République algérienne démocratique populaire
Ministre de l'enseignement supérieur et de recherche Scientifique
Université de Yahia Fares de Médéa
Faculté de technologie
Département de génie des procèdes et l'environnement
***Option* : Procèdes pharmaceutique et analytique**

Mémoire de fin d'études proposé pour l'obtention
Du diplôme d'un master en génie des procèdes pharmaceutiques

Thème

MISE AU POINT ET CARACTÉRISATION D'UNE FORME À LIBÉRATION MODIFIÉE À BASE DE BIOPOLYMÈRES

Proposé et dirigè par :

Promotrice : Dr.LEFNAOUI KERRACHE Sonia

Co promotrice: Dr. YAHOUM Madiha Melha

Préparé par :

M^{elle}.KADI NOUSSAIBA

M^{elle}.MENADI Ines

2016/2017

ملخص

الهدف من هذا العمل هو الكبسلة وفقا لعملية التهلم للمادة الفعالة (بيروكسيكام) في مصفوفة بيوبوليمرية قابلة للتحلل من الجينات الصوديوم (ALG), كربوكسيل مثيل كزنتان (CMX) ومزيج (ALG/CMX). سمحت عملية التهلم بالحصول على كبسولات ذات حجم متوسط 100.33µm .وقد وصلت كفاءة الكبسلة 91.51٪ في تركيز البيوبوليمر 2٪ .دراسة سرعة انتفاخ الكبسولات في الوسط المعدي (pH1.2) والمعوي (pH 7.4) أظهرت معدل انتفاخ يصل إلى 412٪ في الوسط المعدي و 650٪ في الوسط المعوي .وأظهرت دراسة الانحلال للمادة الفعالة من خلال الكبسولات انحلالا كاملا وخصوصا تلك التي أعدت انطلاقا من (75% ALG, 25% CMX) في الوسط المعوي بعد 6 ساعات و 30 دقيقة حدا أقصى قيمتة100٪ .ولكنه لوحظ انحلال محدود وضئيل في الوسط المعدي (35,85٪) .وتبين النتائج التجريبية المتحصل عليها انحلال وفقا للإفراز المتواصل والتحرير الممدد للمادة الفعالة.

الكلمات المفتاحية : الجينات الصوديوم، صمغ كزنتان معدل ، بيروكسيكام، تغليف، التبلور، تمديد الإفراج.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'encapsulation selon le procédé de gélification d'un principe actif (Piroxicam) dans une matrice polymérique biodégradable d'Alginate de sodium (ALG), de Carboxyméthylxanthane (CMX) et le mélange (ALG/CMX).Le procédé de gélification a permis l'obtention de microcapsules de tailles moyenne de 100.33µm. Le taux d'encapsulation a atteint 91.51% % à une concentration de 2% en ALG. L'étude de la cinétique de gonflement des capsules dans les milieux gastrique (pH1.2) et intestinal (pH7.4) a donnée des taux de gonflement atteignant 412% dans le milieu gastrique et 650% dans le milieu intestinal. L'étude biopharmaceutique a montré une libération complète du Piroxicam à partir des capsules, spécialement ceux préparés à partir de (75% ALG, 25% CMX) en milieu intestinal atteignant 100% après 6 heures 30min. Cependant, une libération limitée et insignifiante a été observée dans le milieu gastrique avec un maximum observé de 35,85% dans le cas des capsules à base d'ALG. Les profils de dissolution montrent une cinétique de libération prolongée.

Mots clés : Alginate de sodium, Gomme xanthane modifiée, Piroxicam, Encapsulation, Gélification, Libération prolongée.

Abstract

The aim of this work is thee drug encapsulation (Piroxicam) with gelation process using a biodegradable polymer matrix of sodium alginate (ALG), carboxymethylxanthane (CMX) and the mixture (ALG / CMX). The gelling process made it possible to obtain microcapsules with an average size of 100.33 µm. The encapsulation rate reached 91.51%% at a concentration of 2% ALG. The study of the swelling kinetics of the capsules in the gastric (pH1.2) and intestinal (pH7.4) environment gave swelling rates reaching 412% in the gastric medium and 650% in the intestinal environment. The biopharmaceutical study showed a complete release of Piroxicam from the capsules, especially these prepared from (75% ALG, 25% CMX) in intestinal medium reaching 100% after 6 hours and 30 min. However, limited and insignificant release was observed in the gastric medium with an observed maximum of 35.85% in the case of ALG-based capsules. The dissolution profiles show prolonged release kinetics.

Key words: Sodium alginate, Modified xanthan gum, Piroxicam, Encapsulation, Gelification, Prolonged release.

Nomenclature

c	Concentration de la substance analysée (en mol/l).
D	Absorbance
I	Intensité transmise
I_0	Intensité de la lumière incidente
l	Epaisseur traversée (en cm).
mg	Masse des capsules à l'état gonflé
mi	Masse des capsules à l'état initial
T	Transmittance
λ	Longueur d'onde
ε	Coefficient d'extinction

Liste des tableaux

Chapitre I : Généralité sur les biopolymères

Tableau I. 1. Origine des polysaccharides **07**

Tableau I. 2. Classification des gommes selon leur origine et leur composition en monomères **09**

Tableau I. 3. Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) Entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications **20**

Chapitre III : Etude expérimentale

Tableau III.1. Matériels utilisés **45**

Tableau III.2. Caractéristiques des réactifs utilisés **46**

Tableau III.3. Caractéristiques du PIROXICAM **47**

Tableau III.4. Les dilutions de la solution 1 à pH 1,2 **50**

Tableau III.5. Les dilutions de la solution 1 à pH 7.4 **50**

Tableau III.6. Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage du piroxicam **51**

Tableau III.7. Résultats des mesuresde la viscosité des solutions d'ALG **53**

Tableau III.8. Résultats des mesuresdu pH des solutions d'ALG **55**

Tableau III.9. Caractéristiques de la gomme xanthane **58**

Tableau III.10. Résultats des mesuresde la viscosité des solutionsde GXM **59**

Tableau III.11. Résultats des mesuresdu pH des solutions de GXM **60**

Tableau III.12. Taille des capsules obtenues à différentes concentrations en ALGet CMX **64**

Tableau III.13. Résultats des taux d'encapsulation. **69**

Liste des figures

Chapitre I : Généralité sur les biopolymères

Figure I. 1. Libération contrôlée des principes actifs **05**

Figure I.2. Formules chimiques de divers polysaccharides **06**

Figure I.3. Structure chimique de l'unité monomérique de la gomme xanthane **09**

FigureI.4. De gauche à droite : Macrocystis pyrifera (a),Laminariahyperborea(et Laminariadigitaria (c) **13**

Figure I.5. Monomères de la chaîne alginate. **13**

Figure I.6. Structure chimique de la chaine d'alginate de sodium **14**

Figure I.7. Interactions entre les unités M **14**

Figure I.8. Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G despolymères D'alginate **16**

Figure I.9. Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments Poly-M ou poly-G définissant une structure de type "Egg-box". **16**

Figure I.10. Effet de l'ajout de calcium dans une solution d'alginate : en haut à Gauche les polymères poly M et poly G ne sont pas reliés. Avec L'ajout d'une concentration faible en calcium. **19**

Figure I.11. Mélange de biopolymères. **21**

Figure I.12. Classification du comportement d'un mélange ternaire de polymères(Solvant polymère A + polymère B). **21**

Chapitre II : La microencapsulation

Figure II.1. Image MEB de microcapsules de PMMA contenant du parfum **24**

Figure II.2. Structure d'un liposome**.** **26**

Figure II.3. Représentation schématique d'une microcapsule. **27**

Figure II.4. Représentation schématique d'une microsphère **27**

FigureII.5. Les différents procédés d'encapsulation. **31**

Figure II.6. Schéma du procédé de micro-encapsulation par coacervation complexe **32**

Figure II.11. Principe de la coacervation simple
33

Figure II.8. Schéma du principe de micro encapsulation par évaporation de solvant **34**

Figure II.9. Schéma de principe du procédé d'encapsulation **35**

Figure II.10. Procédé d'encapsulation par polycondensation interfaciale **36**

Figure II.11. Gélification de gouttes **38**

Figure II.12. Congélation de gouttes : schéma de principe **39**

Figure II.13. Libération par diffusion **40**

Figure II.14. Mécanisme de libération par diffusion (orale et transdermale) **40**

Figure II.15. Libération par gonflement **41**

Figure II.16. Libération par gonflement suivi d'une diffusion **42**

Figure II.17. La libération par dégradation **42**

Figure II.12. Profils de libération obtenus à partir de différents Types de microparticules **43**

Chapitre III :**Etude expérimentale**

Figure III.1. Formules développée du Piroxicam **47**

Figure III.2. Spectre UV-Visible de Piroxicam dans une solution tampon de **49**

Figure III.3. Courbe d'étalonnage du Piroxicam à pH =1.2 (335nm) **51**

Figure III.4. **C**ourbe d'étalonnage du Piroxicam à pH =7.4 (353nm). **51**

Figure III.5. Structure chimique de l'Alginate de sodium(ALG) **52**

Figure III.6. Viscosimètrerotatif (Brookfield). **53**

Figure III.7. La courbe de viscosité en fonction de concentration **54**

Figure III.8. PH-mètre (Sartorius) **55**

Figure III.9. Spectre FTIR de l'Alginate de sodium (ALG) **56**

Figure III.10. Structure chimique de la gomme xanthane **57**

Figure III.11. Variation de la viscosité en fonction de la concentration de GXM **60**

FigureIII.12. Spectres FTIR du xanthane natif(GX) et du carboxymethylxanthane (CMX) **61**

Figure III.13. Schéma du dispositif pour la préparation des capsules. **62**

Figure III.14. Les photos des capsules **63**

Figure III.15. Mesure de la taille des capsules par un micromètre digital **64**

Figure III.16. Taille des capsules (avant et après séchage) **65**

Figure III.17. Cinétique de gonflement des capsules (pH1.2). **66**

Figure III.18. Cinétique de gonflement des capsules (pH7.4). **67**

Figure III.19. Taux de gonflement finaux des capsules. **68**

Figure III.20. Taux d'encapsulation du principe actif (PX). **70**

Figure III.21. Test de dissolution SOTAX. **72**

Figure III.22. Cinétiquede dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH1.2. **73**

Figure III.23. Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH7.4 **74**

Sommaire

Abréviation

Nomenclature

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Chapitre I : LES BIOPOLYMERES

I.1. INTRODUCTION 03

I.2. GENERALITES SUR LES BIOPOLYMERES 03

I.2.1. Définition 03

I.2.2. Propriétés des biopolymères 03

I.2.2.1.Biodégradabilité 03

a- La fragmentation

b- La bio assimilation

c- La minéralisation 05

I.2.2.2. Biocompatibilité et biorésorbabilité 05

I.3.DIFFERENTES FAMILLES DE BIOPOLYMERES 06

Polysaccharides 06

Protéines 06

Elastomères hydrocarbonés 06

I.3.1.Polysaccharides 06

I.3.2. Origine 07

I.3.3. Classification 07

A. En chimie 07

Homopolysaccharides 07

Héteropolysaccharides 07

B. En biologie 08

Polysaccharides de réserve 08

Polysaccharides structuraux 08

I.4. BIOPOLYMERES ETUDIEES 08

I.4.1.Gomme xanthane 08

I.4.1.1.Généralités 08

I.4.1.2 Préparation des solutions de gomme de xanthane 10
I.4.1.3.Propriétés de la gomme xanthane 10
I.4.1.4. Rhéologie des solutions de gomme xanthane 11
I.4.1.5.Applications de la gomme xanthane 11
I.4.2.Alginate de sodium 12
I.4.2.1. Composition chimique de l'alginate 13
I.4.2.2. Propriétés physico-chimiques des alginates en solution 15
I.4.2.3.Techniques de gélification 17
a. Gélification par diffusion 17
b. Gélification interne 17
I.4. 2.4.Mécanismes de gélification 17
I.4.2.5. Hydrogel à base d'alginate 18
I.4.2.6. Applications de l'alginate de sodium 19
I.5. MELANGES DE BIOPOLYMERES 20
I.5.1.mélanges de polymères 20
I.5.2.Types de mélanges 21
Miscibilité 21
Incompatibilité ou séparation de phases ségrégative 22
Coacervation complexe ou séparation de phases associative 22
I.5.3. L'intérêt de mélange de polymères 22
I.6. CONCLUSION 23

Chapitre II : La Micro-encapsulation

II.1. INTRODUCTION 24
II.2.DEFINITION 24
II.3.HISTORIQUE 24
II.4. INTERETS DE LA MICRO-ENCAPSULATION 25
II.5. MICROPARTICULES 25
II.5.1. Définition 25
II.5.2. Différents types de microparticules 26
II.5.2.1. Liposomes 26
II.5.2.2. Microcapsules 26
II.5.2.3. Microsphères 27
II.5.3. Caractéristiques générales des microparticules 28
II.5.4. Modes d'action des microparticules 28
II.6. Techniques de micro encapsulation 29

II.7. Procédés de micro-encapsulation 30
II.7.1. Procèdes physico-chimiques 31
II.7.1.1. Coacervation 31
a. Coacervation Complexe 32
b. Coacervation simple 32
II.7.1.2.Emulsion et évaporation-extraction de solvant 33
II.7.1.3. Micro encapsulation par gélification de gouttes : Gélification thermique « HOT MELT » 34
II.7.2.Procédés chimiques 35
II.7.2.1. Polycondensation inter faciale 35
II.7.2.2. Polymérisation en milieu dispersé 36
a. La polymérisation en émulsion 36
b. La polymérisation en dispersion 37
II.7.3. Procédés mécaniques 37
II.7.3.1.Enrobage en lit d'air fluidisé : « spray-coating » 37
II.7.3.2.Nébulisation-séchage : « spray-drying » 38
II.7.3.3. Gélification des gouttes 38
II.7.3.4. Congélation des gouttes 39
II.8. Mécanisme de libération des principes actifs 39
II.8.1. La libération par diffusion 39
II.8.2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion 41
II.8.3. Libération par dégradation 42
II.8.4. Paramètres influençant la libération d'un PA 43
II.8.5.Profils de libération obtenus à partir de différents types demicroparticules 43
II.9. Domaines d'application des microparticules 44
II.10. Conclusion 44

Chapitre III : Etude expérimentale

III.1. Introduction 45
1. Préformulation 45
2. Formulation et caractérisation des capsules 45
III.2. Matériel et méthode 45
II.2.1.Matériel 45
III.2.2. Réactifs utilisés 46

III.3. Préformulation 46

III.3.1. Principe actif : Piroxicam 47

Analyse et dosage du principe actif par spectrophotométrie UV-VIS 48

a- Principe de la spectroscopie UV- 48

b- Choix de la longueur d'onde 48

c- Interprétation des spectres UV-Visible du Piroxicam 49

d- Détermination de la courbe d'étalonnage 49

Préparation des solutions mères 49

Préparation des solutions diluées : 49

e-Préparation des solutions tampons 50

Préparation de la solution tampon pH=1,2 à base de KCl 0.2M et HCl0.2M. 50

Préparation de solution tampon pH 7.4 50

III.3.2.Les Biopolymères 52

III.3.2.1. Alginate de Sodium (ALG) 52

a-Formule chimique 52

Données sécurité-toxicité 52

b. Viscosité 53

c. Détermination du pH 54

d. Identification par FTIR 56

III.3.2.2. La gomme xanthane 56

a. Modification de la gomme xanthane (Obtention du Carboxymethylxanthane , CMX) 59

b. Etude de la viscosité 59

c. Détermination du pH 60

d. Identification par FTIR 61

III.4.Formulation des capsules 61

III.4.1.Principe de la formulation des capsules à base d'ALG et de CMX 61

III.4.2.Caractérisation des capsules 63

III.4.2.1. Morphologie des capsules humides et sèches 63

III.4.2.2. Analyse granulométrique des capsules 64

III.4.2.3. Etude du gonflement des capsules 65

a. Mode opératoire 66

b. Résultats et discussion 67

III.4.2.4. Détermination des taux d'encapsulations 69

a. Mode opératoire 69
b. Résultats et discussion 69
III.4.2.5. Etude de la libération du principe actif à partir des capsules 70
a. Mode opératoire 71
b. Résultats et discussion 72
Libération du PX dans le milieu pH1.2 73
Libération du PX dans le milieu pH7.4 73
III.5. Conclusion 74
Conclusion générales 76

Introduction générale

Au cours de ces dernières années, l'utilisation des polymères naturels et de leurs dérivés s'accroit dans de très nombreux domaines dans un souci de développement des ressources renouvelables et des procédés de chimie verte. Ils sont regroupés en trois grandes classes : les protéines, les élastomères hydrocarbonés et les polysaccharides.

Les polysaccharides sont des polymères constitués d'un enchainement de molécules dont les unités structurales de base sont des monomères de sucres. Ils sont généralement d'origine naturelle, végétale ou animale, les polysaccharides d'origine végétale étant les plus valorisés **[1]**. Ils peuvent être chargés ou neutres. L'existence de charges leur confère des propriétés physico-chimiques remarquables qui donnent lieu à de nombreuses applications dans les domaines de l'agro-alimentaire, de la médecine, des cosmétiques et de la pharmacie comme agents texturants, stabilisants ou encore comme agents d'encapsulation.

L'encapsulation est un procédé de fabrication de particules fermées dans lesquelles le contenu a été enveloppé à l'intérieur d'un film. Elle permet non seulement d'éviter la pollution secondaire du contenu encapsulé, mais permet aussi une fonction d'isolation de matériaux fonctionnels sensibles à la lumière ou à l'oxygène d'un environnement extérieur, ce qui maintient le contenu encapsulé stable sur une durée de vie plus longue. L'encapsulation permet également le contrôle de la libération de la substance encapsulée par un transfert de masse entre l'intérieur et l'extérieur d'une capsule via deux types de processus possibles : soit la diffusion à travers la membrane, soit l'éclatement de la membrane.

Dans ces dernières années, la formulation des systèmes de libération contrôlée et les polymères utilisés pour ces systèmes sont devenu beaucoup plus sophistiqués. Beaucoup de ces systèmes sont fondés sur des polymères dont la structure n'évolue pas dans le corps humain. Les polysaccharides tels que les substances pectiques, présentes dans la plupart des plantes, pourraient être valorisés dans le domaine de la microencapsulation grâce à leur haute biodégradabilité et leur innocuité.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude dont l'objectif principale est la formulation d'un système d'encapsulation d'un principe actif anti-inflammatoire àbase de deux biopolymères différents : l'Alginate qui est de nature végétale et la gomme xanthane modifiée. Pour atteindre de telles finalités, la technique d'encapsulation par gélification a été utilisée.

Pour ce faire, ce mémoire est structuré en deux volets :

Le premier est consacré à une étude bibliographique, organisée en deux chapitres

- ❖ Le premier chapitre présente des généralités sur les biopolyméres : définitions, comment sont-ils classés, leurs propriétés et quelques détails sur les biopolymères utilisés dans ce travail (Alginate et Gomme xanthane modifie).
- ❖ Le deuxième chapitre traite de toutes les techniques d'encapsulation, en particulier la technique d'encapsulation par gélification utilisée dans ce présent travail. Ce chapitre aborde également les différents modes et cinétique de libération du PA à travers des capsules.

Le deuxième volet, consiste en une étude expérimentale, organisée en un seul chapitre qui représente notre travail pratique relatif à la caractérisation physico-chimique des matières premières utilisées, l'élaboration et la caractérisation des microcapsules de piroxicam à base d'Alginate de sodium , de Gomme xanthane modifie et du mélange de ces deux polysaccharides (ALG/ CXM).Cette même partie comporte également les résultats d'évaluation des microcapsules obtenus sur l'aspect, les dimensions, le taux d'encapsulation, le gonflement et la libération du piroxicam in vitro dans deux milieux de dissolution de différents pH.

Enfin cette étude se termine par une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus.

I.1. INTRODUCTION

Un polymère est une macromolécule qui se compose d'une ou plusieurs unités répétitives appelées monomères qui sont reliées entre elles par des liaisons covalentes. Les monomères sont composés d'un petit nombre d'atomes légers, parmi lesquels, on trouve toujours le carbone et l'hydrogène, souvent l'oxygène et l'azote et parfois le chlorure et certains autres éléments. Il existe deux types de polymères : les naturels (biopolymères) et les synthétiques. Dans l'industrie pharmaceutique, le choix se porte le plus souvent sur les biopolymères et ce parce qu'ils présentent les avantages d'être économiques, disponibles, non-toxiques et parfois même biocompatibles et bio-résorbables **[2]**.

