le monde. On estime que la production annuelle de cellulose synthétisée naturellement est de l'ordre de 1011-1012 tonne. Ce bio-polymère peut se présenter sous une forme pure, comme dans le coton ou combiné avec de la lignine et autres polysaccharides pour former les parois cellulaires des arbres et autres plantes lignocellulosiques.

La cellulose entre pour une part importante dans la composition des membranes végétales avec une teneur variant de 15% à 99% **Tableau 1**.

Tableau 1 : Teneur en cellulose de quelques espèces végétales **Bledzki, 1999.**

Espèce végétale	Teuneur en cellulose (en pourcentage de la matiére séche)
Coton	95-99
Lin	70-75
Bambou, bouleau (bois), blé (paille)	40-50
Maïs	17-20

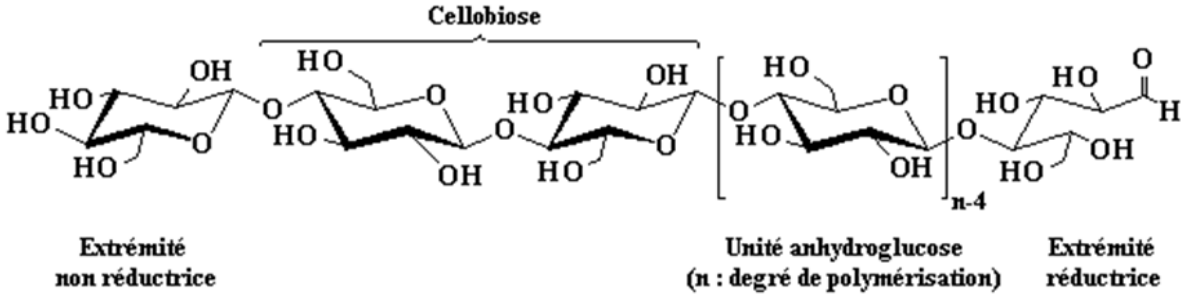


Figure III.3 Représentation de la chaîne de cellulose **Kamel et al, 2008**.

III.3.1 La carboxyméthylcellulose

Elle est aussi dénommée CMC, NaCMC, CMC sodique, gomme cellulosique ou sel de sodium de l'éther carboxyméthylique de cellulose. Elle est constamment utilisée dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et agro-alimentaire. Le degré de pureté de ce produit dépend du domaine dans lequel il est utilisé.

Sa formule chimique est un polymère linéaire soluble dans l'eau, constitué d'unités β-anhydroglucose portant chacune trois groupements hydroxyles. Sa formule chimique est :

[C6H7O2 (OH)2 (OCH2COONa)] n **Baker, 1982**.

Sa structure chimique développée est représentée dans la **Figure III.4**.

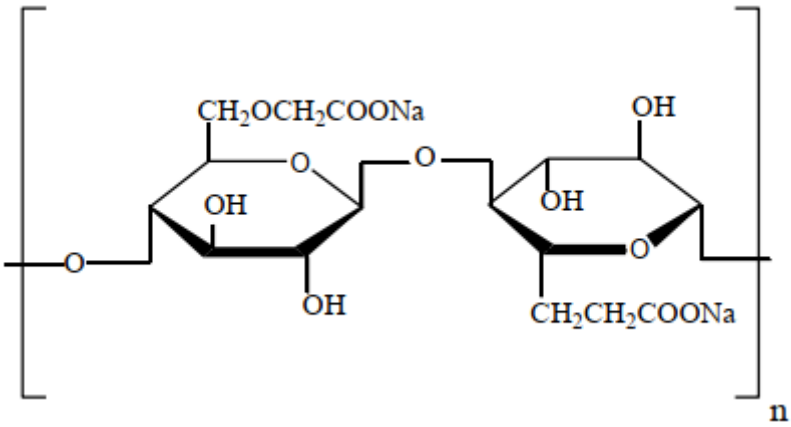


Figure III.4 Structure moléculaire de la carboxyméthylcellulose sodique **Sik Hwang, 2004**.

Cet éther de cellulose est obtenu par une réaction de substitution du groupement hydroxyle de la cellulose avec le monochloroacétate de sodium **Figure III.5**. L'importance de la réaction de substitution, encore appelée degré de substitution (DS), est estimée par le nombre moyen de groupements hydroxyles présents sur une unité β-anhydroglucose **Fontanille, 2002**.

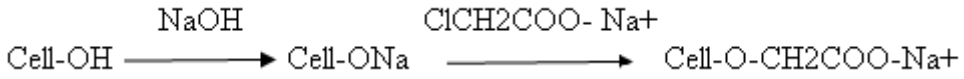


Figure III.5 Voie de production de la carboxyméthylcellulose sodique

III.3.1.2 Propriétés de la carboxyméthylcellulose sodique :

La carboxyméthylcellulose est une poudre blanche, légèrement jaunâtre, sans odeur et sans goût. Elle est hygroscopique constituée de particules, de granulés ou de fibres très fines.

Elle est non seulement hydrophile, mais aussi totalement soluble à chaud, à froid et dans le mélange eau/alcool. Elle est insoluble dans les solutions inorganiques. Sa capacité de former des agrégats augmente considérablement la viscosité de ses solutions aqueuses.

Elle présente une très bonne adhésivité, une excellente reprise de gel (thixotropie) et une forte résistance thermique au microcisaillement.