L'objectif du présent chapitre est de passer en revue les différentes familles de biopolymères, en particulier la famille des polysaccharides à laquelle appartiennent les polymères utilisés dans cette étude.

I.2. GENERALITES SUR LES BIOPOLYMERES

I.2.1. Définition

Les biopolymères sont des polymères produits par les systèmes biologiques, c'est-à-dire produits par des êtres vivants (végétaux, algaux, animaux, fongiques, etc.).Ils peuvent également être synthétisés chimiquement à partir des produits d'origine biologique **[3-4]**. Ce sont des macromolécules constituées de plusieurs unités identiques appelées monomères. Le nombre moyen de ces unités dans les macromolécules est le degré de polymérisation. Si ce degré est élevé on parle de hauts polymères, mais lorsqu'il est faible, le polymère est dit oligomère.

I.2.2. Propriétés des biopolymères

Par leurs structures chimiques, les biopolymères présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications bien spécifiques dans plusieurs industries (plastique, alimentaire…etc.) **[5]**.

I.2.2.1.Biodégradabilité

Le terme « dégradation » désigne de manière générale toutes les altérations chimique et/ou physique qu'un matériau est susceptible de subir. Cependant, il est important de différencier les altérations que subit ce matériau au cours de son utilisation, assimilée à un Phénomène de vieillissement non désiré, de celles qu'il subit lorsqu'il est traité en fin d'utilisation afin de le faire disparaître de manière définitive ou partielle (le compostage par exemple).

Selon le Comité Européen de Normalisation (CEN), les notions de « dégradation » et De « matériau dégradable » sont décrites comme suit **[6]** :

« La dégradation est un processus irréversible entraînant un changement significatif dans la structure du matériau ; ce changement est classiquement caractérisé par une perte des propriétés initiales (masse molaire, structure moléculaire, résistance à la traction) et/ou une fragmentation. La dégradation est affectée par les paramètres environnementaux et se déroule en une ou plusieurs étapes. ».

Le terme dégradation rassemble donc les phénomènes biotiques et abiotiques que le matériau subit lorsqu'il est placé dans un milieu particulier pour être traité en fin de vie, sans distinction d'origine.

« Un matériau est considéré comme dégradable dans certaines conditions s'il subit une dégradation quelconque déterminée dans un temps donné et selon une méthode de mesure standardisée adaptée ».

Ces définitions restent trop vagues quant à l'information sur le degré de dérivabilité Que le polymère doit atteindre pour être considéré comme dégradable. D'une manière plus spécifique, le CEN aborde également la notion de « biodégradation » **[6]**, et la définit comme étant :

« Un type de dégradation engendrée par une activité biologique, particulièrement des Attaques enzymatiques, entraînant un changement significatif dans la structure chimique du Matériau ». Donc, un matériau est dit biodégradable lorsque sa dégradation résulte d'une action des microorganismes et que les sous-produits sont de l'eau, du dioxyde de carbone et/ou du méthane et de la biomasse ».

La biodégradation se décompose en trois étapes successives et/ou concomitantes :

a) **La fragmentation :** qui regroupe l'ensemble des phénomènes physiques et/ou chimiques et/ou biologiques concomitants et/ou successifs aboutissant à une désagrégation d'un matériau en morceaux de plus en plus petits (micro-fragments).Cette étape est susceptible d'aboutir à une séparation partielle ou totale des constituants du matériau ainsi qu'à une perte plus ou moins grande des caractéristiques physico-chimiques initiales de ce dernier. D'après la norme NF EN13432 **[7]**, on parle de désintégration lorsqu'il y a fracture d'un matériau en petits fragments, 90% ayant une granulométrie inférieure à 2 mm.

b) **La bio assimilation :** définie comme le phénomène par lequel la (micro) faune et/ou la (micro) flore, constituants élémentaires de la biomasse, utilise(nt) un matériau comme nutriment. Les molécules ou les fragments de molécules sont incorporés par les voies métaboliques des micro-organismes.

c) **La minéralisation :** au court de laquelle les composés assimilés sont minéralisés. Ils sont transformés par les micro-organismes en eau et en dioxyde de carbone dans des conditions aérobies ou en eau et méthane dans des conditions anaérobies. On utilisera la notion de *« biodégradabilité »* pour définir la capacité intrinsèque d'un matériau à être dégradé par une attaque microbienne, pour simplifier progressivement sa structure et finalement se convertir en CO_2 et/ou CH_4, H_2O, chaleur, résidus minéraux éventuels, et intervenir dans une réorganisation de la biomasse **[7,8]**.

I.2.2.2. Biocompatibilité et biorésorbabilité

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. Les biopolymères par leur origine naturelle, remplissent logiquement cette fonction **[9]**.

En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques des matériaux bio résorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant. Les biopolymères sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libèrent des molécules assimilables et non toxiques. En pharmaceutique, les médicaments à libération contrôlée sont des exemples d'application où la biorésorbabilité des polymères joue un rôle important comme illustrée dans la figure (I.1) **[10]**

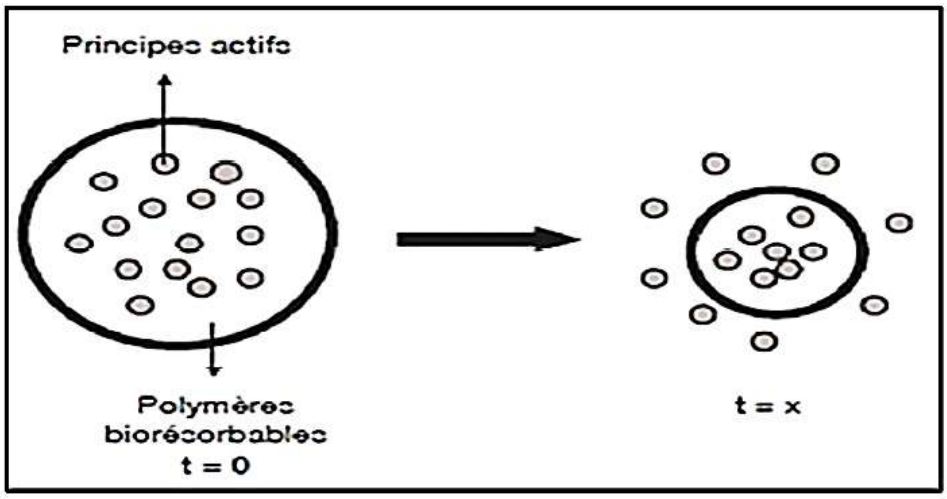


Figure I.1. Libération contrôlée des principes actifs **[10]**

I.3.DIFFERENTES FAMILLES DE BIOPOLYMERES

Les biopolymères d'origine biologique peuvent être classés en trois familles :

- **Polysaccharides :** parmi les polysaccharides, les plus connus sont la cellulose issue de la paroi des plantes, les carraghénanes extraits d'algues rouges et les alginates extraits d'algues brunes, mais aussi le chitosane extrait des carapaces de mollusques **(Figure I.2) [11]**.

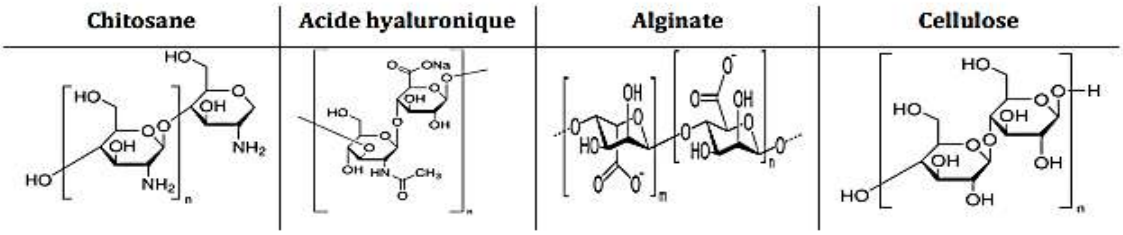


Figure I.2. Formules chimiques de divers polysaccharides **[12]**.

- **Protéines :** ce sont principalement les protéines issues de tissus animaux comme le Collagène, la gélatine, et la lignine ou des produits animaux comme les caséines et des Protéines issus des plantes oléagineuses (colza, tournesol et soja), ou des protéagineux (pois, Fèveroles), ou encore du son des céréales (gluten du blé).
- **Elastomères hydrocarbonés :** ils sont produits par les plantes comme le caoutchouc naturel.

I.3.1.Polysaccharides

Les polysaccharides**,** sont des polymères appelés aussi polyosides**,** polyholosides font partie de la famille des glucides ou en langage courant des sucres**.** Ce sont des sucres complexes**,** formés d'un grand nombre (jusqu'à à 500) de molécules simples, soit d'un seul type, soit de plusieurs types de sucres simples liées ensemble**.** Ils constituent une famille très importante de molécules souvent ramifiées et ayant tendance à ne pas prendre de forme particulière **:** on dit qu'ils sont amorphes**.**

Les polysaccharides sont les homologues macromoléculaires des oses simples naturels **;** ils peuvent être modifiés chimiquement pour donner des polymères artificiels **[13].**

Ces sucres peuvent être obtenus à partir de différent sources **:** microbienne**,** animale ou végétale**.** Ils ne sont pas toxiques**,** sont solubles dans l'eau, montrent des interactions favorables avec les cellules et présentent également un faible cout en comparaison avec d'autres polymères

naturels**.** Par conséquent**,** les polysaccharides ont été largement étudiés comme structures pour des applications en ingénierie tissulaire ainsi que pour la vectorisation de principes actifs **[12]**.

I.3.2. Origine

La plupart des polyosides sont d'origine végétale et relativement peu de polysaccharides d'origine microbienne sont produits commercialement. Pourtant, Linton et ses collaborateurs (1991) **[14]** insistent sur la diversité des polysaccharides produits par les bactéries, et déplorent leur sous-exploitation. En effet, 200 sucres ont été recensés dans leur composition, alors que seulement 25 ont pu être identifiés dans les polysaccharides d'origine végétale.

Il existe dans la nature de nombreuses variétés de polysaccharides répertoriées, auxquelles l'intérêt porté est proportionnel aux propriétés ou applications potentielles. Ces polysaccharides peuvent être d'origine végétale, c'est le cas de l'amidon, de la cellulose, des pectines ou des gommes. Ils peuvent également être issus des algues comme les alginates, les carraghénanes, l'agar ou les fucanes, ou encore être d'origine animale (héparine, chondroïtine), ou microbienne (dextranes, xanthanes). Le tableau (I.1) représente l'origine des polysaccarides **[15].**

Tableau I.1. Origine des polysaccharides **[15]**.

Origine des polysaccharides	**Polysaccharides**
Végétale	Amidon, Cellulose, Pectines, Gommes
Algale	Alginates**,** Agars**,** Caarraghénanes**,** Fucanes
Animale	Héparine, Chondritine
Microbienne	Dextranes, Xanthanes

I.3.3. Classification

A. En chimie

Ils sont classés en deux catégories **[16]**

- **Homopolysaccharides**: polymères d'un même ose
- **Héteropolysaccharides**: polymères de 2 ou plusieurs types d'oses.

B. En biologie

Ils sont encore classés en deux **[16]:**

- **Polysaccharides de réserve :** la molécule source d'énergie pour les êtres vivants est principalement le glucose, sous forme d'amidon chez les végétaux et de glycogène chez les animaux.
- **Polysaccharides structuraux :** ces carbohydrates participent à la formation des structures organiques, comme la cellulose qui participe à la structure des tissus de soutien chez les végétaux. Chez les animaux, c'est la chitine qui joue ce rôle. Certains polysaccharides entrent dans la composition de la capsule entourant certaines bactéries.

I.4. BIOPOLYMERES ETUDIEES

I.4.1.Gomme xanthane

I.4.1.1.Généralités

Selon Glicksman (1969) **[17]**, sont appelées « gommes hydrosolubles ou hydrocolloïdes», des macromolécules biologiques solubles ou faciles à disperser dans l'eau et qui donnent des solutions de très haute viscosité et dans certains cas, des gels à faible concentration. On les appelle aussi parfois des colloïdes hydrophiles ou des mucilages. Sur le plan chimique, les gommes alimentaires sont généralement de nature polysaccharidique **[18]**.

Les gommes sont utilisées pour épaissir les solutions, pour stabiliser les suspensions et les émulsions, pour fixer l'eau et retarder la cristallisation et pour former des gels. Toutes ces utilisations dépendent étroitement des interactions qui se créent entre les macromolécules elles-mêmes et entre celles-ci et l'eau.

Suivant leur origine, les gommes peuvent être classées en gommes d'origine végétale ,animale et microbienne ou synthétique (**Tableau I.2**). Les gommes d'origine microbienne sont obtenues par synthèse de ces macromolécules par dessouches sélectionnées de micro-organismes en conditions contrôlées dans les fermenteurs **[17].** La gomme xanthane est le produit qui nous intéresse dans notre étude expérimentale.

Tableau I.2: Classification des gommes selon leur origine et leur composition en monomères Constitutifs **[19] [20][21]**.

Origines	**Gommes**	**Monomères constitutifs de gommes**	**Fonctions**
Origine Végétale Exsudats de plantes	Gomme arabique ghatti Gomme karaya	Galactose-arabinose-rhamnose-acide glucuronique Arabinose- galactose-mannose-xylose-acide glucuronique Rhammnose-galactose-acide galacturonique	Epaississant, stabilisant
Extrait de graines	Gomme gaur Gomme caroube	Galactose-mannose Galactose-mannose	Epaississant, stabilisant, émulsifiant, Agent de suspension
Origine microbienne	Dextrane, Xanthane	Glucose, mannose, acide glucuronique	Gélifiant, épaississant

La gomme de xanthane est un polysaccharide de poids moléculaire élevé obtenu par fermentation en monoculture d'un hydrate de carbone avec des souches de *Xanthomonascompestris*, puis purifiée par récupération avec de l'éthanol ou du propanol-2 séché et broyée. Elle contient principalement des unités de D-glucose et de D-mannose, ainsi que l'acide D-glucuronique et de l'acide pyruvique (**Figure I.3**) **[22].**

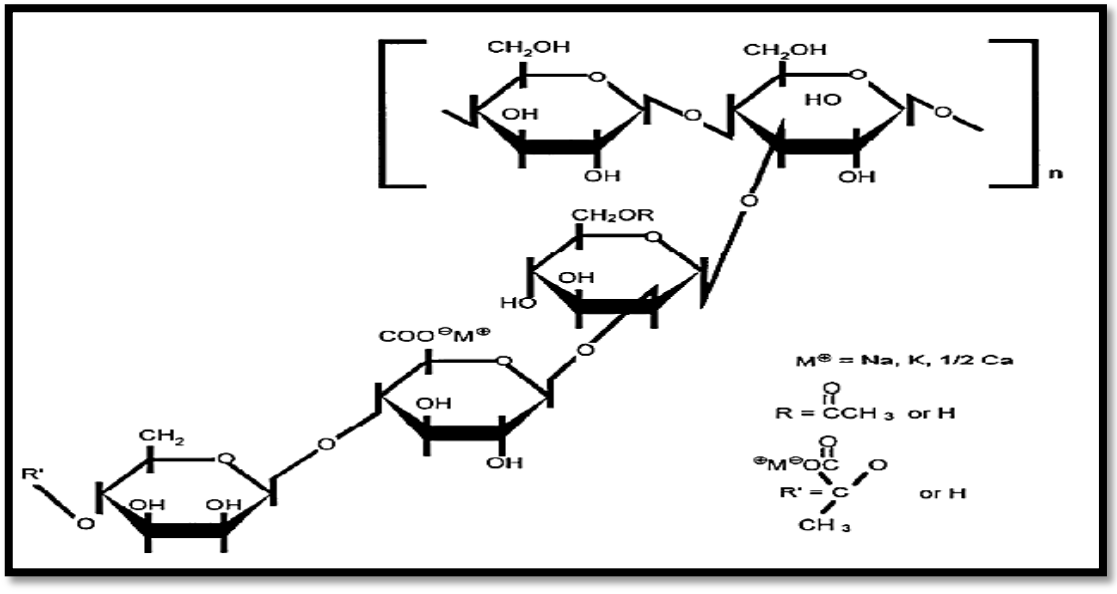


Figure I.3. Structure chimique de l'unité monomérique de la gomme xanthane **[22].**

I.4.1.2 Préparation des solutions de gomme de xanthane

Pour obtenir une fonctionnalité optimale, la gomme de xanthane doit être correctement hydratée avant utilisation. L'hydratation dépend de quatre facteurs

1. La dispersion
2. Le taux de solvant d'agitation
3. La composition de solvant
4. La taille des particules

Pour hydrater correctement les particules de gomme ces dernières doivent être bien dispersées. Une mauvaise dispersion conduit à l'agglutination des particules pendant le mélange qui se traduit par la formation des grumeaux gonflées (Parfois appelé «yeux de poisson»). La formation de ces grumeaux empêche l'hydratation complète et réduit la fonctionnalité. Le moyen idéal pour disperser la gomme de xanthane est l'utilisation d'un entonnoir de dispersion et un mélangeur éjecteur. L'utilisation de ce dispositif peut éliminer la nécessité d'un fort cisaillement. Avant l'ajout de xanthane, le réservoir doit être rempli avec l'eau suffisamment pour couvrir les pales du mélangeur quand un vortex est développé. Dans les petits réservoirs, l'eau peut être exécutée par l'éjecteur. De plus grands réservoirs peuvent être remplis directement. Lorsque le volume d'eau est suffisant l'agitateur est mis en marche. Puis, la poudre de xanthane sèche est versée dans l'entonnoir attaché à la partie supérieure de l'éjecteur. Alors que la gomme de xanthane est ajoutée, et jusqu'à ce qu'il soit complètement dissous le liquide doit être agité en permanence pour empêcher le dépôt des dispersés granulés.

I.4.1.3.Propriétés de la gomme xanthane

Au-delà des caractéristiques économiques (prix de vente, qualité reproductible, etc.), les propriétés chimiques et physiques du xanthane en font un produit extrêmement utilisé, dont la principale caractéristique est de modifier les propriétés rhéologiques des solutions aqueuses **[22]** :

1. Bonne dissolution dans l'eau chaude et l'eau froide.
2. Viscosité élevée à faible cisaillement, même à faible concentration.
3. Viscosité constante et indépendante du pH (pour des pH compris entre 1 et 2) et de la température (jusqu'à 120°C).
4. Pseudo plasticité et thixotropie.
5. Récupération instantanée de la viscosité après l'application d'un cisaillement.
6. Compatibilité avec un grand nombre de substances.
7. Synergie avec des polysaccharides végétaux comme les galactomannanes de gaur.

Le Xanthane forme des sortes de gel au repos alors qu'il est facile à verser même associé à des mélanges complexes.

Le Xanthane :

- A un effet lubrifiant et stabilisant de liquides émulsionnés et riches en particules (cassoulet)
- Est un bon support pour des liquides pompa les mais qui doivent coller (sauces frites)
- Est peu sensible au pH et à la température et insensible aux enzymes protéolytiques,
- Est facile d'usage, s'utilise à petite dose, est "cultivé" et abondant donc économique
- Forme des liquides très visqueux porteurs de particules ou bulles.
- Peut donner des gels en présence d'autres gommes **[23]**.

I.4.1.4. Rhéologie des solutions de gomme xanthane

Les connaissances actuelles sur la structure et la conformation de la gomme de xanthane expliquent beaucoup de ses propriétés uniques en solution. Lorsque le cisaillement augmente,la viscosité est progressivement réduite. Suite à la suppression du cisaillement, la viscosité initiale est récupérée presque instantanément. Ce résultat renseigne sur la capacité des molécules de xanthane à former des agrégats en solution **[24]**.

La rhéologie des solutions de xanthane est essentiellement influencée par la concentration en polymère, la température et la pression osmotique. L'effet des sels sur la viscosité d'une solution de gomme xanthane dépend de sa nature et de sa concentration. A des concentrations inférieures à 0.25%, les sels monovalents, tels que le NaCl, baissent légèrement la viscosité. A des concentrations supérieures la viscosité augmente en fonction de la concentration en sels, mais au-delà d'une concentration en sel > 0.1%, un plateau est atteint et il serait donc inutile d'utiliser de plus fortes concentrations en sel. **[24]**

Généralement, la viscosité de la gomme xanthane n'est que peu influençable par le pH.
Le xanthane est généralement stable à des pH compris entre 2 et 12. Cela dépend aussi de la concentration. Pour de faibles concentrations, on voit la viscosité diminuer au-delà d'un certain pH.