Certains facteurs externes interviennent dans la viscosité de la solution de la carboxyméthylcellulose sodique tels que la concentration, le pH, la température et les électrolytes :

- La viscosité de la solution de la carboxyméthylcellulose augmente avec l'augmentation de la concentration.

- La viscosité augmente avec les pH élevés. Cette acidité est un facteur défavorisant à la stabilité de la solution et par conséquent va provoquer la précipitation de la CMC.

- La viscosité diminue avec l'augmentation de la température. Il est à noter aussi que la solution de la carboxyméthylcellulose sodique ne précipite pas quand la température est supérieure de 60°C.

- L'effet des électrolytes dépend de la solubilité du sel de la CMC correspondant, à savoir :

-1-Les cations monovalents tels que les (Na+) donnent des sels solubles.

-2-Les bivalents tels que les (Cu2+, Ca2+) donnent des sels dont la solubilité est moyenne tandis que les trivalents tel que les (Fe3+) donnent un précipité ou un gel solide

Eouani,2001.

III.3.1.3 Utilisation de la carboxyméthylcellulose :

La CMC est très utilisée dans l'industrie, y compris dans l'industrie textile, (comme produit d'encollage), dans les émulsions de résine de peinture et les encres d'imprimeries, dans l'industrie du papier (Xiao Hong et al., 2007). La CMC est également rencontrée dans les détergents, les savons, les épaississants et d'autres produits de beauté dans le domaine du cosmétique. Dans l'industrie alimentaire, les préparations sèches pour boissons, le glaçage, les sirops et les aliments cuits au four. Des catégories de grande pureté de CMC sont utilisées comme additifs. La CMC fonctionne comme agent pour prolonger la période d'expiration des produits alimentaires. La CMC est également employée dans les applications pharmaceutiques, céramiques et d'autres utilisations biologiques qui nécessitent des propriétés viscosifiantes **Rossi et al.,1996**.

Références bibliographiques

B

Bary, P., Les origines de la chimie colloïdale : A. Baudrimont (**1806-1880**). L'Expansion scientifique française (Paris).

BOUDERGA, Adsorption du vert malachite par des composite « alginate/bentonite ». 2005, Tlemcen : Universite Abou BekrBelkaid ; **2015**.

Ben Messaoud, G., Structuring and control of the architecture of alginate liquid-core capsules by biopolymers association. **2015**, Université de Lorraine.

Baker C.; (1982); « Méthylcellulose et Carboxyméthyl cellulose sodique: Utilisation dans la Conservation de papier », The book and Paper Group Annuel, 1, pp. 695-729.

Bartouilh L.; (2004); «Caractérisation et modification de viscocellulose macroporeuse en vue de son utilisation comme matériau de comblement osseux», Thèse de doctorat, Université Bordeaux 1, Ecole doctorale des sciences chimiques.

Bledzki A. & Gassan J.; (1999); « Composite reinforced with cellulose based fibers», Progress in Polymer Science, pp. 221-274.

C

Colwell, D.E., et al., Monoclonal antibodies to Salmonella lipopolysaccharide: anti-O-polysaccharide antibodies protect C3H mice against challenge with virulent Salmonella typhimurium. The Journal of Immunology, **1984**. 133(2): p. 950-957.

D

Draget, K., et al. Gel strength of Ca-limited alginate gels made in situ. in Fourteenth International Seaweed Symposium. **1993**. Springer.

Draget, K., Alginates. **2009**. p. 807-828.

E

Ertesvaê G H, H.H., Schjerven H, Svanem big and Valla S,Mannuronan C5- epimerases and their application for in vitro and in vivo design of new alginates useful in biotechnology'. Metabolic Engineering, **1999**

F

Fontanille Gnanou Y.; (2002); «Chimie et Physico-chimie des Polymères», Cycles. Ecoles d'Ingénieurs, 2, pp. 466-473.

J

Jouanneau, D., Les phycocolloides. **2010**.

K

Kuen YL, M.D., Alginate: Properties and biomedical applications. Progress in Polymer Science **2012**.

Kamel S., Ali N. & Jahangir K.; (2008); «Pharmaceutical significance of cellulose: A review», Express Polymer Letters, 2, pp. 758-778

L

Lee, K.Y. and D.J. Mooney, Alginate: properties and biomedical applications. Progress in polymer science, **2012**. 37(1): p. 106-126.

P

Pawar, S.N. and K.J. Edgar, Alginate derivatization: a review of chemistry, properties and applications. Biomaterials, **2012**. 33(11): p. 3279-3305.

Perez, R., et al. La culture des algues marines dans le monde. **1992**.

Pérez, R., Ces algues qui nous entourent: Conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture. **1997**: Editions Quae.

R

Rinaudo, Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials.Centre de recherches sur les MacromoléculesVégétales (CNRS). **2008**,

Joseph Fourier University.

Rossi S., Bonferoni M.C. & Ferrari F. et al.; (1996); «Characterization of mucin interaction with three viscosity grades of sodium carboxymethylcellulose, Comparison between rheological and tensile testing», Eur J Pharm Sci, 4(3), pp. 189-199.

S

SMIDSRéD O, H.A.a.B.L., `Oxidative-reductive depolymerization: a note on the comparison of degradation rates of different polymers by viscosity measurements'. Carbohydr Res, **1967**.

SMIDSRéD O, H.A.a.L.B., `Degradation of alginate in the presence of reducing compounds'. Acta Chem ScanD, **1963**.

SMIDSRéD O, H.A.a.L.B., The influence of pH on the rate of hydrolysis of acidic polysaccharides', . Acta Chem Scand, **1966**.