I.4.1.5.Applications de la gomme xanthane

Les industries chimiques, pétrochimiques, alimentaires et pharmaceutiques sont les principaux utilisateurs **[25]**.Les qualités exceptionnelles, décrites ci-dessus, rendent le xanthane irremplaçable pour certaines applications alimentaires, sans dose limite. Il favorise la libération rapide des arômes, offre une bonne impression gustative, est neutre en goût, est non digestible, et

est compatible avec d'autres ingrédients (protéines, lipides et polysaccharides) **[26].** Dès son introduction sur le marché commercial, la gomme xanthane a présenté un vif intérêt dans des domaines aussi variés que l'alimentaire, la chimie et la récupération assistée du pétrole **[27].** Mais, c'est dans ce dernier secteur que le potentiel du xanthane a été le plus exploité dans les premiers temps, correspondant aux périodes de crises pétrolières.

Désormais, le domaine alimentaire connaît un essor important. En effet, environ 60% du xanthane produit est de qualité alimentaire **[28]**, et le marché continue de progresser, notamment aux Etats-Unis, où les habitudes alimentaires entraînent le développement de la gomme xanthane De même, le marché de la cosmétique contribue fortement à l'essor de la gomme. En particulier, les gels douches, les crèmes et les pâtes dentifrices garantissent l'obtention de produits dont la texture satisfait aux exigences du consommateur.

Le Xanthane est un épaississant issu d'un polysaccharide bactérien recueilli par l'homme lors de la culture de Xanthomonas en cuve. Le Xanthane quoique de découverte récente, est devenu un additif très employé car il est très homogène et stable, ne connaît pas de saisonnalité dans sa production et provient de la transformation d'ingrédients abondants par une bactérie de culture maîtrisée donc il n'est pas cher. Le Xanthane a en particulier remplacé des gommes d'arbres de récolte compliquée et de quantités limitées dans des utilisations nombreuses encouragées par sa disponibilité. Il maintient en suspension dans les liquides des produits de petite taille ou mêmes des molécules ou particules microscopiques insolubles ce qui revient à dire qu'il stabilise les émulsions et tous les mélanges difficiles parce qu'ils connaissent une sédimentation (mélanges de minéraux et sels, vitamines.). Comme le Xanthane est en plus très visqueux, il remplace les ingrédients plus chers comme les œufs comme liant. Il est encore plus visqueux en présence de Guar mais gélifie avec la tara, la caroube ou le Konjac (50% : 50%) **[23][28].**La gomme xanthane est classée parmi les stabilisants et épaississants par le codex alimentaires qui en a défini le niveau maximal dans une large gamme de produits alimentaires

I.4.2.Alginate de sodium

Par le terme alginate, sont désignés l'ensemble des polysaccharides appartenant à la famille des copolymères constitués des résidus de l'acide D-mannuronique et de l'acide L-3guluronique, dans des proportions et des arrangements séquentiels différents **[29]**.

L'alginate de sodium est un polysaccharide de structure linéaire, biopolymère anionique, extrait des algues brunes, et peut être produit par voie bactérienne **[30].** Au niveau industriel, il est essentiellement issu de certaines espèces d'algues brunes dans lesquelles il constitue plus de

40% de leur poids sec(**Figure I.4**) : *Macrocystis pyrifera*récoltée aux Etats-Unis, *Laminariadigitata*, *Laminariahyperborea*ou encore *Ascophyllumnodosum*récoltée en Europe.

Ce polysaccharide est couramment utilisé dans des applications biologiques notamment dans le domaine de l'encapsulation cellulaire et de la délivrance contrôlée de molécules à effet thérapeutique. Ce succès est dû notamment à son mode de gélification et à sa biocompatibilité largement démontrée dans la littérature **[30]**.



Figure I.4. De gauche à droite : Macrocystis pyrifera (a), Laminariahyperborea (b) et Laminariadigitaria (c) **[29]**

I.4.2.1. Composition chimique de l'alginate

Les alginates sont des sels d'acide alginique, constitués de deux monomères saccharidiques de base : acide α – L – guluronique (G) et acide β – D – mannuronique (M), dont la séquence varie (Figure I.5).[30]

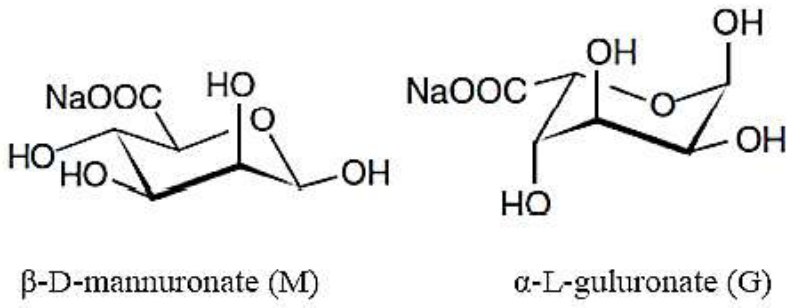


Figure I.5. Monomères de la chaîne alginate.

La séquence des différents blocs (M) et (G) dépend du type d'algue, de son âge ainsi que de la partie dont est isolé l'alginate. La saison de récolte affecte de même la composition en blocs et les séquences **[30]**.

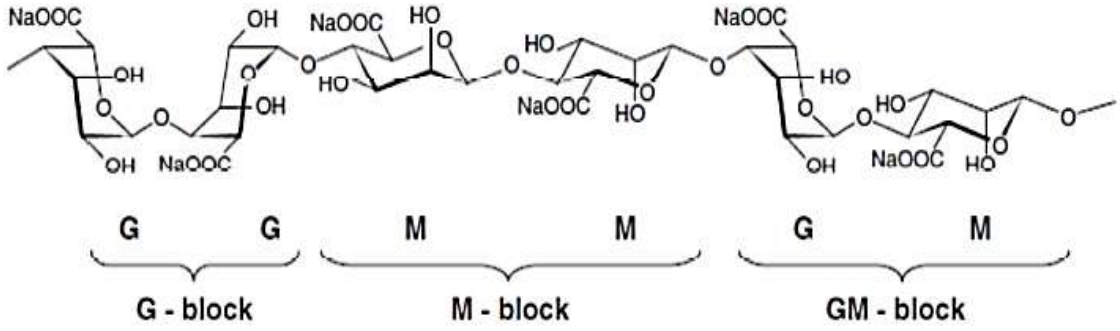


Figure I.6. Structure chimique de la chaine d'alginate de sodium

De plus, les alginates possèdent les quatre types de liaisons glycosidiques possibles (**Figure I.7**) : diéquatorial (MM), diaxial (GG), équatorial-axial (MG) et axial-équatorial (GM).

La structure des segments polyacide manuronique est très proche de celle de la cellulose. Les liaisons di équatoriales entre unités M donnent à ces segments une structure aplatie, de type ruban. Cette structure est stabilisée grâce à des liaisons Hydrogène (**Figure I.7**). Par exemple, le groupement hydroxyle en C3 du monomère M+1 interagit avec l'atome d'oxygène du cycle du monomère M **[30]**.

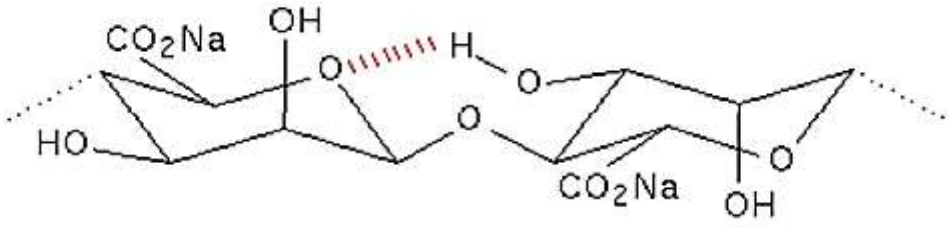


Figure I.7. Interactions entre les unités M.

Les blocs MG sont caractérisés par une alternance entre des liaisons axialeséquatoriales et des liaisons équatoriales-axiales. De telles variations dans la tacticité de la chaîne sont responsables d'une plus grande flexibilité des blocs MG comparés aux autres blocs.

D'ailleurs, les données de viscosité indiquent que la rigidité des blocs augmente dans L'ordre : MG < MM <GG.

De plus, lorsque l'on considère l'alginate comme un polymère anionique, on constateque la répulsion électrostatique entre les groupes chargés sur la chaîne polymère va participerà l'augmentation de la viscosité intrinsèque **[30]**.

I.4.2.2. Propriétés physico-chimiques des alginates en solution

Les propriétés physico-chimiques des solutions et des gels d'alginate en milieux aqueux dépendent de leur structure, c'est-à-dire de la proportion de résidus mannuronique par rapport aux résidus guluronique rapport noté (M/G) ainsi que du nombre et de la longueur des blocs MM, GG et MG **[31]**.

La solubilité des alginates en solution aqueuse dépend du degré d'ionisation des groupements carboxyliques portés par les unités monomères. Ainsi, les alginates monovalents sont parfaitement solubles dans l'eau si on leur associe des cations alcalins monovalents car les Groupements carboxyliques présents dans les molécules d'alginate sont ionisés. Par contre, l'acide alginique est insoluble dans les solutions aqueuses. Il précipite quand le pH est inférieur à 3,5.On peut parler de pKa de l'acide alginique. L'acide mannuronique a un pKa de 3,38 et l'acide gluconique un pKa de 3,65 .Le pKa apparent de l'acide alginique varie de 3,7 à 4,2 en fonction de sa composition **[31]**.

Les solutions aqueuses d'alginate sont très visqueuses. En effet, l'alginate est un poly électrolyte qui contient des fragments poly (-L-gluconate) rigides. La relative rigidité de l'alginate se traduit par un rayon de giration élevé en solution. La présence de groupements chargés sur la chaîne et le rayon de giration élevé expliquent la viscosité relativement élevée de ses solutions. Cette propriété est surtout utilisée dans l'industrie agro-alimentaire où ils servent d'épaississants **[31]**.

Les alginates de sodium se dissolvent dans l'eau en formant des solutions colloïdales visqueuses à comportement pseudo élastique et ce pour de faibles concentrations. L'addition progressive de cations divalents (Ca^{2+} par exemple) provoque la formation d'un gel élastique, non thermoréversible : les segments gluconiques à conformation plissée retiennent les ions calcium par coordination, en coopérant avec une chaîne parallèle. Les ions calcium s'associent préférentiellement aux fragments poly-gluconate plutôt qu'aux fragments poly-mannuronate(**Figure I.8**). En effet, les blocs poly-guluronate, en raison de leur conformation spatiale, permettent une chélation plus énergétique des ions. Ces derniers sont retenus dans une « cage » et interagissent avec les fonctions carboxylates et les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyles. Les ions calcium sont beaucoup mieux retenus que par de simples liaisons ioniques.

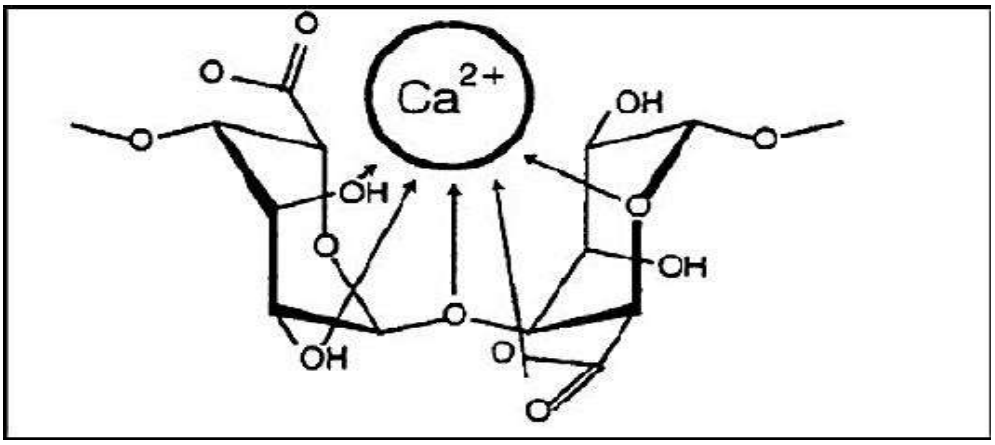


Figure I.8 . Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères D'alginate.

L'enchaînement régulier se reproduit périodiquement où il se forme un réseau tridimensionnel à zones organisées reliées par les segments poly-M ou poly-(M-G) de type « Eggbox » (**Figure I.9**).

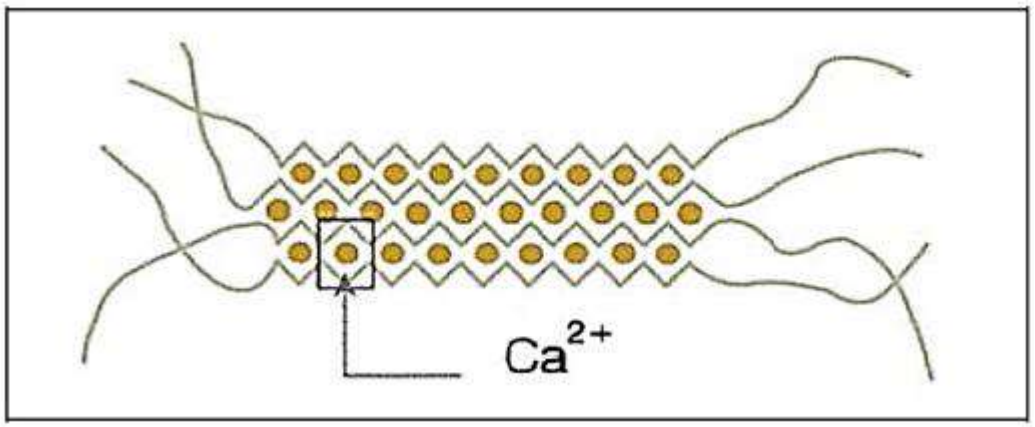


Figure I.9. Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "Egg-box".

La structure du polymère est donc l'élément déterminant du comportement rhéologique des gels d'acide alginique : la proportion des blocs poly-G et leur longueur conditionnent la formation et la force des gels obtenus en présence de calcium. On peut d'ailleurs remarquer que, in vivo, les tissus les plus anciens dans l'évolution et les plus résistants sont aussi les plus riches en acide L-guluronique **[31].**

I.4.2.3.Techniques de gélification

Il existe deux méthodes de formation d'hydrogels d'alginate de calcium possibles:

a. La gélification par diffusion

b. La gélification interne

a. ***Gélification par diffusion:*** la méthode consiste à permettre au réticulant (Ca^{2+}) de diffuser du milieu de formation vers l'intérieur de la solution d'alginate ou bien à travers une membrane de dialyse (la gélification par dialyse est utilisée pour la formation de gels de taille importante). Cette méthode est caractérisée par une cinétique de gélification rapide qui est utilisée pour le piégeage de molécules bioactives **[32]**.

En effet, lorsque les ions calcium diffusent au sein de la goutte de solution d'alginate de sodium, le pontage rapide du Ca^{2+} formant le réseau provoque l'établissement d'un front de gélification qui évolue depuis la périphérie vers le cœur de la bille tandis que les chaînes d'alginate progressent en sens inverse, générant une zone de déplétion au cœur de la bille. Le gradient de concentration en polymère dans la bille résulte donc de la différence entre les vitesses de diffusion des chaînes et des ions Ca^{2+} **[33]**.

b. ***Gélification interne:*** Cette méthode consiste à contrôler la libération des ions calcium présents initialement sous forme de sels dans la solution d'alginate. Sa libération est assurée par la présence d'un retardateur comme libérer des ions hydrogène chélatans **[34]**. Généralement, l'immobilisation de protéines ou de principes actifs dans d'alginate de calcium suit les mêmes méthodes. La molécule à immobiliser est mise dans la solution d'alginate et versée goutte à goutte dans la solution contenant la mélatonine, l'héparine, l'hémoglobine d'hydrogel sous forme de billes simples ou enrobées dans des microcapsules **[35,36]**.

I.4. 2.4.Mécanismes de gélification

La gélification d'alginate se produit lorsque des ions multivalents prennent leurs places entre les blocks G des monomères gluconiques, formant des jonctions de nature électrostatique. La force de liaison varie en fonction de la nature du cation selon l'ordre suivant : Pb > Cu > Cd > Ba > Sr > Ca > Co = Ni = Zn > Mn **[29]**. Or, la rigidité de l'hydrogel dépend de la proportion en monomères G, plus le taux en monomère G est élevée plus le pouvoir gélifiant est élevé. En général, Le ratio M/G et le pouvoir chélatant des cations déterminent la nature de l'hydrogel formé.

La dissolution d'alginate de sodium dans l'eau, avec une quantité précise, conduit à la formation d'une solution de viscosité contrôlée. Comme l'acide alginique est insoluble dans les solutions aqueuses, il précipite à un pH inférieur à 3,5. La formation des billes d'alginates de

calcium se fait dans des conditions extrêmement douces « température ambiante et pH neutre ». L'auto-assemblage de la phase organique et de la phase inorganique résulte la formation d'un hydrogel hybride, dont le calcium présente la partie inorganique et l'alginate présente la partie organique. Selon la méthode de séchage normale ou supercritique, on distingue deux types de billes hybrides: xérogels et aérogels.

Les gels sont des états intermédiaires entre l'état solide et l'état liquide. Dans le cas de l'alginate, les gels obtenus sont appelés xérogels où la capillarité s'effondre lorsqu'on extrait le solvant par un séchage classique ou une compression. Cependant, les aérogels sont les produits d'un séchage supercritique qui repose sur un processus d'extraction du solvant sans causer l'effondrement de la capillarité et le réseau du gel, en utilisant le CO_2 supercritique qui est miscible avec le solvant d'échange **[31]**.

I.4.2.5. Hydrogel à base d'alginate

Les hydrogels forment une classe spécifique de gels définis comme des systèmes à deux ou plusieurs composants, consistant en un réseau tridimensionnel de polymères hydrophiles dans lequel l'eau est le solvant de gonflement. En fonction des propriétés et de la nature du polymère utilisé, dépend sa capacité de se gonfler ou se contracter lors de l'évaporation du solvant. En général, la fraction massique de l'eau dans un hydrogel est beaucoup plus élevée que la fraction massique du polymère. Deux classes générales d'hydrogels peuvent être définies :

a. Hydrogels physiques (pseudo-gels), où les chaînes sont reliées par des forces électrostatiques, des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes ou des enchevêtrements de chaîne. Un autre type particulier d'hydrogel physique connu sous le nom de « gel ion tropique » qui repose sur la combinaison des poly électrolytes avec un ion multivalent de charge opposée dont l'alginate de calcium en est un exemple.

b. Hydrogels chimiques avec des liaisons covalentes assurant la cohésion du gel et l'équilibre du gonflement est déterminé par le taux de réticulation **[31]**. Dans le cas de la gélification avec les ions calcium, il existe trois états physiques différents selon la concentration de cet élément (**Figure I.10**) :

1. A très faible concentration, il y a formation d'agrégats (micro gel) qui provoquent une diminution de la viscosité de la solution d'alginate.

2. Puis à partir d'une certaine concentration, les macromolécules se réarrangent pour former un réseau tridimensionnel (gel continu).

3. Si la concentration en calcium augmente encore, on observe un phénomène de synérèse 2

(Gel continu avec démixtion) dû à une diminution du taux de gonflement des chaînes d'alginate avec expulsion d'eau hors du réseau. Par ailleurs, certaines études ont montré que la gélification de l'alginate dans une solution ne contenant que des ions calcium conduit à la formation d'un gel non homogène. En effet, la diffusion des ions calcium provoque une gélification de « billes » d'alginate de l'extérieur vers l'intérieur. L'alginate a alors tendance à migrer vers la zone de gélification. De ce fait, il s'établit un gradient de concentration en alginate à l'intérieur du gel **[31]**.