T

Tønnesen, H.H. and J. Karlsen, Alginate in Drug Delivery Systems. Drug Development and Industrial Pharmacy, **2002**. 28(6): p. 621-630.

Travan, A., et al., Non-cytotoxic silver nanoparticle-polysaccharide nanocomposites with antimicrobial activity. Biomacromolecules, **2009**. 10(6): p. 1429-1435.

V

Vincent, E., The alginate and their applications in pharmacy and engineering. Application to the construction of a biomaterial. **2010**, UHP - Université Henri Poincaré. p. non renseigné.

W

Wee, S. and W.R. Gombotz, Protein release from alginate matrices. Adv Drug Deliv Rev, **1998**. 31(3): p. 267-285.

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

IV.1 Introduction

Ce travail concerne s'intéresse à l'extraction les composés phénoliques d'une source végétal et des conserves. L'élément végétal que nous avons utilisé est les écorces de la grenade qui a été recueillie dans la région de Médéa à l'automne.

Au début du processus d'extraction, la poudre végétal doit être séché et broyé. Pour l'extraction, nous avons utilisé le processus de macération dans une solution hydro-alcoolique, et après avoir obtenu l'extrait.

Pour la récupération de l'extrait sécher, on a réalisé l'encapsulation comme une technique très pratique, avec la suivre des conditions optimales qui influé sur cette procédure. En à modéliser un plan à surface pour étudier l'influences des paramètres sur les rendement d'encapsulation (la masse, taux d'encapsulation, PPT, Flavonoïdes, Tanins).

Le travail était au niveau de laboratoire de chimie de la Faculté des Sciences de l'Université Yahya Fares wilaya de Médéa, commune Ouzera.

- **Matériels**

Tableau IV.1 Matériels utilises

Les appareilles	**La marque**	**Autres Matériels**
Agitateurs magnétiques	LBX instruments	Mortier en porcelaine
Balance (±0.0001)	OHAUS CORP	Tamis
Evaporateur rotatif	STUART	Spatule (inox)
Centrifugeuse		Barreau aimanté
Spectromètre UV-visible	SHIMADZU	Tige barreau
Vortex	P.SELECTA	Poire
		Boites pétries
		Papier filtre N°1

Tableau IV.2 Produits chimiques utiliser

Réactives	**Formule chimique**	**Marque**
Méthanol	CH_3OH (aq)	VWR
Alginate de sodium (Na)	$(C_6H_7NaO_6)_n$ (s)	
CMC	$[C_6H_7O_2(OH)_2$ $(OCH_2COONa)]n$ (s)	
Chlorure de calcium	$CaCl_2$ (s)	VWR
Nitrate de sodium	$NaNO_3$ (s)	BIOCHEM
Chlorure d'aluminium	$AlCl_3$ (s)	BIOCHEM
Hydroxyde de sodium	NaOH (s)	BIOCHEM
Vanilline	$C_8H_8O_3$ (s)	BIOCHEM
Acide chlorhydrique	HCl (aq)	VWR
Folin-Ciocalteu	$(H_3PW_{12}O_{40})(H_3PMo_{12}O_{40})$ (aq)	
Carbonate de sodium	Na_2CO_3 (s)	HONEYWELL
Eau distiller	H_2O (l)	-

IV.2 Source végétale

IV.2.1 Poudre de grenade

La matière première qui utiliser dans ce travaille c'est les écorces de grenade (sec), en obtient ces derniers à partir les fruits de grenade **Figure IV.1**



Figure IV.1 écorcer de grenade avant et après le séchage

Les écorces de grenade ont été séchées à l'air libre dans l'obscurité, puis elle est broyée pour obtenir une poudre fine homogène **Figure IV.2**. Cette poudre est conservée dans une boite en verre à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.



Figure IV.2 Les étapes de préparation de la poudre du grenade

IV.2.2 Préparation d'extrait

La macération est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un corps solide par dissolution dans une solution (eau, huile, alcool, …). La macération peut aussi être employée pour que le corps solide absorbe le liquide et en soit parfumé. **Pierre et Lis, 2007**

La réalisation d'extraction fait selon le protocole suivant **Figure IV.3** :