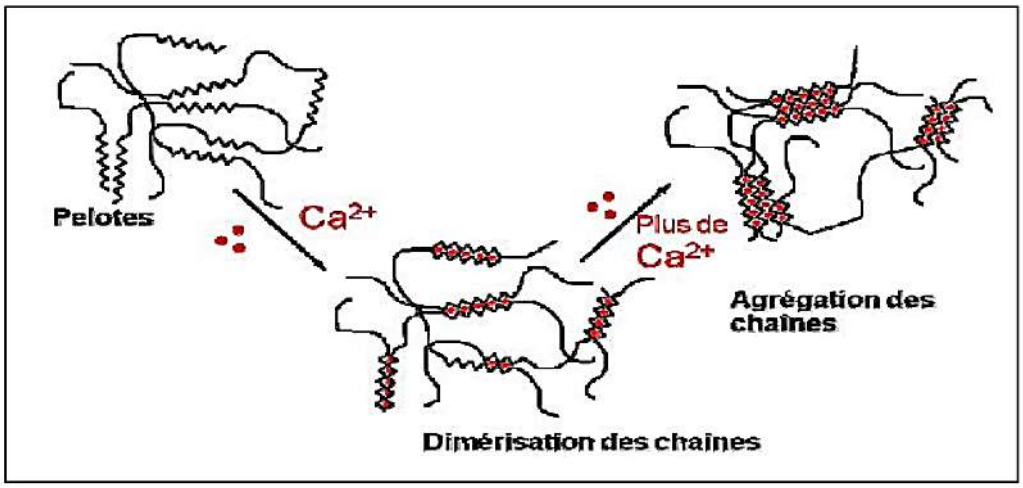


Figure I.10. Effet de l'ajout de calcium dans une solution d'alginate : en haut à gauche les polymères poly M et poly G ne sont pas reliés. Avec l'ajout d'une concentration faible en calcium.

La figure I.10, en haut à droite, montre que plus on ajoute de calcium, plus le réseau tridimensionnel est lié et donc rigide. Pour obtenir un gel homogène, il faut ajouter du chlorure de sodium à la solution de chlorure de calcium qui sert à gélifier l'alginate, ainsi qu'à la solution d'alginate. Ainsi l'alginate n'a plus tendance à se déplacer vers la zone de gélification, car la présence d'ions sodium conduit à un équilibre des charges **[31]**.

I.4.2.6. Applications de l'alginate de sodium

L'alginate produit à grande échelle trouve des applications principalement dans les domaines de l'agroalimentaire et textile, pour laquelle environ 80% de la production y est transformée. Ses propriétés colloïdales uniques font qu'il peut être utilisé en tant qu'épaississant, stabilisant, agent filmogène, gélifiant, etc. (**Tableau I.3**). **[30]**

Tableau I.3. Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications **[30]**

Application	Rôle de l'alginate
Industrie textile (50%)	Epaississant pour les pâtes d'impression, Epaississant et stabilisateur des teintures, Agent d'imperméabilisation, Agent plastifiant et filmogène.
Industrie agroalimentaire (30%) codes E401 à E405	Epaississant, texturant, conservateur, dans de nombreux produits : confitures, jus de fruits, sauces (moutarde, mayonnaise), potages, produits laitiers, stabilisateur dans les crèmes glacées (empêche la formation de cristaux).
Industrie du papier (5%)	Agglomérant pour les fibres, apprêt de surface, Epaississant et stabilisant dans les colles, Maintien des pigments en suspension.
Divers (10%)	Epaississant dans les produits de beauté et pates à dentifrice, stabilisateur pour les peintures et vernis, Floculant en traitement des eaux, Agglomérant pour les électrodes de soudure, Agent absorbant dans les couches pour bébé.
Industrie pharmaceutique (5%)	Stabilisateur d'émulsions, agglomérant dans les comprimés, épaississant et hémostatique dans les pommades, pansements, mèches nasales, Gélifiant dans les pâtes a empreinte dentaire.

I.5.MELANGES DE BIOPOLYMERES

I.5.1.mélanges de polymères

Le mélange de polymère est physique, contrairement aux copolymères dont la liaison est chimique**.**

Le mélange et moins cher, mais n'est possible que si la chimie des deux polymères est relativement proche, si non le matériau dé lamine. Les deux polymères doivent donc être pseudo compatibles **[37]**.

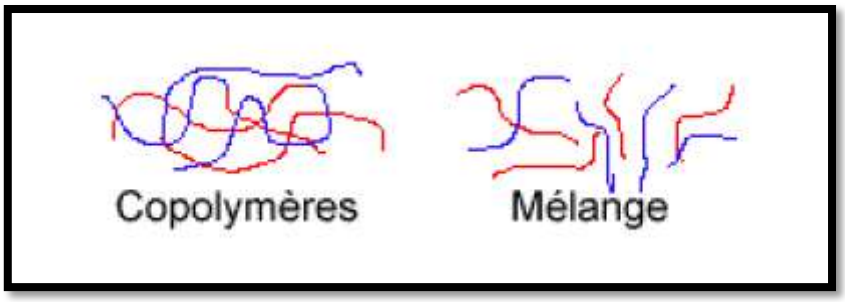


Figure I.11.Mélange de biopolymères.

I.5.2.Types de mélanges

Les polysaccharides et les protéines sont des polymères dont le solvant habituel est l'eau. Les biopolymères sont souvent polydisperses et constitués d'unités monomères différentes. De plus, de nombreux biopolymères sont des polyélectrolytes ce qui leur confère une grande variation de la densité de charges en fonction de l'environnement (pH, I, ions spécifiques…). Tout ceci rend difficile des calculs théoriques mais une description qualitative de la séparation de phase de ces biopolymères peut être faite sur la base des mélanges de polymères. Le comportement d'un système ternaire de biopolymères est contrôlé par l'intensité des interactions entre polymères et polymères - solvant. Pour les poly électrolytes, l'entropie de confinement des contre-ions est également un facteur important. On recense dans la littérature trois possibilités d'équilibre principales (**Figure I.12**)

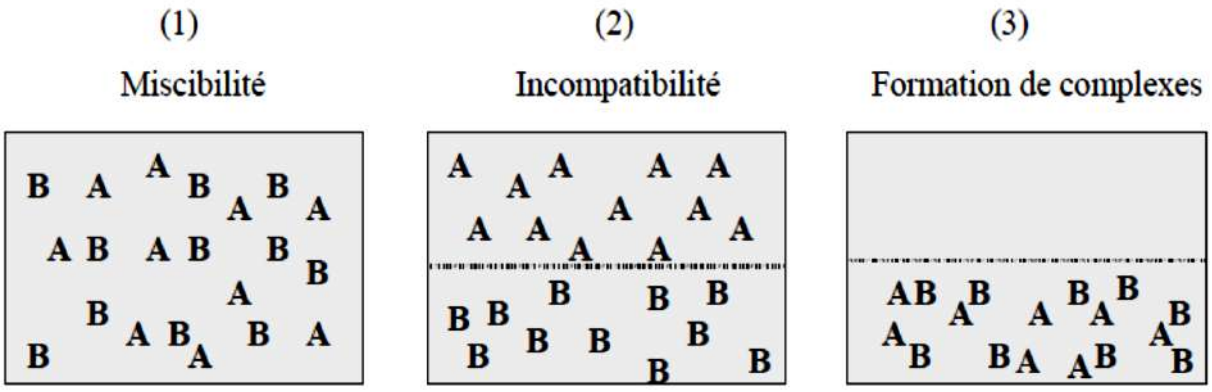


Figure I.12. Classification du comportement d'un mélange ternaire de polymères (Solvant + polymère A + polymère B).

(1) **<u>Miscibilité</u>** : Une solution stable homogène est observée. Il n'y a pas de différence entre les interactions A-B, A-A ou B-B. Cette situation est très peu rencontrée.

(2) **<u>Incompatibilité ou séparation de phases ségrégative</u>**: L'interaction entre les deux polymères est répulsive et conduit à la séparation de phases en deux phases distinctes, chacune riche en l'un ou l'autre des deux polymères.

(3) **<u>Coacervation complexe ou séparation de phases associative</u>**: Ce phénomène conduit à la formation de complexes solubles ou insolubles qui peuvent précipiter (coacervation complexe) et qui résultent d'une attraction forte entre les deux polymères. Cette situation est typique d'un mélange de deux polymères de charges opposées. Généralement les polyosides sont chargés négativement, ce phénomène peut donc se produire en présence de protéine chargée positivement c'est-à-dire par exemple pour des valeurs de pH inférieures au pHi. Ce type de séparation de phases conduit à deux phases, l'une riche en polymères complexés, l'autre contenant essentiellement le solvant. Une remarque doit tout de même être faite : la séparation de phases, du fait de l'entropie, n'est jamais complète. Dans le cas (2), chaque phase contient une faible quantité de l'autre polymère et dans le cas (3), la phase riche en solvant contient également une fraction des deux sortes de polymères.

I.5.3. L'intérêt de mélange de polymères

En plus de l'intérêt purement scientifique et du challenge que représente la miscibilité des polymères, il y a d'autres raison, notamment :

- ✓ **Des raisons technologiques :** recherchent de « nouveau matériau »et de nouvelles propriétés,
- ✓ **Des besoins industriels : «** polymères modifiés» pour des applications spécifiques nouvelles,
- ✓ **Raison économiques:** recherche de matériaux moins couteux, obtention de «nouveaux » matériaux à partir de polymères déjà prépares et disponibles,
- ✓ **Des considérations environnementales :** diminuer la pollution par le recyclage et la réutilisation des matériaux plastique en général **[38].**

I.6. CONCLUSION

La définition du terme biopolymère est souvent sujette à controverse et il n'y a Pas de distinction claire entre les « biopolymères», les « bioplastiques » et les «Polymères biosourcés » Les biopolymères sont considérés par certains auteurs comme étant uniquement des polymères biodégradables.

En pratique, ils rassemblent les polymères biosourcés, c'est- à dire produits à partir De ressources renouvelables, les polymères biodégradables et même parfois également Les polymères biocompatibles.

II.1. INTRODUCTION

L'encapsulation peut être utilisée pour protéger un principe actif sensible et l'isoler de son environnement (humidité, chaleur, oxygène, lumière…). Une des principales applications reste le contrôle de la libération ultérieure du principe actif pour lesquelles deux voies principales sont envisagées : libération différée ou libération prolongée dans le temps avec la définition d'une cinétique **[39]**.

II.2.DEFINITION

La micro-encapsulation est une technique permettant d'emprisonner des liquides ou des solides dans une enveloppe (membrane) qui les isole dans le but de les protéger de l'environnement extérieure ou maitriser leur libération dans un environnement choisi.

Pour que les produits obtenus par la micro-encapsulation soient véritablement qualifiés de microcapsules, leur tailles doivent se situer entre 1 et 100 µm. Ces produits sont obtenus sous forme de poudre ou de dispersion dans un liquide.

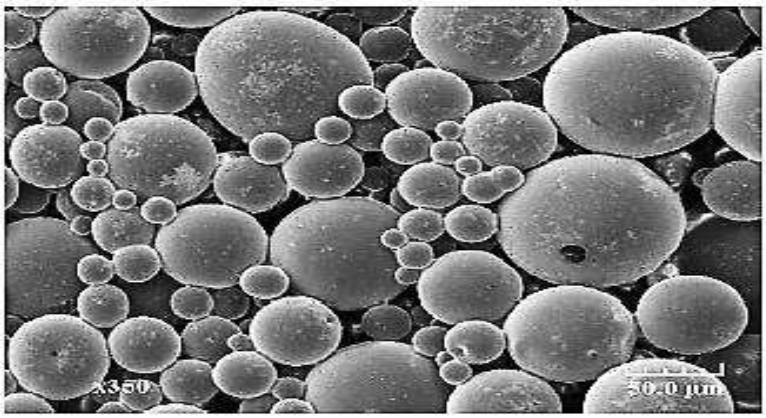


Figure II.1. Image MEB de microcapsules de PMMA contenant du parfum [40].

II.3.HISTORIQUE

Les premières publications sur la micro-encapsulation et ses applications possibles dans le domaine pharmaceutique remontent à 1931.De 1931 à 1940, ont établi un processus de micro-encapsulation basé sur l'utilisation d'une enveloppe de gélatine (coacervation) **[40]**.Depuis lors, l'industrie pharmaceutique a développé plusieurs autres matériaux de revêtement et beaucoup d'autres méthodes d'encapsulation.

Dans les 30 années, plusieurs brevets ont été enregistrés au sujet de l'encapsulation des principes actifs, médicinaux et non médicinaux, comme des antibiotiques, vitamines, et ainsi de suite.

D'autres industries ont été intéressées, et le sont toujours, par cette technique : l'industrie alimentaire, l'industrie photographique, l'industrie des engrais, l'industrie de pesticides, etc.

En outre, l'industrie chimique avait développé de nouveaux polymères avec des applications potentielles dans la micro-encapsulation **[41]**.

II.4. INTERETS DE LA MICRO-ENCAPSULATION

Sur le plan industriel, la micro-encapsulation est mise en œuvre pour remplir les objectifs suivants :

1-Assurer la protection, la compatibilité et la stabilisation d'une matière active dans une formulation ;

2- Séparer deux produits incompatibles devant se trouver dans un même mélange. De cette façon, on peut faire coexister deux produits réactifs.

3-Réaliser une mise en forme adaptée (dosage plus élevé dans de petits volumes)

4-Améliorer la présentation d'un produit ;

5-Modifier et maîtriser le profil de libération d'une matière active pour obtenir, par exemple, un effet prolongé ou déclenché **[42]**.

6-Diminuer la volatilité d'un produit possédant une forte tension de vapeur. Ceci est valable par exemple pour les arômes dans les préparations culinaires.

II.5. MICROPARTICULES

II.5.1. Définition

La micro-encapsulation regroupe l'ensemble des techniques permettant l'obtention de particules dont la taille s'échelonne entre un micron et un millimètre contenant une substance active solide, liquide ou gazeuse. Les microparticules ainsi obtenues peuvent être classées en deux catégories selon leur microstructure : les microsphères et les microcapsules **[43]**.

La plupart du temps les microparticules ont une forme sphérique ou ovoïde, mais il en existe des formes non régulières. La membrane protectrice des microparticules peut être formée d'une monocouche ou d'une multicouche quelle que soit leur microstructure **[43]**.

II.5.2. Différents types de microparticules

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

II.5.2.1. Liposomes

Un liposome est une vésicule artificielle formée par des bicouches lipidiques concentriques, emprisonnant entre elles des compartiments aqueux. On les obtient à partir d'une grande variété de lipides amphiphiles, dont les plus couramment utilisés sont les phospholipides. Lorsque de tels composés sont mis en présence d'un excès de solution aqueuse, ils s'organisent de manière à minimiser les interactions entre leurs chaînes hydrocarbonées et l'eau. La formation de ces vésicules a initialement été mise en évidence par le Dr Grégoriadis en Angleterre **[44]**.

Les liposomes sont des structures de taille nanométrique qui sont principalement utilisés dans la thérapie des cancers. Le premier liposome commercialisé est le Doxil. Depuis une dizaine de liposomes ont atteint le marché de la santé. Des « nano liposomes » sont produits par les nanotechnologies, visant notamment le marché des produits alimentaires.

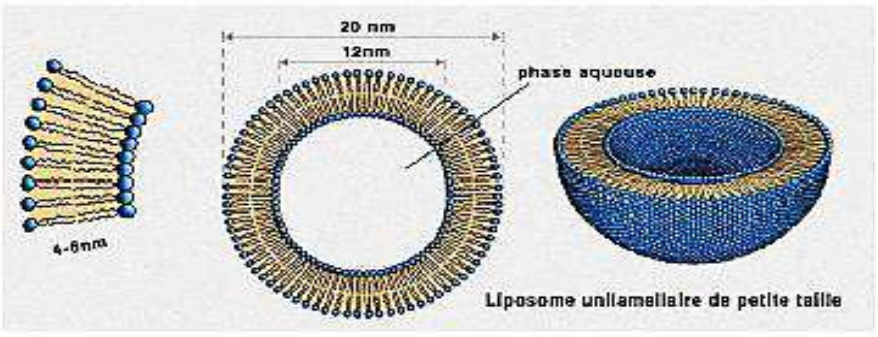


Figure II.2. Structure d'un liposome.

II.5.2.2. Microcapsules

Les microcapsules sont des structures réservoirs de forme sphérique et constituées d'un cœur généralement huileux entouré par une mince paroi de polymère dont l'épaisseur n'excède pas quelques nanomètres. Le principe actif est généralement dissous dans le cœur huileux, mais peut aussi être adsorbé à la surface des microcapsules. Dans cette géométrie, les

taux d'encapsulation peuvent être particulièrement élevés : entre 85 et 90%de masse de matière active par rapport à la masse de microparticules **(Figure II.3)**.



Figure II.3. Représentation chématique d'une microcapsule.

II.5.2.3. Microsphères

Ce sont des structures matricielles, de forme sphérique, constituées de polymères de préférence biodégradables. Les premières microsphères ont été développées par Birrenbach et spider (1976) en utilisant le polyacrylamide réticulé, un polymère non biodégradable **[45]**.

Dans le cas de microsphères, le principe actif est soit incorporé à l'intérieur du réseau polymérique durant la formation des microsphères **(Figure II.4)**, soit adsorbé à leur surface par l'intermédiaire de liaisons de type hydrophobe, électrostatique ou covalente. Il est libéré par simple diffusion ou à la suite de la biodégradation du polymère dans l'organisme. Dans ce cas, les teneurs en matière active sont moindres, de l'ordre de 20 à 35% mais parfois ce taux peut atteindre 50% **[46]**.

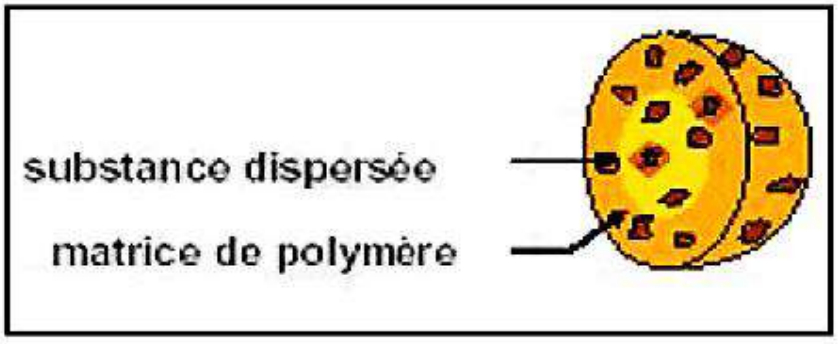


Figure II.3. Représentation schématique d'une microsphère.

II.5.3. Caractéristiques générales des microparticules

Sur le plan physicochimique, un certain nombre de facteurs permettent de caractériser la membrane d'une microcapsule ou la matrice d'une microsphère : charge électrique de surface, mouillabilité, porosité, tortuosité des pores, degré de gonflement…etc. **[47]**.

Pour les microcapsules l'épaisseur de la membrane peut également être déterminée. Dans le cas des microsphères, l'état physique de la matière active dispersée dans une matrice polymère ou lipidique est important à déterminer, car il peut influer sur sa cinétique de libération ou encore sur stabilité au sein du système **[47]**.

La production de microparticules s'accompagne fréquemment d'une certaine polydispersité en taille. Seules les techniques basées sur la formation de gouttelettes ou sur la polymérisation en milieu dispersé permettent l'obtention de microparticules proches de la monodispersité. La taille moyenne et la distribution granulométrique sont en relation directe avec la surface spécifique des microparticules, ces paramètres vont influer sur des propriétés telles que la libération de la matière active dans le milieu environnant **[47]**.

La teneur en matière active (ou taux d'encapsulation) peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 à 90 ٪, aux contraires les teneurs habituellement rencontrées dans les microsphères sont plus faibles de l'ordre de 20 à 35 ٪, même si, dans certains cas, on peut atteindre des teneurs de 50 ٪ **[47]**.

En termes de contenance, le système microcapsule est bien sûr beaucoup plus intéressant que la microsphère .Lorsque l'on considère les interactions matière active/milieu extérieure, les microparticules peuvent être classés en deux catégories :

 Celles qui ne doivent pas libérer leur contenu telles que les « les microsphères » contenant des enzymes ou des bactéries,

 Celles qui sont formulées de façon à libérer la matière active encapsulée. Dans ce dernier cas, il faut distinguer les systèmes à libération déclenchée et des systèmes à libération Prolongée **[47]**.

II.5.4. Modes d'action des microparticules

Les microparticules contiennent de manière très variable entre 1 et 90% en masse de matière active. Les taux d'encapsulation déterminés par chromatographie (HPLC) sont généralement plus élevés au sein des réservoirs formés par les microcapsules. Différents facteurs physico chimiques tels que la charge électrique de surface, la mouillabilité, la porosité et le degré de gonflement des microparticules, ainsi que les polymères utilisés (caractérisés par analyse calorimétrique différentielle ou chromatographie d'exclusion

stérique) peuvent influencer la libération du principe actif encapsulé. L'état physique de ce dernier est également un facteur à connaître. En effet, une dispersion moléculaire de matière active encapsulée ne se libérera pas de la même manière que des cristaux et n'aura pas non plus la même stabilité au sein du système.