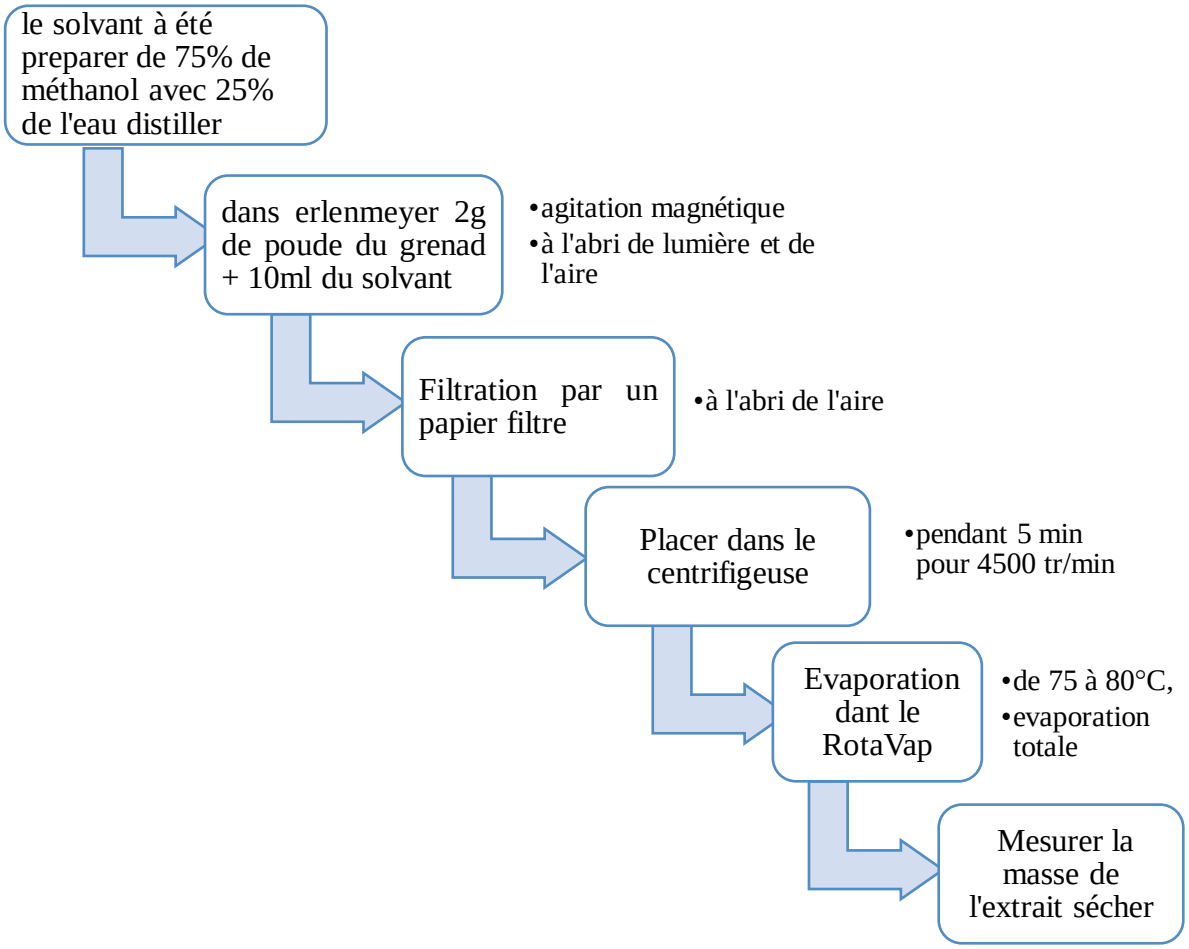


Figure IV.3 Protocole d'extraction **Pierre et Lis, 2007**



Figure IV.4 (a ; b) L'agitation dans l'agitateur magnétique ; Séparation des impuretés par la centrifugation

En a fait le calcul du rendement par l'Equation (I) suivant :

$$R\% = (m_{\text{extrait sec}} / m_{\text{poudre du source végétale}}) * 100 \quad (I)$$

IV.3 Pré formulation

Avant la réalisation du procédée d'encapsulation, on a fait des dosages sur les extraits pour quantifier le rendement global, Polyphénols totaux, Flavonoïdes totaux et les Tanins totaux.

IV.3.1 Quantification de rendement globale par UV

On mesure l'absorbance par UV-Visible de l'extrait, et on trouve que sa concentration très élevée, donc nous sommes dirigés vers la dilution.

Après plusieurs dilutions de l'extrait on observe que le spectre contient de 2 λmax la première correspondant à 365 nm et la deuxième correspondant à 307 nm, tel que la valeur d'absorbance à 307 nm supérieure à la valeur d'absorbance à 365 nm.

Pour réalise la courbe d'étalonnage qui correspondant de λ =307 nm, on a fait une étude d'absorbance pour différentes dilutions.

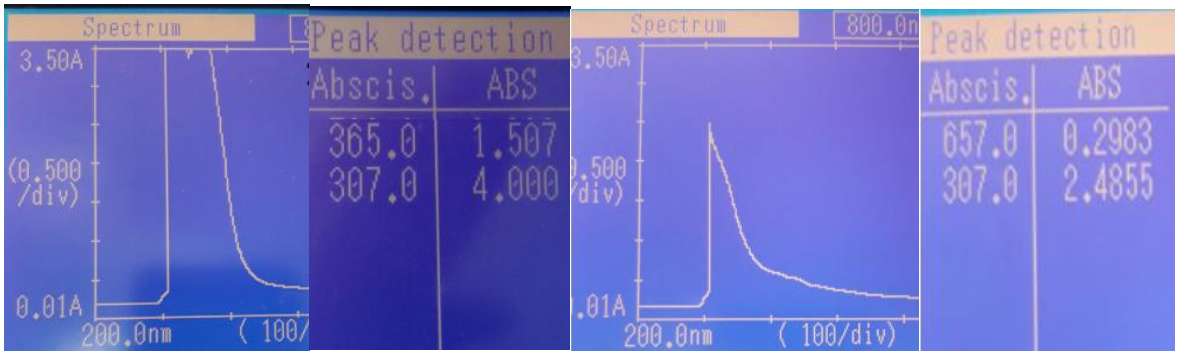


Figure IV.5 (a ; b) Spectre UV de l'extrait avant ; et après la dilution

IV.3.2 Quantification des extraits par le Dosage

Pour Quantification des composés phénoliques des extraits on a faits des dosages avant le processus d'encapsulation

IV.3.2.1 Dosage des Polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. **Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela R.M. -Raventos., 1999.** Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Singleton et Ross, 1965** en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 µl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 µl

d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à **765 nm.**

On réalise la courbe étalonnage de différentes concentrations d'acide gallique pour déterminer la teneur de polyphénols en équivalente d'acide gallique