Certaines particules fabriquées pour l'encapsulation de cellules, d'enzymes ou de bactéries sont des tinées à garder leur contenu. D'autres doivent le libérer de manière brutale comme dans le domaine des autocopiants en papeterie. Dans ce cas, la membrane doit être étanche et la libération se fera par éclatement ou fusion de la particule sous les effets respectifs de la pression ou de la température. Lorsque la libération de la matière active doit être prolongée, deux mécanismes principaux existent et peuvent cohabiter : diffusion passive et dégradation ou dissolution du matériau enrobant. Les cinétiques de libération obtenues par diffusion passive pour des microcapsules suivent logiquement les lois de Fick et sont généralement d'ordre 0 ou 1.

Dans ce dernier cas, la vitesse initiale de libération peut être soit accélérée, si beaucoup de matière active se trouve à la surface de la particule, soit retardée si au contraire, un temps minimum est nécessaire pour que la matière active imprègne la membrane de la microcapsule, étape indispensable à sa libération dans le milieu extérieur **[45]**.

II.6. Techniques de micro encapsulation

La micro encapsulation, comme son nom l'indique, peut impliquer la formation de microcapsules, qui sont des sphères creuses remplies de liquide et dont la membrane est solide, cependant, cette technique peut aussi consister en la formation de microsphères, qui possèdent un cœur et une membrane solides, de liposomes, qui ont une membrane et un cœur liquide, ou de niosomes, qui sont similaires aux liposomes mais avec une membrane de nature synthétique **[48]**.

Les techniques et les méthodes de micro-encapsulation sont très variées. Toutefois, en général, on peut distinguer trois étapes de micro encapsulation :

1.La stabilisation de la matrice dispersée ou pulvérisée qui vise la séparation des produits de micro-encapsulation (particules) pendant une période de temps appréciable durant laquelle aucune énergie externe n'est appliquée afin de maintenir la séparation; cette stabilisation est réalisée par des processus tels que la gélatinisation, la coacervation, l'émulsification, l'évaporation, la coalescence, la polymérisation, la polycondensation ,la congélation, la vitrification, la cristallisation, la solidification ou l'extraction de solvant **[49 ,50]**.

2. La dispersion ou pulvérisation de la matrice qui sert à donner la taille et à séparer les particules qui formeront les microcapsules. Cette étape consiste en général en une séparation des phases liquide/liquide, liquide/air, solide/air, solide/liquide. La dispersion peut être réalisée par nébulisation ou atomisation, ce qui consiste à asperger le produit, ou par émulsification, qui consiste généralement à produire une dispersion en régime turbulent et « prilling », qui est la formation de gouttes à l'aide d'une aiguille ou d'un injecteur **[50 ,51]**.

3. L'inclusion du produit, la dispersion de la matrice et la stabilisation du produit de Micro-encapsulation **[52]**. L'inclusion du produit à l'intérieur de la matrice consiste à diluer, disperser, agglomérer ou adsorber la substance à encapsuler dans un autre composant, sauf quand la substance à encapsuler doit être à l'état pur **[49]**.

La micro-encapsulation est donc le résultat de la combinaison de ces trois étapes .Le choix des techniques dépend de la nature de la matière première à encapsuler et des contraintes du produit final **[49]**.

II.7. Procédés de micro-encapsulation

Il existe plusieurs manières de classer les procédés industriels d'encapsulation suivant différents critères **[51]**:

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

Cette dernière manière de classer les procédés industriels est la plus couramment utilisée. Nous distinguons, comme le résume la figure II.5:

a. Les procédés physico-chimiques, basés sur la maîtrise de paramètres tels que la solubilité et la précipitation des polymères en fonction de l'ajout d'un non-solvant, du pH ou de la température mais aussi sur la maîtrise des changements d'état (fusion, solidification) des polymères.

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

c. Les procédés mécaniques qui mettent en œuvre des techniques de pulvérisation, de formation de gouttes ou de gouttelettes et d'extrusion

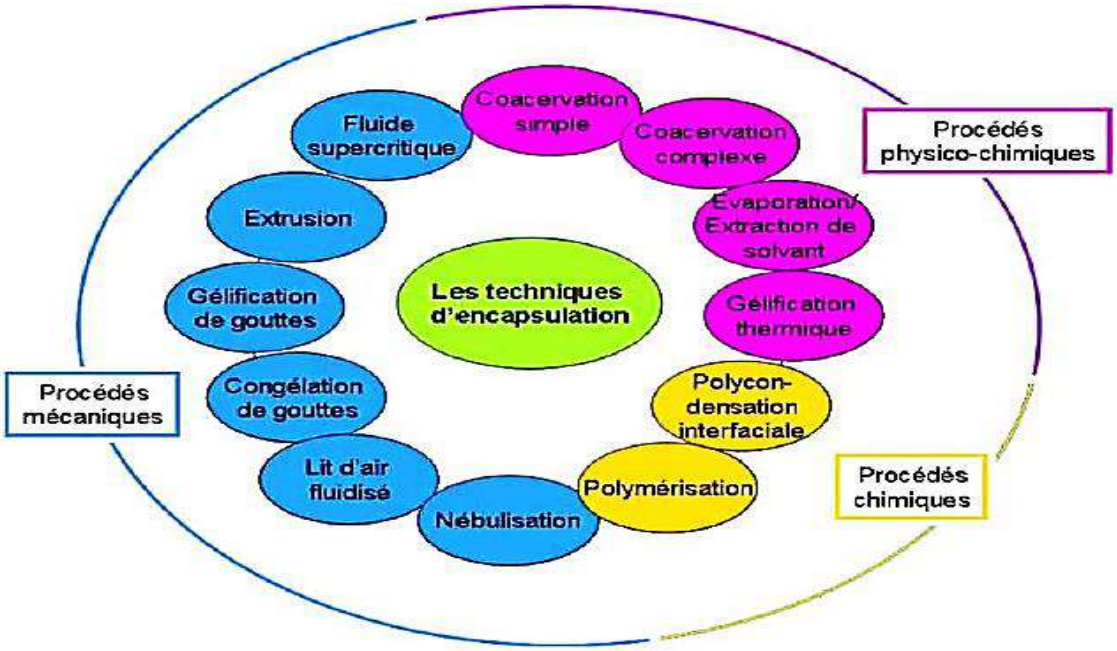


Figure II.4. Les différents procédés d'encapsulation.

II.7.1. Procèdes physico-chimiques

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

II.7.1.1. Coacervation

Le terme coacervation a été emprunté au domaine de la chimie des colloïdes et il réfère au processus de formation de la paroi d'une capsule **[57]**. Il décrit le phénomène de dé solvatation de macromolécules, conduisant à une séparation de phases au sein d'une solution. Tout facteur tendant à réduire la solvatation d'un polymère en affectant les propriétés du solvant ou la charge de la macromolécule va induire ce phénomène. Le principe de la coacervation se divise en trois étapes qui sont la formation de particules ou de gouttelettes, la formation de la paroi capsulaire et l'isolement des capsules.

A l'issue de la coacervation, deux phases seront en présence dans le milieu :

- L'une riche en polymère et pauvre en solvant, le coacervat.
- L'autre pauvre en polymère et riche en solvant, le surnageant.

A. Coacervation Complexe

La formation de complexes est possible dans un système aqueux ayant deux polymères hydrophobiques de charges opposées. Le procédé de formation de complexes peut être résumé en ces lignes (voir **figure II.6**) **[53]**.

Un premier bio-polymère (généralement une protéine) est dissout dans l'eau, l'ingrédient actif est mélangé à la solution de bio-polymère, l'ajout d'un deuxième bio-polymère de charge opposé entraîne la neutralisation des charges du premier bio-polymère et les complexes se forment. La formation de complexes diminue la solubilité des bio-polymères dans l'eau, entraînant une séparation de phases avec une phase riche en complexes de bio-polymère contenant l'ingrédient actif et une autre phase presque dépourvue de bio-polymère mais riche en solvant **[54]**.Ce sont ces complexes qui forment la paroi des microcapsules après isolement.

Il faut rappeler que cette formation de coacervat est influencée par plusieurs conditions dont le pH, la force ionique, la concentration de polymères totaux, la composition de polymères, ainsi que le rapport des deux polymères **[47]**.

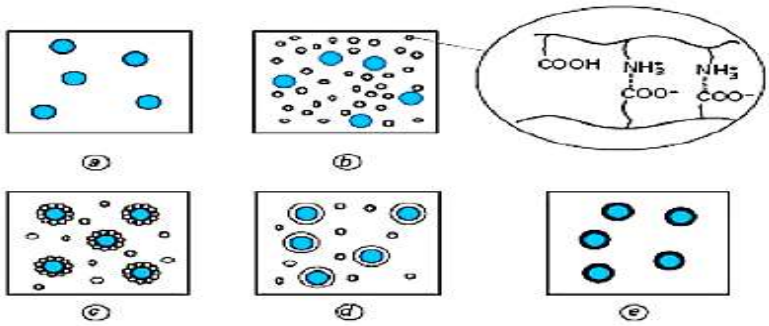


Figure II.5. Schéma du procédé de micro-encapsulation par coacervation complexe **[55]**

B. Coacervation simple

Une coacervation simple (**Figure II.7**) peut se former avec un seul type de bio-polymère dans un solvant où le polymère n'est pas soluble ou par addition d'un composé (sels et alcools) ayant une affinité plus élevée pour l'eau **[53]**.

De cette manière ce composé entre en compétition avec le polymère en question. Lorsque les polymères perdent la couche d'eau associée à leurs chaînes, il y a formation de coacervat entre les différentes chaînes **[56,57]**.

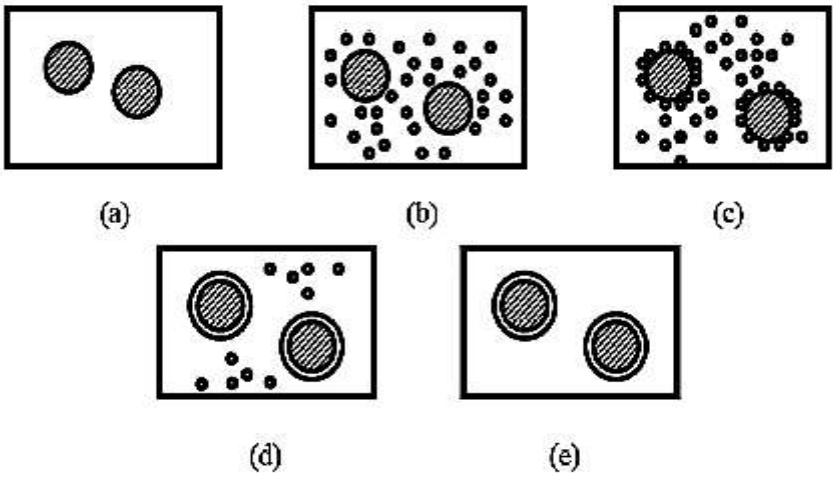


Figure II.6: Principe de la coacervation simple **[58]**

II.7.1.2.Emulsion et évaporation-extraction de solvant

Ce procédé est basé sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase, sous forme dé-micro sphères. Les polymères généralement hydrophobes sont tout d'abord dissous dans un solvant organique peu miscible avec l'eau comme le dichloro méthane. Puis, le principe actif est dissous ou dispersé dans la solution de polymère.

Le mélange est émulsifié dans un grand volume d'eau contenant des tensioactifs tels que l'alcool polyvinylique, afin d'obtenir une émulsion huile dans l'eau (H/E). L'évaporation du solvant après diffusion progressive dans la phase continue est réalisée sous pression atmosphérique ou pression réduite et sous agitation lente (**Figure II.8**).Cette technique est à déconseiller si le principe actif est volatil ou possède une grande affinité pour la phase continue aqueuse.

L'extraction consiste, elle, à transférer l'émulsion dans un grand volume d'eau contenant ou non des sur factifs et permettant la diffusion rapide du solvant. Après élimination du solvant, les particules sont lavées, collectées par filtration ou centrifugation puis séchées ou lyophilisées. Le procédé choisi ainsi que sa vitesse de réalisation vont influencer les caractéristiques des microsphères obtenues. Une extraction de solvant, plus rapide que l'évaporation, peut par exemple, entraîner la formation de microsphères poreuses **[59]**.

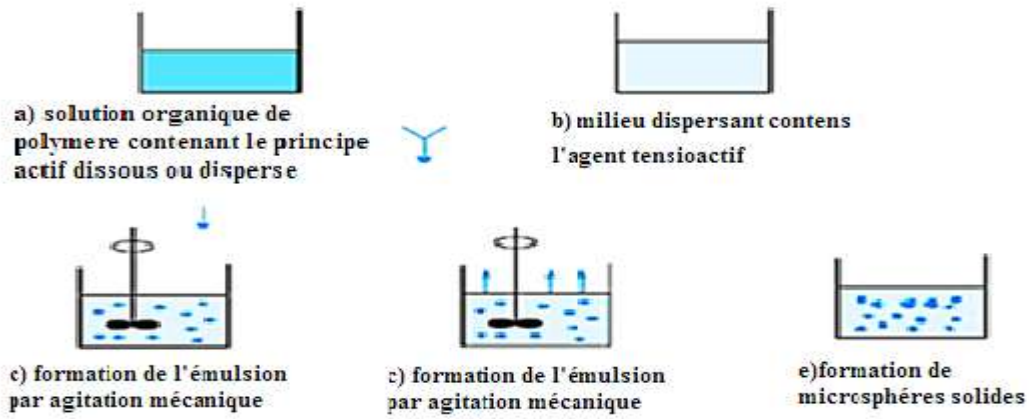


Figure II.7. Schéma du principe de micro encapsulation par évaporation de solvant **[46]**

La méthode telle que décrite ci-dessus est appropriée dans le cas de molécules actives lipophiles. Deux types de modifications peuvent être apportés pour l'encapsulation de principes actifs polaires.

1/Premièrement, l'émulsion huile-dans-eau peut être remplacée par une émulsion huile-dans huile, en utilisant, contient alors les polymères et la molécule active et, en phase continue, une huile non volatilité non miscible (minérale ou végétale) contenant un surf actif de faible balance hydrophile lipophile (HLB). L'autre possibilité est de former une émulsion multiple eau dans huile dans eau.

2/La phase aqueuse contenant la molécule hydrophile est ajoutée à la phase organique volatile contenant les polymères sous très forte agitation (son icateur, homogénéisateur haute pression…) pour former la première émulsion eau-dans-huile. Celle-ci est ensuite ajoutée sous faible agitation dans un grand volume d'eau contenant les tensioactifs.

3/Le solvant organique est évaporé ou extrait comme précédemment décrit et les microsphères, lavées, collectées et séchées ou lyophilisées. Cette méthode dite de double émulsion permet d'obtenir de très forts rendements d'encapsulation de molécules hydrophiles telles que les protéines, par exemple. Elle nécessite cependant un contrôle strict, à toutes les étapes, de la température et de la viscosité de l'émulsion interne et n'est appropriée que pour de faibles quantités de matière active à encapsuler **[58]**.

II.7.1.3. Micro encapsulation par gélification de gouttes : Gélification thermique « HOT MELT »

Le principe de ce procédé consiste à dissoudre ou disperser la matière active à en capsuler dans le matériau d'enrobage en fusion puis à émulsionner l'ensemble dans une phase

dispersante à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant (**Figure II.9**).

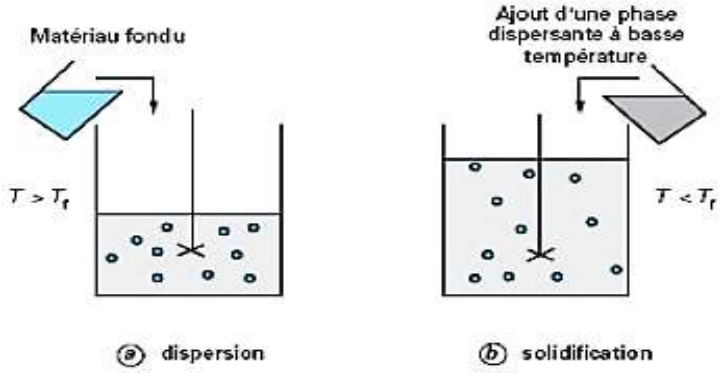


Figure II.8. Schéma de principe du procédé d'encapsulation **[46]**.

On utilise en général, pour le matériau d'enrobage, des lipides de bas point de fusion (cire de Carnauba, alcool cérylique…).Le milieu est ensuite refroidi brutalement a fin de solidifier les particules obtenues. Ce procédé permet la micro encapsulation de molécules hydrophiles et lipophiles si l'on choisit une phase dispersante pour laquelle ces molécules ont peu d'affinité (huile de silicone et eau respectivement). Une technique similaire consiste à utiliser des polymères hydrophiles capables de former des gels lors du refroidissement (gélatine, agarose…) **[58**].

II.7.2.Procédés chimiques

II.7.2.1. Polycondensation inter faciale

Ce procédé qui appartient aux procédés chimiques d'encapsulation consiste à faire réagir deux monomères, l'un dans la phase dispersée, l'autre dans la phase dispersante, afin d'obtenir une membrane de polymère à la surface des gouttelettes formées. Dans le cas d'un principe actif lipophile, la première étape consiste à préparer une solution contenant cette molécule et un premier monomère dans un solvant organique puis de former une émulsion de cette phase organique dans une phase aqueuse contenant un tensioactif.

On ajoute ensuite dans cette phase aqueuse, le second monomère hydrosoluble afin d'induire la réaction des deux monomères à l'interface huile/eau où ils auront diffusé **(Figure II.10).** Les monomères les plus couramment utilisés dans ce cas sont des chlorures d'acide ou des dis cyanates couplés à des diamines conduisant respectivement à des membranes de polyamide ou de polyurie.

Pour un principe actif hydrophile, on forme une émulsion inverse (eau/huile) dans un solvant de température d'ébullition élevée, à partir d'une solution aqueuse contenant le principe actif et le monomère hydrosoluble. Puis le monomère organon-soluble est ajouté dans la phase dispersante.

La taille des microsphères obtenues est comprise entre 0,5 et 100 µm et dépend principalement de l'agitation du système, de la vitesse d'ajout des deux monomères et de la cinétique de diffusion.

La formation et les caractéristiques de la membrane vont dépendre, elles aussi, de la nature et de la concentration en monomères, tensioactifs et solvants **[58]**.

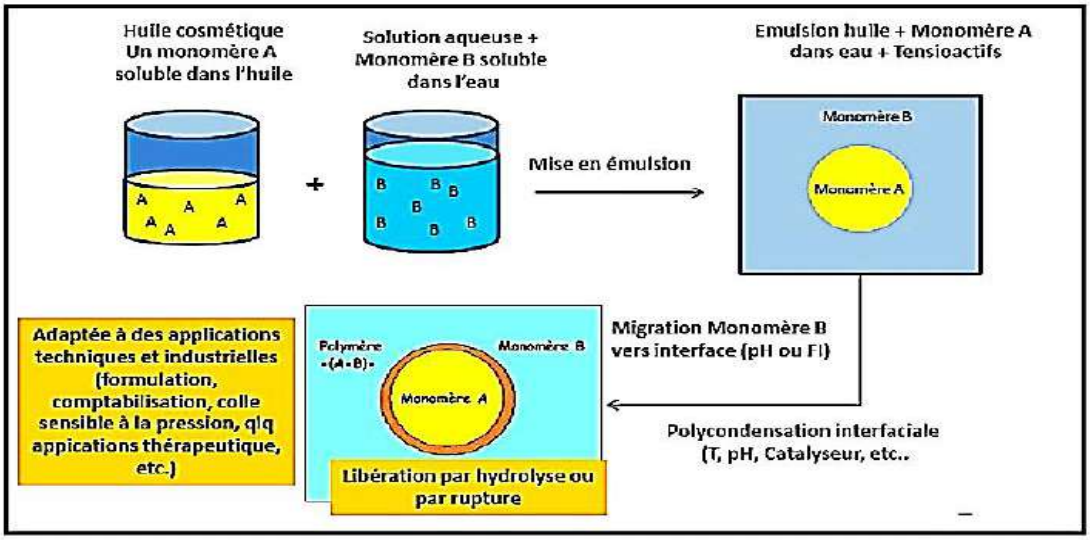


Figure II.9. Procédé d'encapsulation par polycondensation interfaciale.