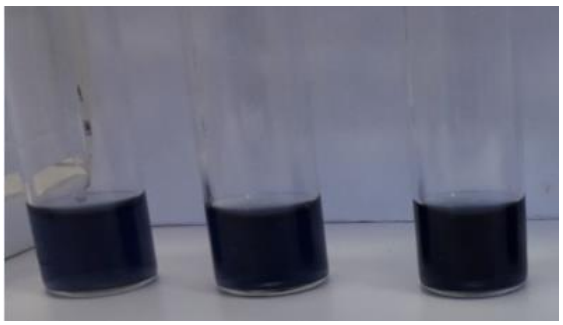


Figure IV.6 Variation de la couleur après réaction de complexation (PPT)

IV.3.2.2 Dosage des Flavonoïdes totaux :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. **Lagnika L.,2005**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Zhishen et *al*., 1999** et **Kim et *al*., 2003**, avec quelques modifications.

Dans un tube à hémolyse en verre, 400 µl d'extrait, ou d'étalon, ou de l'eau distillée pour le témoin, ont été ajoutés à 120 µl de $NaNO_2$ à 5 %. Après 5 minutes, 120 µl d'$AlCl_3$ à 10 % ont été additionnés, et le milieu est mélangé vigoureusement. Après 6 minutes, un volume de 800 µl de NaOH à 1 M a été ajouté au milieu. L'absorbance est lue immédiatement à **510 nm** contre le témoin. On réalise la courbe d'étalonnage de différentes concentrations de quercitrine pour déterminer la teneur de flavonoïde en équivalente de quercitrine.

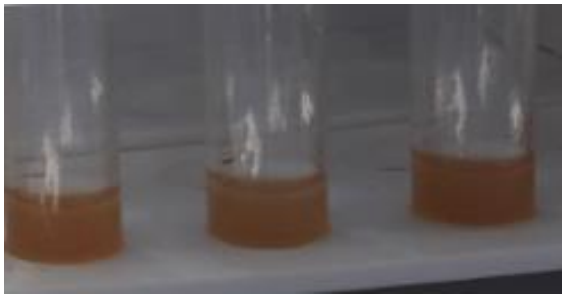


Figure IV.7 Variation de la couleur après réaction de complexation (Flavonoïdes)

IV.3.2.3 Dosage des tanins totaux :

Nous avons adopté la méthode à la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des TCs et la formation de complexes rouges **Makkar H.P.S..,2000** et **Schofield P.**.,**2001**, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline **Sun.B, , Richardo-da-Silvia.JM., , Spranger.I.,1998**. La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par **Julkunen-Titto, 1985**.

Un volume de 50 µl de chaque extrait a été ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthano à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à **550 nm** contre un blanc. On réalise la courbe étalonnage de différentes concentrations de catéchine pour déterminer la teneur de tannins en équivalente de catéchine.

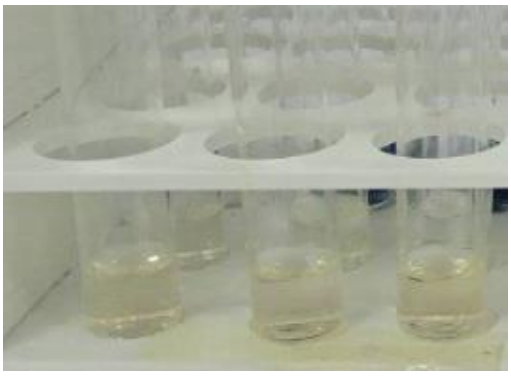


Figure IV.8 Variation de la couleur après réaction de complexation (Tanins)

Ont calculé la quantification de rendement globale à base de dosage UV, polyphénols totaux, Flavonoïdes totaux et Totaux par l'Equation (II) :

Equation (II)

$$[PPT]=c.\ k.\ v\ /m$$

[PPT]: contenu total des polyphénols (mg E, AG /g Ms).

c : concentration d'acide gallique (mg/mL).

v : volume de l'extrait (mL).

K : facteur de dilution

m : masse de l'extrait pure de plante (g).

IV.4 L'encapsulation

IV.4.1 Réalisation de l'encapsulation

Avant de commencer la préparation proprement dite, il est nécessaire de déterminer les paramètre optimales, l'optimisation est réalisée par un plan à surface de réponse à trois facteurs (X_1, X_2, X_3), et à trois niveaux (-1, 0, +1), qui est appliqué pour étudié l'influence de ces paramètres sur la formulation des capsules. Les niveaux bas, moyen et haut de chaque variable sont représentés dans le **Tableau IV.3** suivant :

Tableau IV.3 Proportions choisies pour la formulation des capsules

Facteurs	**Symbol**	**Niveaux**			**Unité**
		-1	0	+1	
Concentration initiale en 'polyphénols'	REND	20	30	40	%
Proportion CMC/ALG	CMC/ALG	1/0	1/1	1/2	%
Concentration $CaCl_2$	MILIEU	2	3	4	%

- **Préparation les solution ALG-Na et CMC**

en a preparé les solutio selon le protocole suivant **Figure IV.9** :

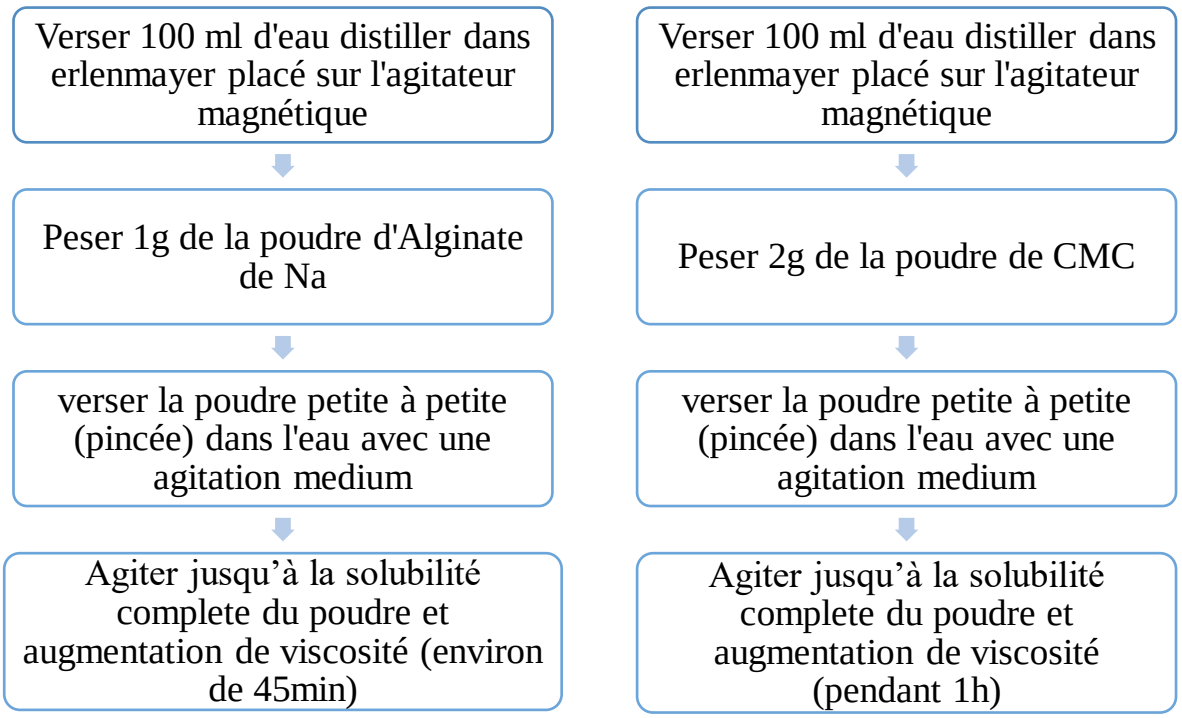


Figure IV.9 Procéder de préparation des solutions d'ALG-Na (de 1%) et CMC (de 2%)

- **Procéder d'encapsulation**

La réalisation du protocole de procéder d'encapsulation selon les étapes qui montre sur la Figure suivante :