II.7.2.2. Polymérisation en milieu dispersé

Ces procédés permettent la formation de microparticules à partir de monomères synthétiques du type acrylique, vinylique ou cyanoacrylate d'alkyle. Ils mettent en jeu une phase de formation des particules appelée nucléation suivie d'une phase de croissance donnant lieu à des particules de type matriciel **[58]**.

Deux mécanismes principaux sont à distinguer **:**

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

b. La polymérisation en dispersion : Dans ce cas, la nucléation se fait en phase homogène, les monomères et la matière active étant initialement solubilisés dans la phase continue. La croissance des oligomères suite à la polymérisation amorcée par un initiateur, donne lieu à leur précipitation sous forme d'agrégats stabilisés par les tensioactifs présents dans la phase continue.

La technique de polymérisation en dispersion conduit à des particules de diamètre nettement supérieur à celui des particules obtenues par polymérisation en émulsion(Respectivement 1 à 15 μm et 100 nm à5μm) **[58]**.

II.7.3. Procédés mécaniques

II.7.3.1.Enrobage en lit d'air fluidisé : « spray-coating »

La première étape de cette technique de micro encapsulation consiste à fluidiser une poudre des particules de principe actif (granulés, cristaux…) dans une colonne placée sous un courant d'air ascendant (chambre cylindrique verticale).

Cette fluidisation permet d'assurer un mélange constant des particules avec un transfert de chaleur optimal entre l'air et la surface des particules. Puis, une buse de pulvérisation placée au sommet ou à la base de la suspension fluide permet de disperser, sous forme de fines gouttelettes, le matériau enrobant à la surface des particules. Un en robage continu et homogène s'obtient suite à des passages successifs et cycliques des particules dans la zone de pulvérisation et dans la zone d'expansion où a lieu le séchage.

La formation du film d'enrobage s'effectue au contact des particules après des étapes successives de mouillage, étalement puis séchage par évaporation du solvant contenant les gouttelettes de matériau enrobant. Celui-ci est constitué en général de solutions organiques ou dispersions aqueuses de polymères (dérivés cellulosiques ou acryliques) qui peuvent contenir des plastifiants afin de favoriser la formation du film d'enrobage à la température de séchage ainsi que des additifs (anti-mottant, lubrifiants…). Des corps gras ou des cires peuvent également être utilisés.

L'obtention d'un bon enrobage va dépendre à la fois des paramètres de pulvérisation (concentration de la formulation, débit, taille des gouttelettes) et des paramètres de séchage (volume d'air de fluidisation, température de l'air, degré d'humidité).

L'épaisseur des films d'enrobage déposés sur les particules est généralement comprise entre quelques micromètres et 20 μm et doit être suffisante pour masquer les défauts de surface **[58]**.

II.7.3.2.Nébulisation-séchage : « spray-drying »

La technique d'encapsulation par atomisation est la technique la plus utilisée dans l'industrie alimentaire **[55,59]**.Grâce à ses nombreux avantages. Cette technique a été utilisée pour l'encapsulation des flaveurs pour la première fois dans les années trente avec de la gomme d'acacia comme matrice protectrice **[55]**.

Cette technique comporte d'abord une étape de préparation de la dispersion d'ingrédients actifs dans une solution de biopolymères protecteurs qui peuvent être de la malto dextrine, de l'amidon modifié, une gomme, ou une combinaison de biopolymères**[59]**.Ensuite, la dispersion est homogénéisée pour réduire la taille des particules, puis séchée par atomisation dans une chambre à air chaud soufflé**[60]**.

La taille moyenne des microparticules obtenues par nébulisation-séchage est typiquement comprise entre environ 01µm et 200µm et le taux d'encapsulation est limité à environ 40٪.Les microparticules sont des microsphères, avec une forme sphérique quelque fois perturbée par la présence de défauts ou déformations tels que des caractères ou des structures spongieuses **[46]**.

II.7.3.3. Gélification des gouttes

Elle est basée sur la formulation d'une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymères capables de former des gels sous une action extérieure, physique ou chimique. Dans le cas de l'alginate de sodium, les gouttelettes formées par extrusion à travers une buse vibrante, sont réceptionnées dans une phase aqueuse gélifiante contenant du chlorure de calcium .Elles se transforment instantanément en des microparticules de gel sphérique (**Figure II.11**)**[46]**.

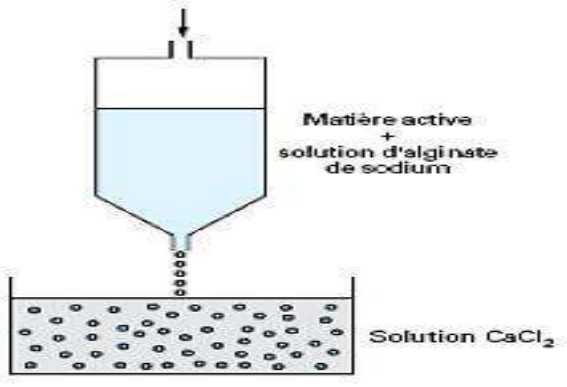


Figure II.10: Gélification de gouttes **[46]**.

II.7.3.4. Congélation des gouttes

Elle consiste à préparer un fond d'un matériau enrobant, généralement un corps dont le point de fusion est compris entre 50 et 120°C, dans lequel la matière active est solubilisée ou dispersée soit sous forme particulière solide, soit sous forme microgouttelettes d'émulsion inverse E/H. Cette préparation fondue et maintenue à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant et extrudée sous pression à travers une busevibrante, le jet fondu est sectionné sous forme de gouttelettes sphériques de taille uniforme.

Ces gouttelettes se refroidissent dans le milieu de chute (air froid, azote.) (**Figure II.12**) **[46]**.

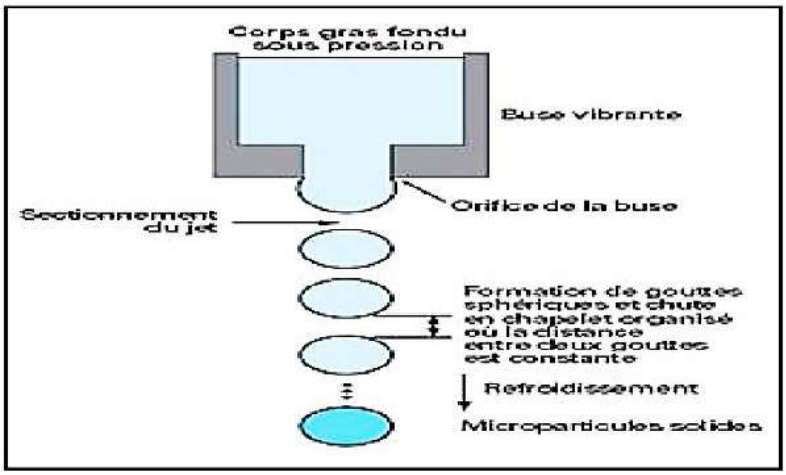


Figure I.11. Congélation de gouttes schéma de principe **[46]**.

II.8. Mécanisme de libération des principes actifs

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

1. Libération par diffusion,

2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion,

3. Libération par dégradation.

II.8.1. La libération par diffusion

La diffusion se produit quand un principe actif traverse le polymère qui forme le système de libération. La diffusion peut se produire à l'échelle macroscopique (à travers les pores de la matrice) ou à l'échelle moléculaire par le passage entre les chaînes de polymères. Les exemples de systèmes de libération par diffusion sont montrés sur la figure II.13.

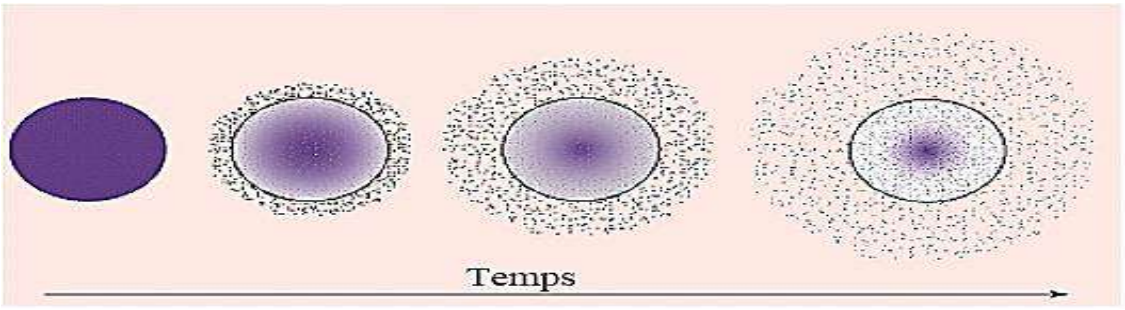


Figure II.12. Libération par diffusion **[61]**.

Dans la figure II.14**,** un polymère et un principe actif ont été mélangés pour former un système homogène, également désigné sous le nom d'un système matriciel. La diffusion se produit quand le principe actif passe de la matrice de polymère dans l'environnement externe. Comme le dégagement est continu, le taux diminue avec ce type de système, puisque le principe actif a progressivement une distance plus longue à traverser et c'est pourquoi il a besoin d'un temps de diffusion plus long pour être libéré **[61]**.

Pour les systèmes réservoir représentés sur les figures II.14a et II.14b, le taux de la libération de principe actif peut rester constante. La seule structure limitant la libération de principe actif est la couche de polymère entourant le réservoir. Puisque le film de polymère est essentiellement uniforme et d'une épaisseur constante, le taux de diffusion de principe actif peut être maintenu stable durant toute la vie du système de libération. Le système montré dans la figure II.14.a est représentatif pour un système de libération (réservoir) injectable ou orale, tandis que le système représenté sur la figure II.14.billustre un système de libération transdermique, dans lequel seulement un coté du dispositif livrera réellement le principe actif **[61]**.

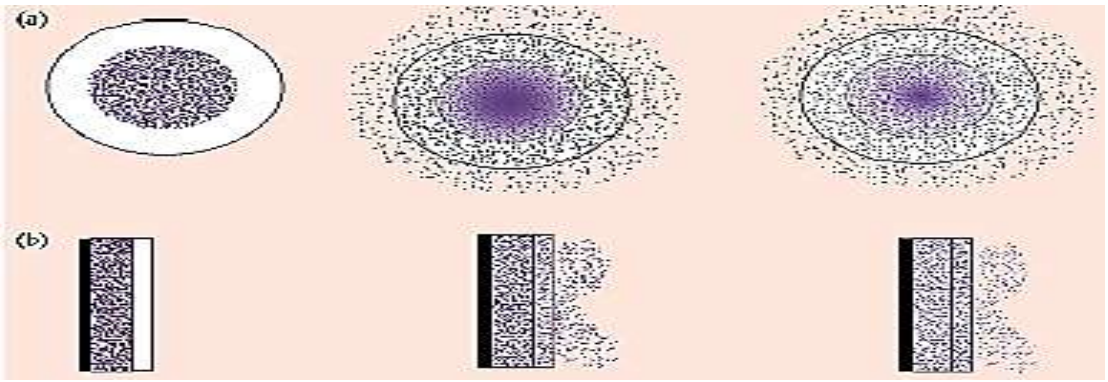


Figure II.13.Mécanisme de libération par diffusion (orale et transdermale) **[61]**.

Pour les systèmes de diffusion contrôlée décrits auparavant, le dispositif de libération de principe actif est fondamentalement stable dans le l'environnement biologique et ne doit pas changer sa taille après la dégradation ou le gonflement. Dans ces systèmes les combinaisons, matrice de polymère et agents bioactifs choisies doivent autoriser la diffusion du principe actif à travers les pores ou la structure macromoléculaire dans l'environnement biologique sans introduire aucun changement dans le polymère lui-même **[62]**.

II.8.2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion

Il est également possible que un système de libération soit conçu de telle sorte qu'il soit incapable de libérer son agent actif jusqu'à ce qu'il soit placé dans un environnement biologique approprié. Les systèmes de libération contrôlée par gonflement sont initialement secs et quand ils sont placés dans le corps, ils absorberont l'eau ou autres fluides du corps et gonfleront. Ces systèmes permettent la diffusion du principe actif à travers le réseau gonflé dans l'environnement externe. Les exemples de ces systèmes sont montrés sur (les figures II.15.a et II.15.b) pour les systèmes réservoir et matriciel respectivement. La plupart des matières utilisées pour ces systèmes sont les hydrogels (absorbent de l'eau ou autres fluides sans être dissoutes **[63]**.

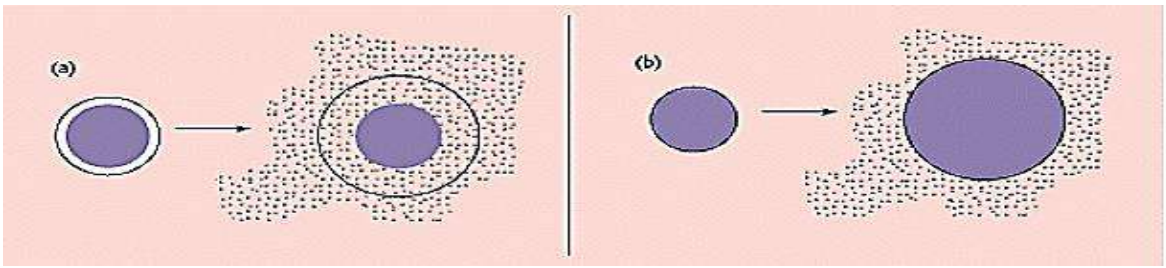


Figure II.14. Libération par gonflement **[63]**.

La capacité du gonflement d'un polymère se manifeste quand ce gonflement peut être déclenché par un changement de l'environnement entourant le système de la libération. Dépendant du polymère, le changement environnemental peut impliquer le pH, la température, ou la force ionique, et le système peut se rétrécir ou gonfler par le changement de l'un de ces facteurs environnementaux **[64]**.

Les schémas de la figure II.16illustrent les changements de base de la structure de ces systèmes sensibles. De nouveau, pour ce type de système, la libération du principe actif est accomplie seulement quand le polymère gonfle. Puisque plusieurs polymères (sensible au PH), potentiellement les plus utiles, gonflent aux valeurs élevées de pH et s'effondrent aux

basses valeurs, la libération de médicament se produit sur une augmentation du pH du milieu extérieur. De tels systèmes sont idéaux pour l'administration orale, dans laquelle le principe actif ne se libère pas au niveau de l'estomac (pH acide) mais plutôt aux valeurs élevées de pH dans intestin supérieur.

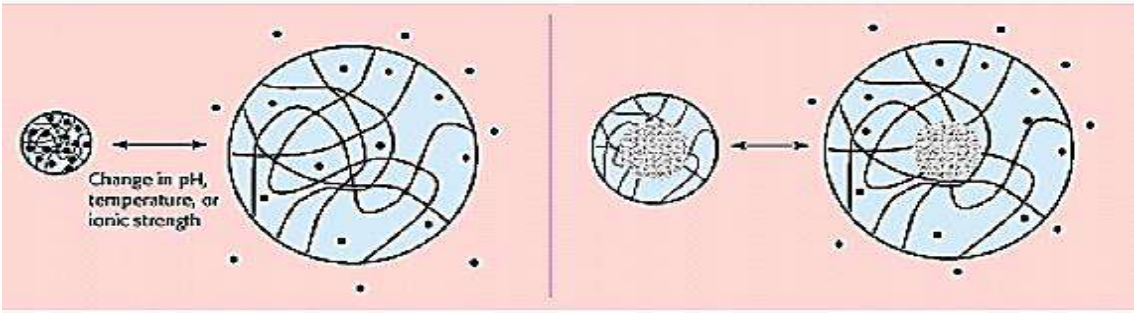


Figure II.15. Libération par gonflement suivi d'une diffusion **[65]**.

II.8.3. Libération par dégradation

La plupart des polymères biodégradables se dégradent par hydrolyse en composés de taille de plus en plus faibles, biologiquement éliminables. Dans certains cas les produits de la dégradation entrent dans un processus métabolique **[52]**.

La dégradation peut s'effectuer selon une hydrolyse en masse (la dégradation est uniforme dans toute la matrice polymère), comme le montre la figure II.17 a.

Pour quelques polymères dégradables, notamment les poly anhydrides et les polyorthoesters, la dégradation se produit uniquement sur la surface du polymère, ayant pour résultat un taux de rejets qui est proportionnel à la surface du système de la libération de principe actif **[65]**.

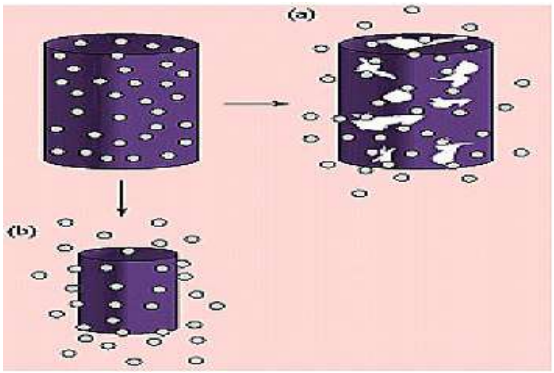


Figure II.16. La libération par dégradation **[65]**.

II.8.4. Paramètres influençant la libération d'un PA

Il est à noter que les principaux paramètres influençant la libération d'un PA encapsulé Sont **[66]**:

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

II.8.5. Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules

La diffusion du PA selon les modes de la cinétique de libération obéit aux allures de (la figure II.18). À partir des microcapsules, on peut obtenir des cinétiques de libération d'ordre 0ou d'ordre 1 (profils A et D), en fonction de la solubilité dans l'eau de la matière active. Les cinétiques d'ordre 0 peuvent être modifiées dans leur phase initiale: soit la vitesse de libération est exagérément marquée en raison de la présence d'un excès de matière active dans la membrane (profil B), soit un temps de latence qui précède la libération, temps nécessaire par exemple pour que le principe actif diffuse à travers la membrane, avant d'atteindre le milieu extérieur (profil C). À partir de microsphères, la cinétique obéissant à la loi d'HIGUCHI (profil E) **[46]**.

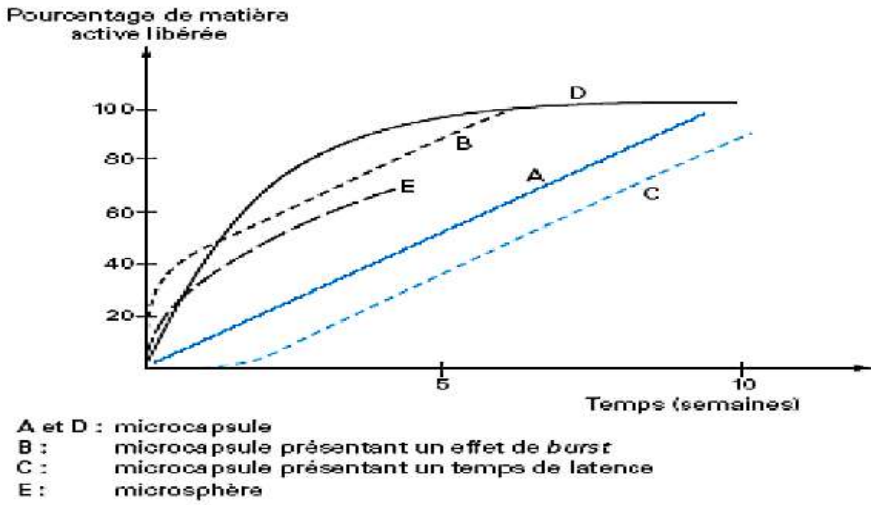


Figure II.17: Profils de libération obtenus à partir de différents Types de microparticules **[46]**

Les microparticules à libération prolongée sont très largement utilisées dans les domaines agroalimentaire et pharmaceutique **[46]**.

II.9. Domaines d'application des microparticules

Les microparticules présentent un très large champ d'applications puisqu'il va du domaine pharmaceutique au domaine alimentaire en passant par la cosmétique, la parfumerie, les produits phytosanitaires, la chimie, le domaine biomédical… Une des premières applications de la micro encapsulation a été le papier autocopiant sans carbone à base de microcapsules d'encre sensibles à la pression [67]**.**

Depuis les années 80, la communication olfactive s'est développée sous forme d'encarts parfumés dans les magazines pour faire connaître un parfum ou un adoucissant. Des encres contenant des microcapsules enferment le parfum et le libèrent au moment opportun. Récemment, le domaine du textile utilise les microparticules pour parfumer les tissus ou déposer sur la peau des actifs cosmétiques.

D'autres applications sont à l'étude comme les répulsifs pour insectes, les colorants, les vitamines, les antimicrobiens ou encore les cristaux liquides. Dans le domaine pharmaceutique, certaines stratégies de délivrance sur site telles que la chimio-embolisation ou l'implantation intracrânienne est spécifique aux microparticules **[67]**.

II.10. Conclusion

L'encapsulation a donné naissance ces dernières années a de nombreux produits commerciaux. C'est une technologie très largement utilisée dans l'industrie. Le développement de méthodes d'encapsulation donne naissance à des structures innovantes permettant d'isoler, de protéger et de structurer des substances.

De manière générale, l'encapsulation peut être définie comme le piégeage d'un ou plusieurs objets au sein d'un matériau en vue de son immobilisation, sa protection, le contrôle de son transfert, sa structuration et sa fonctionnalisation. L'encapsulation peut concerner une grande variété de systèmes, allant de molécules simples à des structures plus complexes comme des cellules. Au sein des microcapsules, les composés peuvent être sous forme d'une solution, d'une suspension ou d'une émulsion.

Dans l'industrie pharmaceutique, les microcapsules sont la plupart du temps utilisés comme vecteurs pour la libération contrôlées de médicaments. Dans les industries textiles, les microcapsules permettent d'encapsuler des parfums ou des teintures, ou même des composes ignifuges dans les textiles militaires.

III.1. INTRODUCTION

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du hall technologique de l'université de Médéa au sein du laboratoire d'analyses physico-chimiques, ainsi qu'au niveau du laboratoire contrôle qualité de la filiale ANTIBIOTICAL-Saidal de Médéa.

Dans le contexte où s'inscrit notre travail, nous avons tenté d'atteindre un objectif, qui consiste à appliquer le procédé de gélification des biopolymères qui est l'Alginate de sodium (ALG) et la gomme xanthane modifie (CMX) pour former des microcapsules comportant le piroxicam(PX) comme principe actif (PA). A cette fin, la partie expérimentale est subdivisée en deux (02) parties :

1. **Préformulation :** Cette partie du travail traite la caractérisation physico-chimique des matières premières utilisées à savoir les biopolymères ALG et CMX, ainsi que le principe actif PX.
2. **Formulation et caractérisation des capsules :** cette partie du travail expérimental a pour objectif la mise au point de la méthode d'encapsulation du PA par l'ALG et le CMX ainsi que la caractérisation physicochimique et biopharmaceutique des capsules obtenues

III.2. MATERIEL ET METHODES

III.2.1.Matériel

Toutes les manipulations ont été réalisées en utilisant des équipements résumés dans le Tableau **III.1.**

Tableau III.1: Matériel utilisé

Matériel	**Marque**
Balance électrique	KERN ALS 220-4N (d = 0.1 mg)
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	OVAN MCG15E
pH-mètre	Sartorius
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier(FTIR)	FTIR-8400 SHUMADZU
Spectrophotomètre UV visible	PerkinElmer
Viscosimètre rotatif	Brookfield
Dissolutest	Sotax AT 7 ID-Nr:16887
Micromètre digital	MDC-25S Mitutoyo

III.2.2. Réactifs utilisés

Tous les réactifs utilisés lors de cette étude sont identifiés par la formule brute, l'origine, et la pureté et résumés dans le tableau **III.2.**

Tableau III.2.Caractéristiques des réactifs utilisés

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

III.3. PREFORMULATION

Cette étape est considérée comme essentielle, elle doit être consacrée à une connaissance parfaite des matières premières utilisée (PX, CMX et ALG). Avant d'entreprendre la mise au point des capsules, il est nécessaire de rassembler un certain nombre de données préalables qui constitueront les bases du développement et guideront les choix ultérieurs. Ces études d'orientation sont particulièrement importantes lors du développement des formes galéniques particulières car la libération du PA est lié autant à des paramètres d'ordre physiologique qu'à des paramètres physico-chimiques prédéterminés.

III.3.1. Principe actif : Piroxicam

Le Piroxicam (PX) est un principe actif anti-inflammatoire appartenant à la famille des oxicams qui sont des anti-inflammatoires non-stéroïdiens AINS.

Il se présente sous forme de poudre cristalline blanche ou légèrement jaune et sa dénomination chimique est : 1,1-DioxydeDe 4-hydroxy-2-méthyl-N-(pyridin-2-yl)-2H-1,2-benzothiazine-3carboxamide. Le tableau III.3, regroupe les spécifications de la pharmacopée européenne [77] pour le Piroxicam.

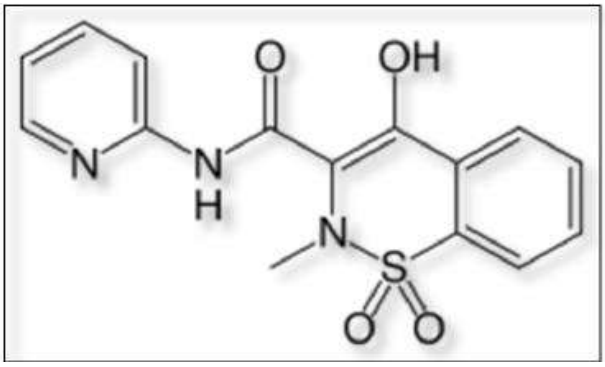


Figure III.1. Formules développée du Piroxicam [68]

- **La formule brute :** $C_{15}H_{13}N_3O_4S$

Tableau III.3. Caractéristiques du PIROXICAM pharmacopée européenne [77]

PIROXICAM		
TESTS	**SPECIFICATIONS**	**RESULTATS**
Spécifications techniques		
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou légèrement jaune	Conforme
Solubilité	Pratiquement insoluble dans l'eau, soluble dans le chlorure de méthylène, peu soluble dans l'éthanol anhydre	Conforme
Identification par Infrarouge	Spectre de l'échantillon est identique à celui de l'étalon de la référence	Conforme
Substance apparentées	Aucune surface représentant les pics secondaires éventuels dans l'échantillon n'est supérieure à celle représentant le pic principale de l'étalon de référence (b)(0,2%)- la somme des surfaces des pics secondaires dans l'échantillon doit être inférieure à 2 fois celle du pic principale de l'étalon (b) (0,4%).	Conforme
Métaux lourds Dosage	≤ 20 ppm	Conforme
Perte à la dessiccation	≤ 0,5 %	0,049
Cendres sulfuriques	≤ 0,1%	0,01
Potentiométrique	98,5 % - 101,0 % en Piroxicam sba	100,05 %

- **Analyse et dosage du principe actif par spectrophotométrie UV-VIS**

a. ***Principe de la spectroscopie UV-VIS :*** La spectrométrie d'absorption moléculaire dans le domaine ultraviolet (UV), de 185 à 380 nm environ, et visible (VIS), de 380 à 800 nm environ, est une technique courante de contrôle et d'analyse de composés chimiques. Elle s'applique à des groupements d'atomes (ex : molécules, ions, polymères) qui absorbent le rayonnement électromagnétique dans le domaine UV-VIS.

L'absorption de la lumière UV-VIS par les molécules se produit, comme pour les atomes, du fait de transitions électroniques entre différents niveaux d'énergie. Un électron à l'état fondamental absorbe des radiations d'une énergie E suffisante pour l'élever à un niveau d'énergie supérieur, l'état excité.

Les longueurs d'onde d'absorption d'une molécule organique dépendent de l'énergie de liaison de ses différents électrons [69].

- La substance à analyser est exposée à une radiation lumineuse de longueur d'onde «λ» déterminée ou variable. Une partie de cette lumière (I_0) est absorbée par cette substance, provoquant de ce fait des changements dans la molécule ; l'autre partie de la lumière est transmise (I). L'absorption de cette radiation est déterminée par la loi de Beer-Lambert donnée par la relation suivante :

$$\mathbf{T} = \frac{\boldsymbol{I}}{\boldsymbol{I_0}} = \boldsymbol{e^{\varepsilon.c.l}} \qquad (3.1)$$

Avec :

I_0 : intensité de la lumière incidente.

I : intensité transmise.

ε : coefficient d'extinction dépendant de la nature de la substance et de la longueur d'onde de la radiation.

C : concentration de la substance analysée (en mol/l).

L : épaisseur traversée (en cm).

T : Transmittance.

D = -log T.

D : absorbance (ou densité optique).

b. Choix de la longueur d'onde : Pour augmenter la précision de l'appareil et limiter l'incertitude sur les mesures, on se place à la longueur d'onde pour laquelle le coefficient d'absorption molaire de la substance est maximaldans le domaine 200 - 600

nm. Donc il faut choisir les longueurs d'onde maximales (λmax = 335 nm pour le milieu acide à pH 1.2 et λmax = 353 nm pour le milieu basique pH 7.4) **[70]**.

c. Interprétation des spectres UV-Visible du Piroxicam : L'étude du spectre ultraviolet du PX a permis de noter deux maximums (335 et242nm) dans des conditions acides (Figure **III.2**, pH 1,2), et trois maximums (353, 286 et 252 nm) en milieu neutre (Figure **III.2** pH 7.4).

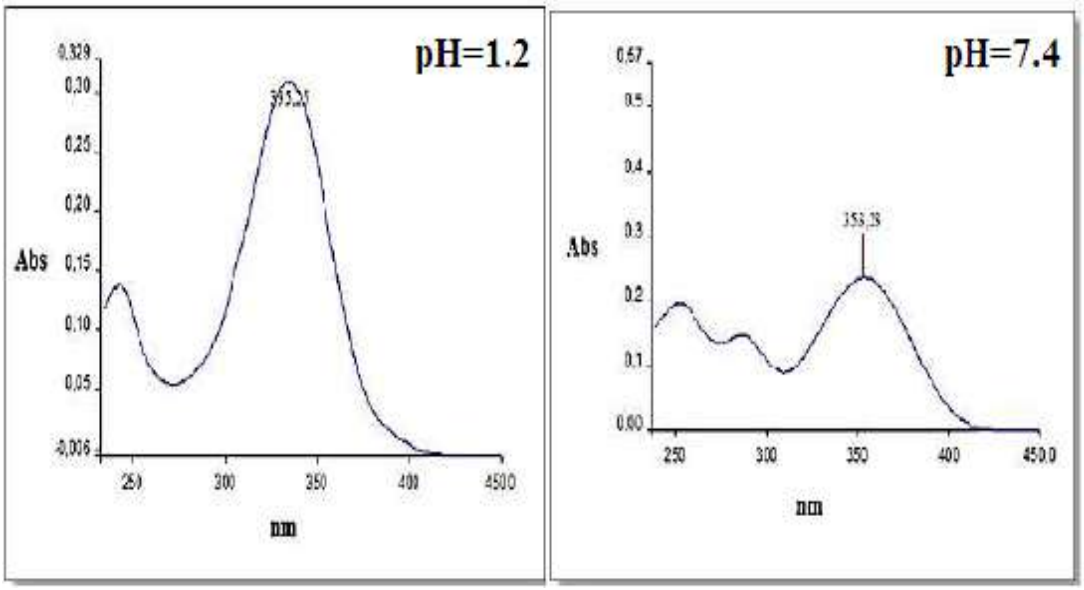


Figure III.2. Spectre UV-Visible du Piroxicam dans des solutions tampons à pH 1,2 et pH 7.4.

d. Détermination de la courbe d'étalonnage : les courbes d'étalonnage du principe actif (PX) pour les deux milieux (pH 1.2 et pH 7.4) sont déterminées par la lecture des densités optiques des solutions de PX à différentes concentration. Pour cela, les étapes suivantes ont été suivies :

- ***Préparation des solutions mères :*** Une pesée de 10 mg de PX (substance de référence) est dissoute dans une fiole jaugée de 100 ml, complétée jusqu'au trait de jauge avec la solution tampon (de pH 1,2 ou pH7.4). Ensuite chacune des solutions est mise sous agitation jusqu'à la solubilité totale du PX.
- ***Préparation des solutions diluées* :**

- ***A pH 1,2 (Solution 1) :*** Dans une fiole de 10 ml, prélever 2.5 ml de la solution mère puis compléter jusqu'au Trait de jauge à 10 ml avec la solution tampon pH 1.2. Le tableau ci-dessous représente les différentes dilutions de la solution 1.

Tableau III.4.Les dilutions de la solution 1 à pH 1,2

Solution 2	**2 ml de la solution 1 + 7.5 ml de la solution tampon**
Solution 3	**1 ml de la solution 1 + 8 ml de la solution tampon**
Solution 4	**0.5 ml de la solution 1 + 9.5 ml de la solution tampon**
Solution 5	**0.25ml de la solution 1 + 9.75 ml de la solution tampon**

- ***A Pour pH 7.4 (*Solution 1):**Dans une fiole de 10 ml, prélever 2 ml de la solution mère puis compléter jusqu'au trait de jauge à 10 ml avec la solution tampon pH 7.4. Le tableau ci-dessous représente les différentes dilutions de la solution 1.

Tableau III.5. Les dilutions de la solution 1 à pH 7.4

Solution 2	**1ml de la solution 1 + 9ml de la solution tampon**
Solution 3	**0.5ml de la solution 1 + 9.5ml de la solution tampon**
Solution 4	**0.25ml de la solution 1 + 9.75ml de la solution tampon**

- Mesurer la densité optique (DO) pour chaque concentration à λ =353 nm.et λ=335nm
- Tracer la courbe d'étalonnage représentant DO = f(c).

Les résultats sont représentés dans **(**la figure **III .3.4**)

e. Préparation des solutions tampons

- **Préparation de la solution tampon pH=1,2 à base de KCl 0.2M et HCl0.2M *:***25ml de la solution de chlorure de potassium à 0.2 M sont mélangées avec 42.5ml de la solution d'acide chlorhydrique à 0.2M, puis on complète à l'eau distillée jusqu'à 200 ml. On ajuste le pH avec une solution d'acide chlorhydrique à 0.2M jusqu'à la valeur de 1.2 [75].
- **Préparation de solution tampon pH 7.4 *:*** Dissoudre2.3156 g de sodium dihydrogeno phosphateanhydreet4.3582 g de disodium hydrogenophosphateanhydredans 800 ml d'eau distillée. Compléter le volume à 1000ml à l'aide d'eau distillée. Le pH de la solution finale est ajusté avec une solution d'acide phosphorique ou une solution de NaOH à 0.1M [71].

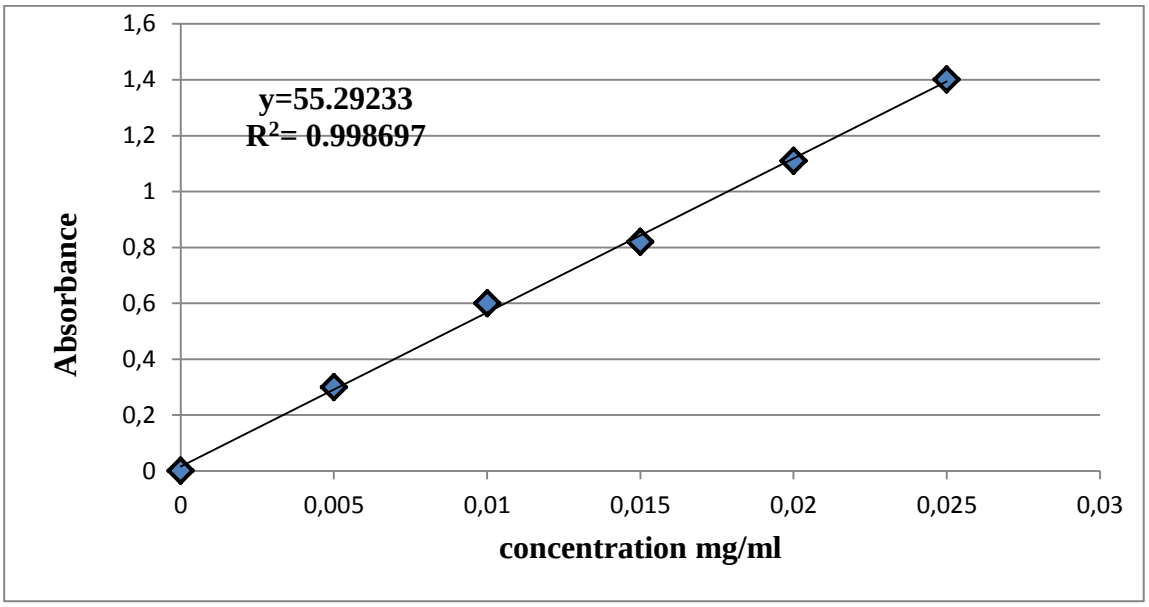


Figure III. 3. Courbe d'étalonnage du Piroxicam à pH =1.2 (335nm)

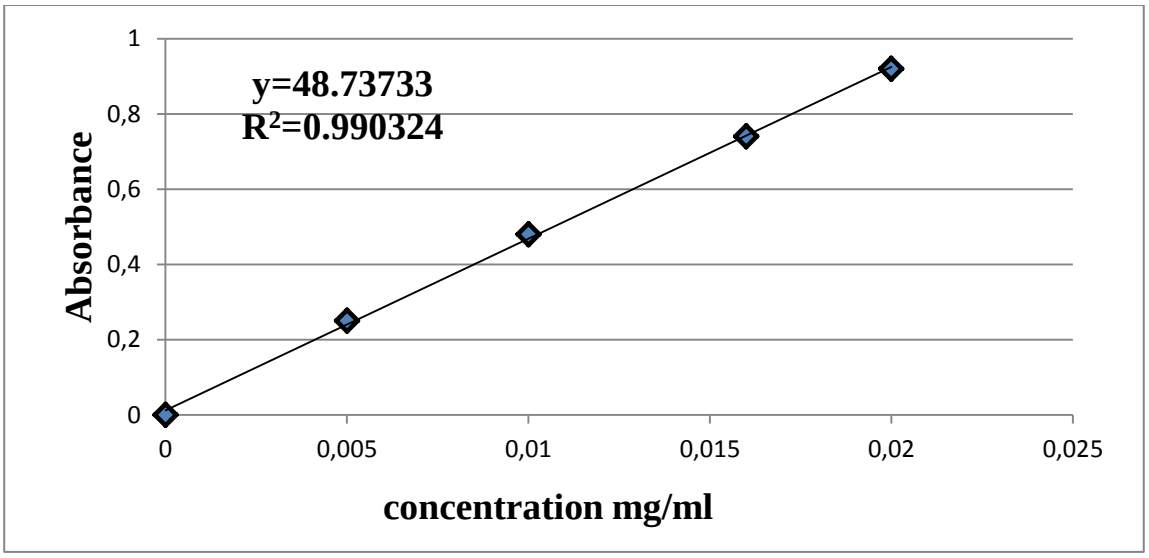


Figure III.4. Courbe d'étalonnage du Piroxicam à pH =7.4 (353nm)

Le Tableau **III.6**.Résume les résultats obtenus des courbes d'étalonnage à savoir les équations des droites d'étalonnage et les coefficients de corrélation correspondants.

Tableau III.6. Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage du piroxicam

Milieux de dissolution	Longueur d'onde optimale (nm)	Equation de la droite d'étalonnage	Coefficients de corrélation R^2
Milieu Tampon pH 1.2	335	y=55.29233x	0,998597
Milieu Tampon pH 7.4	353	y=48.73733x	0,990324

On remarque que les courbes présentent une excellente linéarité avec des coefficients de corrélation R^2 > 99% dans les deux milieux pH 1.2 et pH 7.4.Ces mêmes courbes vont donc être utilisés pour l'évaluation de la cinétique de libération du Piroxicam dans les deux milieux.

III.3.2.Les Biopolymères

3.2.1. Alginate de Sodium (ALG)

a. Formule chimique : $(C_6H_7NaO_6)_n$

- **Synonymes :**Polymannuronate sodique, calginate
- **Dénomination commerciale :** E401
- **Masse molaire :** 380 000 $g.mol^{-1}$
- **Point de fusion :** >300 °C
- **Aspect :** poudre blanche légèrement jaunâtre, pratiquement inodore, sans goût
- **Solubilité :** Pratiquement insoluble dans l'éthanol, l'éther, le chloroforme, les solvants organiques et les solutions acides aqueuses dont le pH est inférieur à 3. En présence d'eau, il forme une solution colloïdale.