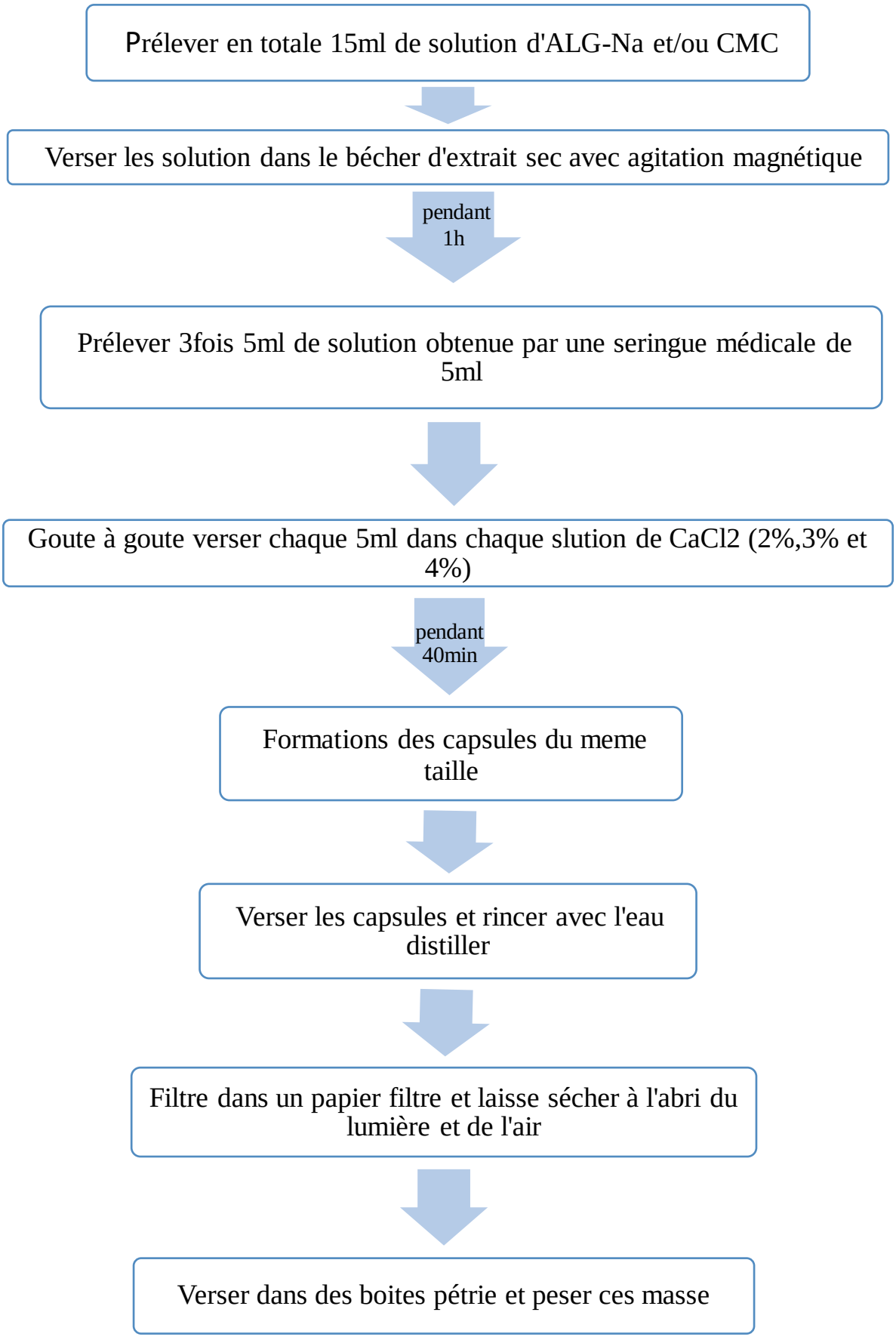


Figure IV.10 Procédure de l'encapsulation



Figure IV.11 (a ; b) Agitation magnétique de mélange d'ALG-Na et/ou CMC avec l'extrait ; Prélèvement 5ml de solution obtenu par une seringue médicale de 5ml



Figure IV.12 (a ; b) Avec la seringue versée goute à goute chaque 5ml dans chaque les 3 solutions de CaCl2 pendant 40min ; rincer les capsules avec l'eau distiller et après filtrer dans un papier filtre à l'abri de la lumière et de l'aire

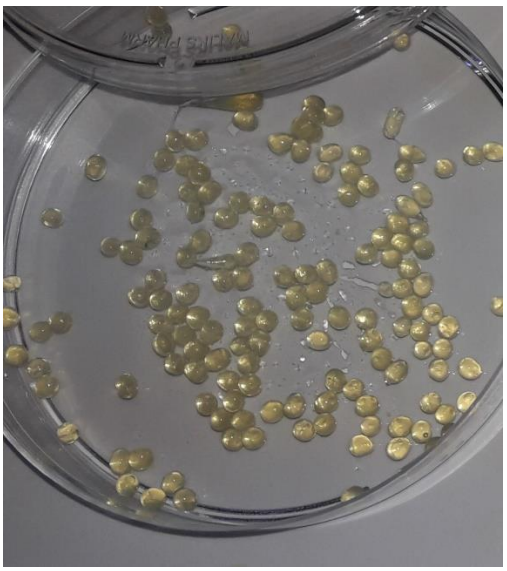


Figure IV.13 Après le séchage conserver les capsules dans les boites pétries stériliser à l'abri de la lumière et à température de 4°C

IV.5 Analyse statistique

L'estimation d'un modèle mathématique est souvent gérée à l'aide d'un outil informatique (**XL stat)**, le choix du plan d'expériences à mettre en œuvre dépend du problème posé est les plans

d'optimisation ou plan à surface de réponse qui permettent à partir du modèle mathématique polynomial, de déterminer les valeurs des facteurs influents correspondant à une réponse particulière du système.

Dans cette partie, nous allons faire 27 essais pour la formulation et on va mesurer le taux d'encapsulation, la masse des capsules, le rendement des Polyphénols et le rendement des flavonoïdes, de chaque observation.

Tableau IV.4 Proportion et matrice choisies pour la réalisation de l'encapsulation

N° essais	Valeurs codées			Valeurs réelles			MASSE CAPSULE	Taux en teneur PPT	Taux en teneur Flav	% CAPSULUV
	X_1 REND	X_2 CMC/ALG	X_3 MILLIEU	X_1	X_2	X_3				
1	-1	-1	-1	20	0	2				
2	-1	0	-1	20	1	2				
3	-1	+1	-1	20	2	2				
4	0	-1	-1	30	0	2				
5	0	0	-1	30	1	2				
6	0	+1	-1	30	2	2				
7	+1	-1	-1	40	0	2				
8	+1	0	-1	40	1	2				
9	+1	+1	-1	40	2	2				
10	-1	-1	0	20	0	3				
11	-1	0	0	20	1	3				
12	-1	+1	0	20	2	3				
13	0	-1	0	30	0	3				
14	0	0	0	30	1	3				
15	0	+1	0	30	2	3				
16	+1	-1	0	40	0	3				
17	+1	0	0	40	1	3				
18	+1	+1	0	40	2	3				
19	-1	-1	+1	20	0	4				
20	-1	0	+1	20	1	4				
21	-1	+1	+1	20	2	4				
22	0	-1	+1	30	0	4				
23	0	0	+1	30	1	4				
24	0	+1	+1	30	2	4				
25	+1	-1	+1	40	0	4				
26	+1	0	+1	40	1	4				
27	+1	+1	+1	40	2	4				

IV.5.1 Quantification des Rendement globale, Polyphénols totaux, Flavonoïdes et les Tanins pour résidus

Pour mesurer le taux d'encapsulation et le taux à base des composés phénolique, en a fait les dosages deUV, Polyphénols totaux, Flavonoïdes totaux et Tanins totaux après l'encapsulation, c'est pour les résidus.

En a fait les mêmes étapes du protocole précédant de dosage avant l'encapsulation

IV.5.1.1 Taux d'encapsulation à base dosage par UV

A partir les résultats obtenus de la courbe d'étalonnage on a calculée le taux d'encapsulation **Te%** par l'Equation (III) suivant :

$$\mathbf{Te\%} = [(\mathbf{m}_{\text{extrait i}} - \mathbf{m}_{\text{résidu}}) / \mathbf{m}_{\text{extrait i}}] * 100 \quad \textbf{(III)}$$

IV.5.1.2 Taux d'encapsulation à base teneure des Polyphénols totaux

A partir les résultats obtenus de la courbe d'étalonnage on a calculée le taux d'encapsulation **Te%** par l'Equation (IV) suivant :

$$\mathbf{Te\%} = [(\mathbf{t\ PPT}_{\text{extrait i}} - \mathbf{t\ PPT}_{\text{résidu}}) / \mathbf{t\ PPT}_{\text{extrait i}}] * 100 \quad \textbf{(IV)}$$

IV.5.1.3 Taux d'encapsulation à base teneure des Flavonoïdes totaux (t Flav)

A partir les résultats obtenus de la courbe d'étalonnage on a calculée le taux d'encapsulation **Te%** par l'Equation (V) suivant :

$$\mathbf{Te\%} = [(\mathbf{t\ Flav}_{\text{extrait i}} - \mathbf{t\ Flav}_{\text{résidu}}) / \mathbf{t\ Flav}_{\text{extrait i}}] * 100 \quad \textbf{(V)}$$

IV.5.1.4 Taux d'encapsulation à base teneure des Tanins totaux (t Tan)

A partir les résultats obtenus de la courbe d'étalonnage on a calculée le taux d'encapsulation **Te%** par l'Equation (VI) suivant :

$$\mathbf{Te\%} = [(\mathbf{t\ Tan}_{\text{extrait i}} - \mathbf{t\ Tan}_{\text{résidu}}) / \mathbf{t\ Tan}_{\text{extrait i}}] * 100 \quad \textbf{(VI)}$$

Référence bibliographique

J

Julkunen-Titto,R, "Phenolic constituents in the leaves of northem wiliows methods forthe analysis of certain phenolics" Journal of Agricultural and Food chemistry,1985, Vol.

K

Kim D., Chun O., Kim Y., Moon H., C.Lee, "Quantification of phenolics and theirantioxidant capacity in fresh plums" J. Agric. Food Chem.,2003, Vol. (51), page : 6509.

L

Lagnika L., "Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg,**2005**, page :249.

M

Makkar H.P.S., "In Quantification of tannins in tree foliage" Working document, FAO/IAEA, Vienna, 2000.

P

Pierre M., Lis .M (2007) Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris 1: 463

S

Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M., "Analysis of total phenols and otheroxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent" Methods Enzymol.,**1999**, Vol. (299), page : 152.

Singleton V.L., Rossi J.R., "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid" Am. J. Enol. Vitic,**1965**, Vol. (16), page : 144.

Schofield P., Mbugua D.M., A.N.Pell, "Analysis of condensed tannins" a review. Anim. Feed Sci. Technol. 2001, Vol. (91), page : 21.

Sun.B, , Richardo-da-Silvia.JM., , Spranger.I., "Critical factors of vanillin assay forcatechins and proanthocyanidins" J. of Agriculture and Food Chemistry,1998, Vol. (46),page : 4267.

Z

Conclusion Générale

Les composés phénoliques sont des composées précieux possédant des propriétés physicochimiques, biologiques et thérapeutiques. Et ces capacités rendent ces substances intéressantes pour différents domaines : alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. Mais malheureusement ces propriétés de ces substances bioactives peuvent s'altérer pendant leur stockage avant utilisation. Pour contourner ces inconvénients plusieurs procédés ont été développés, et parmi eux, l'encapsulation est un procédé potentiellement bénéfique pour leurs protections et leurs bonnes conservations. Elle consiste à piéger une substance bioactive, ainsi produisant des particules avec des diamètres de quelques nm à quelques mm pour éviter les réactions.

L'objectif de ce travail est réalisation l'encapsulation des composés phénoliques des écorces de grenade et déterminer les conditions optimales d'obtenir une bonne taux d'encapsulation par dosage d'extrait, polyphénols, flavonoïdes et tanins par méthode de plan d'expérience.

D'après les résultats obtenus par Le dosage UV et les courbes d'étalonnages obtenues avec corrélation supérieure à 99 %, ont conclue que la méthode UV est adéquate pour calculer le taux d'encapsulation des composés phénoliques de l'extrait d'écorces de Grenade par la quantification d'extrait, polyphénols, flavonoïdes et tanins

Le taux d'encapsulation à base les teneurs des polyphénols, les Flavonoïdes sont 97.169%, 88.463% et par dosage d'extraits est 97.226% et pour le dosage de tannins, la méthode de dosage par UV n'est pas adéquate pour calculer le taux d'encapsulation des composés phénoliques.

L'analyse ANOVA et la comparaison entre les niveau 2 et 3, nous a permis de déterminer l'interaction entre les facteurs étudier et le modèle mathématique pour prédire le taux d'encapsulation, ou on trouve les meilleurs résultats avec une corrélation de 99% pour les flavonoïdes, 100% pour le dosage d'extrait et 38% pour les polyphénols totaux.

Notre résultat nous donne des perspectives d'étudier l'encapsulation par d'autres polymères, étudier effets des autres paramètres et améliorer la corrélation entre les facteurs avec le taux d'encapsulation à base de dosage du polyphénol par autre modèles mathématique.