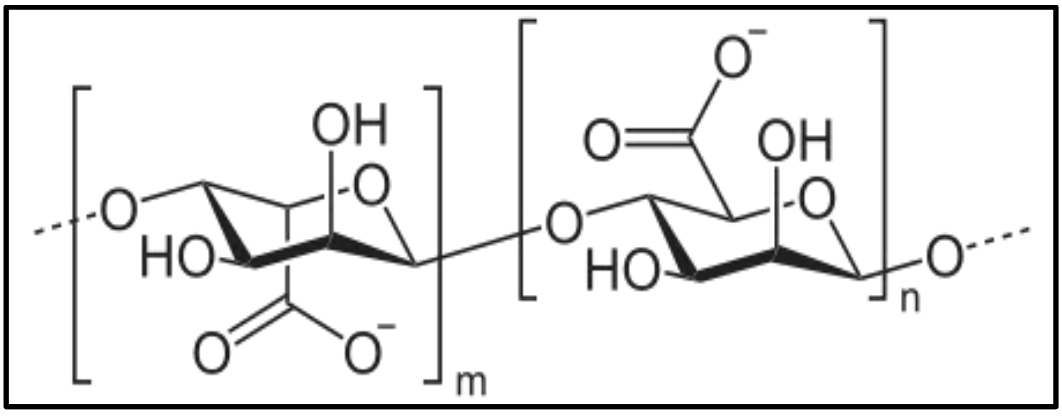


Figure III.5. Structure chimique de l'Alginate de sodium(ALG)

- **Données sécurité-toxicité :** L'ALG est décrite comme non toxique, cependant une consommation excessive par voie orale peut devenir dangereuse. De plus une inhalation trop importante peut conduire à des problèmes respiratoires. La dose létale 50 chez le rat par voie orale est de : plus de 5 g/kg ; chez le rat par voie intraveineuse (IV) : 1 g/kg ; chez le lapin par voie IV : 0,1 g/kg ; chez la souris par voie IV : 0,2 g/kg ; chez le chat par voie IV : 0,25 g/kg.

b. Viscosité : La viscosité d'une solution d'alginate dépend essentiellement du volume hydrodynamique des chaines polymères. Ainsi, elle varie fortement en fonction de la longueur moyenne des chaines (masse molaire) et des conditions opératoires (solvant, température, force ionique) qui ont une influence à la fois sur la conformation et la flexibilité des chaines.

Les mesures de la viscosité des solutions d'ALG dans le chlorure de sodium (NaCl 0.1M)à différentes concentrations(allant de 0,5% (p/v) à 3% (p/v)) ont été réalisées par un viscosimètre rotatif (**Figure III.6**), de tige SP3à température ambiante, à une vitesse de cisaillement de60 tr/min. Ce test consiste à étudier la variation de la viscosité en fonction de différentes concentrations d'alginate ALG.

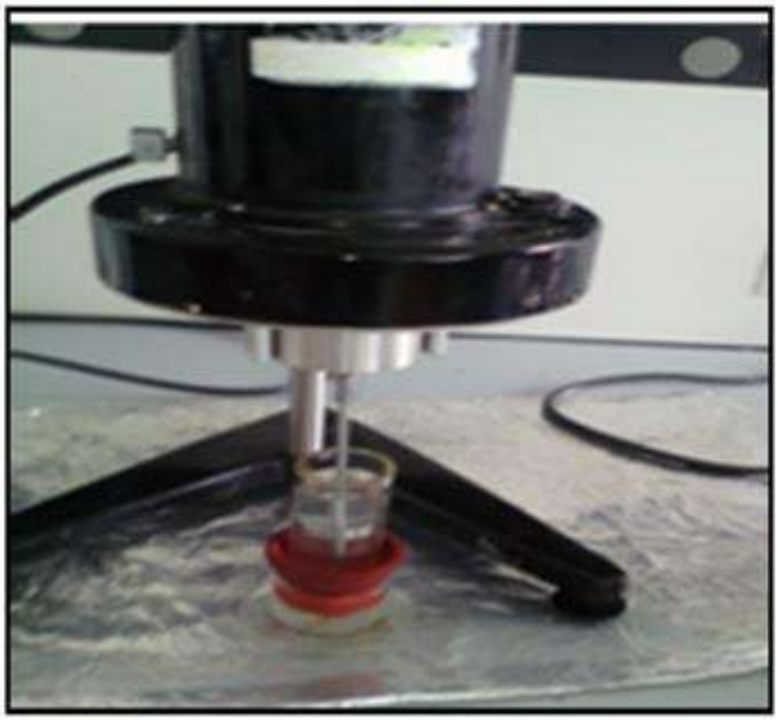


Figure III.6. Viscosimètre rotatif (Brookfield).

Les résultats des mesures de la viscosité des solutions d'ALG sont représentés dans le tableau **III.7.**

Tableau III.7. Résultats des mesuresde la viscosité des solutions d'ALG

Concentration en ALG en %(p/v)	0.5	1	1.5	2	2.5	3
Viscosité (Pa.s)	0.022	0.086	0.176	0.580	1.205	2.93

Les résultats obtenus (**Figure III.7**) montrent que la viscosité apparente augmente en fonction de la concentration.

Ces résultats nous ont conduits à limiter l'utilisation de l'ALG à des concentrations allant de 0,5% (p/v) à 2% (p/v), car au-delà de cette concentration, la solution d'ALG devient hautement visqueuse et donc l'obtention de capsules dans notre travail antérieur se révélera impossible. En effet, à l'extrusion de la solution d'ALG au travers une seringue à des concentrations supérieure à 2% est impossible à réaliser

.

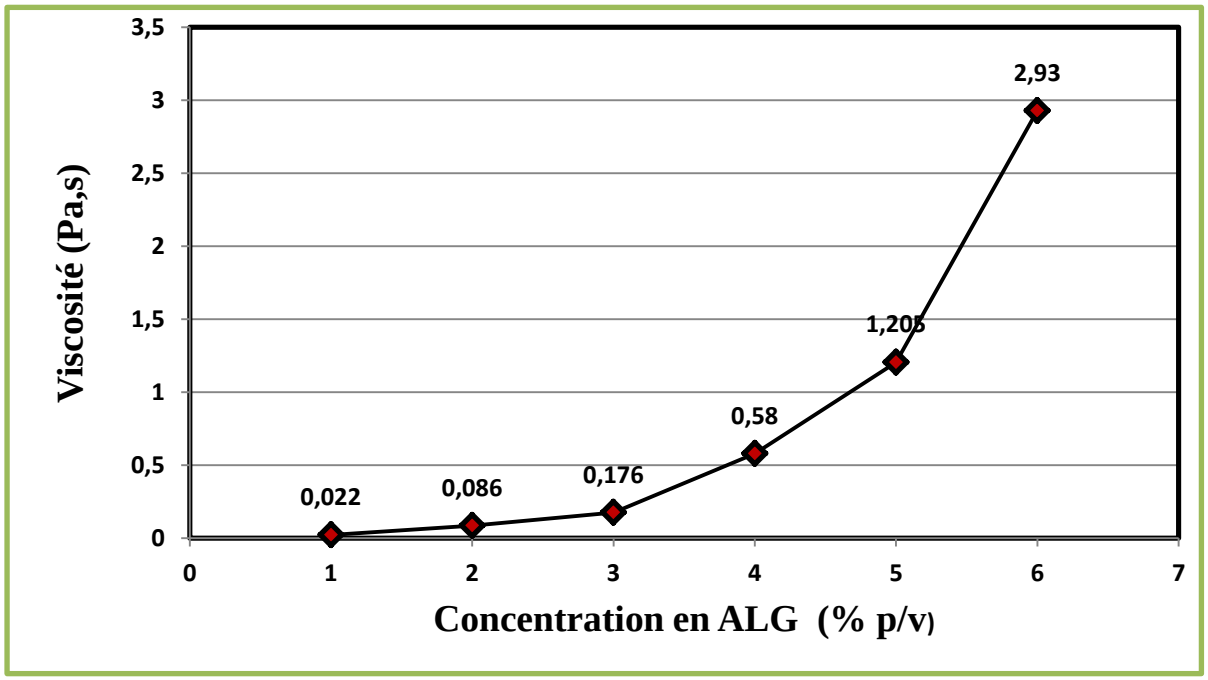


Figure III.7. Courbe de viscosité en fonction de concentration

c. Détermination du pH

Le pH est un nombre qui représente conventionnellement la concentration en ions hydrogène ou hydronium d'une solution aqueuse. La détermination patentions métrique du pH est effectuée par mesure de la différence de potentiel entre 2 électrodes plongeant dans la solution à examiner, l'une de celles-ci est une électrode sensible aux ions hydrogène (le plus souvent, une électrode en verre) et l'autre une électrode de comparaison (de référence).



Figure III.8. PH-mètre (Sartorius)

- ***Mode opératoire :*** La mesure du pH des solutions d'ALG dans l'eau distillée à différentes concentrations (allant de 0,5% (p/v) à 3% (p/v)) est réalisée à température ambiante. Le pH est mesurée à l'aide d'un pH mètre (Sartorius), en suivant les étapes suivantes :
  - ❖ Rincer l'électrode du pH mètre avec de l'eau distillée.
  - ❖ Calibrer l'appareil avec les solutions tampons de pH différents.
  - ❖ Rincer l'électrode du pH mètre avec de l'eau distillée.
  - ❖ Plonger l'électrode dans la solution à examiner et effectuer la lecture dans les mêmes conditions que pour les solutions tampons.
  - ❖ Effectuer toutes les mesures à la même température (20 °C à 25 °C).
  - ❖ Lire la valeur du pH indiquée dans l'écran du pH mètre.
  - ❖ Rincer l'électrode et plonger la dans la solution de garde (solution de KCI à 1%).

Les valeurs de pH obtenues sont représentées dans le tableau suivant:

Tableau III.8. Résultats des mesuresdu pH des solutions d'ALG

Concentration en ALG en % (p/v)	0,5	1	1,5	2	2,5	3
pH	7.57	7.79	7.93	8.00	8.5	8.13

On remarque, d'après les résultats obtenus que les valeurs de pH des solutions d'ALG varient entre 7.57 et 8.13, avec une légère augmentation en fonction de l'augmentation de la concentration en ALG.

d. Identification par FTIR : Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 8 cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 128.Les résultats sont donnés par **(La Figure III.9).**

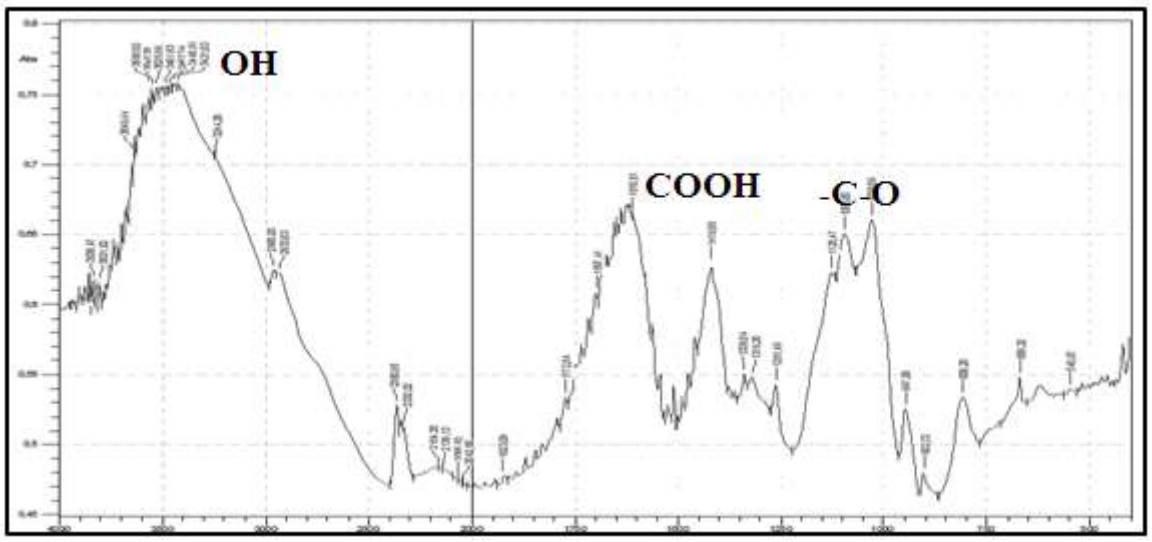


Figure III.9. Spectre FTIR de l'Alginate de sodium (ALG)

L'analyse de la figure III.9nous renseigne sur les caractéristiques de base de la molécule d'ALG. Les principaux pics distinctifs sont apparents à 3421.63 cm^{-1} due à la vibration d'élongation du groupe -OH [72]. Les deux bandes à 1610.61 cm^{-1} et 1419.66 cm^{-1} sont spécifiques des vibrations d'élongation du groupement –COOH. L'une est la vibration d'élongation symétrique (1419.66 cm^{-1}), l'autre la vibration d'élongation asymétrique (1610.61cm^{-1}) [72]. Les bandes à 1095.60 cm^{-1} et 1028.09 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation du groupement –C-O des acides uroniques G et M [72]

III .3.2.2. La gomme xanthane

La gomme xanthane est un polyoside anionique de masse moléculaire élevée produit par fermentation des glucides par la *xanthomonascampestris.* Elle se compose d'une chaine principale constituée d'unités D-glucose liées par des ponts glycosidiquesβ(1→ 4), une unité d'anhydroglucose sur deux porte une chaine latérale triosidique constituées d'un résidu acid eglucuronique compris entre deux unités mannose. La plupart des unités terminales contiennent un groupement pyruvate et l'unité mannose adjacente à la chaine principale peut

être acétylée en C-6**[68].**Sa masse moléculaire relative est voisine de 10^6. Elle existe sous la forme de sel Sodique, potassique ou calcique.

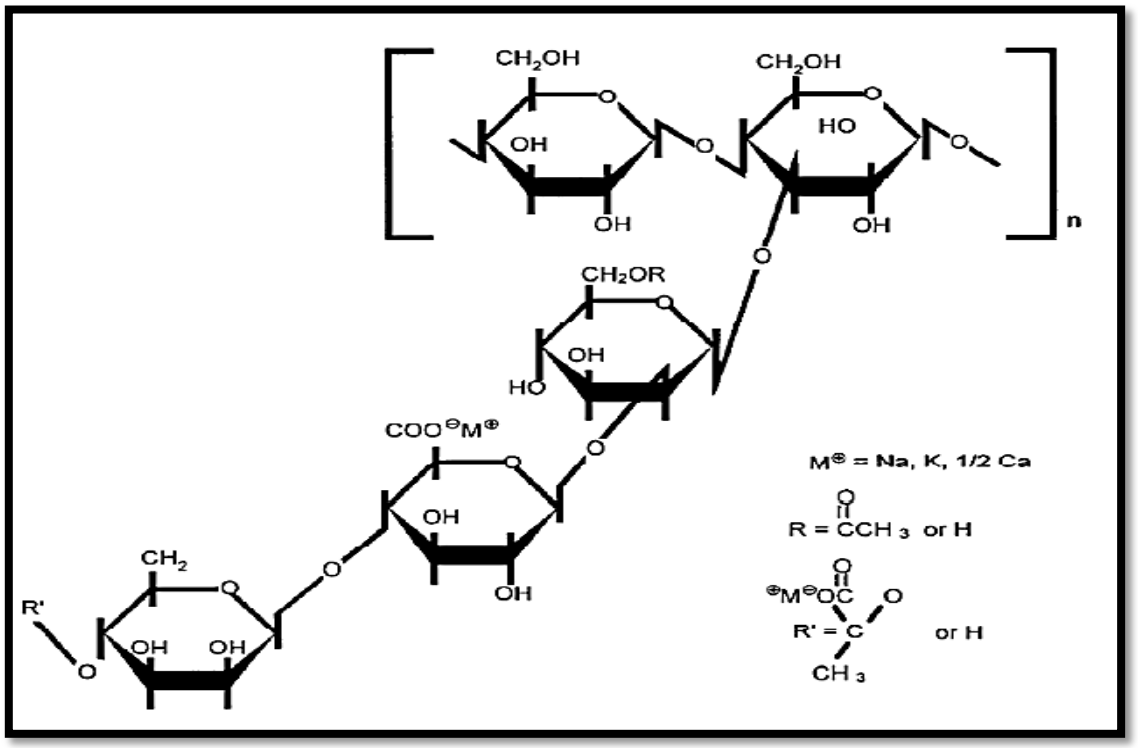


Figure III.10. Structure chimique de la gomme xanthane

La gomme xanthane utilisée pour cette étude (GX) a été fournie par Polypharma. Elle répond aux spécifications de la monographie de la [73], par rapport à laquelle sont comparées toutes les caractéristiques physicochimiques réalisées et qui sont résumées dans le Tableau III.9**.**

Tableau III.9. Caractéristiques de la gomme xanthane [73]

GOMME XANTHANE		
TESTS	**SPECIFICATION**	**RESULTATS**
Aspect	Poudre blanche ou blanc-jaune, à écoulement fluide.	Conforme
Solubilité	Soluble dans l'eau en donnant une solution fortement visqueuse, pratiquement insoluble dans les solvants organiques.	Conforme
Identification chimique	-Apparition d'une turbidité blanche dans la solution d'hydroxyde de baryum. -formation d'un gel caoutchouteux solide en mélange avec de gomme de caroube R.	Conforme
pH	6,0 à 8,0	7,28
2-propanol	≤ 750 ppm	Conforme
Autres polyosides par CCM	Présence de 02 bandes correspondant aux bandes due au glucose et au mannose dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin.	Conforme
Perte à la Dessiccation	≤ 15 %	5,79
Cendres totales	6,5 % à 16 %	6,64
Contamination microbienne :		
Germes aérobies viables totaux	≤ 1000 UFC/g	30
Levures et Moisissures	≤ 100 UFC/g	00
Escherichia coli	Absences	Conforme
Dosage de l'acide pyruvique par UV	≥ 1,5 %	2,12
Viscosité apparente	≥ 600 m Pas	1620

a. Modification de la gomme xanthane (Obtention du Carboxymethylxanthane, CMX) [74]

- Dans un erlenmeyer, une prise d'essai de 5 g de xanthane est suspendue dans 100 ml d'éthanol sous agitation magnétique pendant 40 min à température ambiante ;
- On introduit dans la dispersion précédente une solution de NaOH à 16 N à raison de 1 ml chaque 15 min sous agitation magnétique.
- On ajoute graduellement au mélange réactionnel la quantité nécessaire de réactif (L'acide monochloroacétique : AMCA) correspondant aux rapports molaires polymère/Réactif égale à4.
- Le mélange réactionnel est ensuite chauffé à une température de 50 °C pendant 04 heures.

- Le produit obtenu sous forme de suspension dans le milieu réactionnel est extrait par filtration sous vide et le résidu est lavé 02 fois avec un mélange hydroalcoolique contenant de l'éthanol à 80 %, puis neutralisé avec l'acide acétique et rincé à nouveau avec de l'éthanol pur pour s'assurer une dernière fois de la neutralité.
- Enfin, sécher le produit à 70 °C pendant 24 heures et pulvériser dans un mortier, c'est le carboxyméthylxanthane (CMX)**.**

b. Etude de la viscosité : La viscosité d'une solution la gomme xanthane dépend essentiellement du volume hydrodynamique des chaines polymères. Ainsi, elle varie fortement en fonction de la longueur moyenne des chaines (masse molaire) et des conditions opératoires (solvant, température, force ionique) qui ont une influence à la fois sur la conformation et la flexibilité des chaines.

Les mesures de la viscosité des solutions de CMX dans du chlorure de sodium (NaCl 0.1M) à différentes concentrations (allant de 0,5% (p/v) à 3% (p/v)) ont été réalisées par un viscosimètre rotatif de tige SP3à température ambiante, à une vitesse de cisaillement de60 tr/min. Ce test consiste à étudier la variation de la viscosité en fonction de différentes concentrations de CMX.

Tableau III.10. Résultats des mesures de la viscosité des solutions CXM

Concentration de CMX en %(p/v)	2.5	5	7.5	10	12.5	15
Viscosité (Pa.s)	0.009	0.014	0.026	0.0366	0.058	0.070

Les résultats obtenus (Figure 3.11) montrent que la viscosité apparente augmente en fonction de la concentration. Ces résultats nous ont conduits à limiter l'utilisation de CMX à des concentrations allant de 2.5% (p/v) à 5% (p/v), car au-delà de cette concentration, la solution CMX devient hautement visqueuse et donc l'obtention de capsules dans notre travail antérieur se révélera impossible. En effet, à l'extrusion de la solution de CMX au travers une seringue à des concentrations supérieure à 5% est impossible à réaliser.

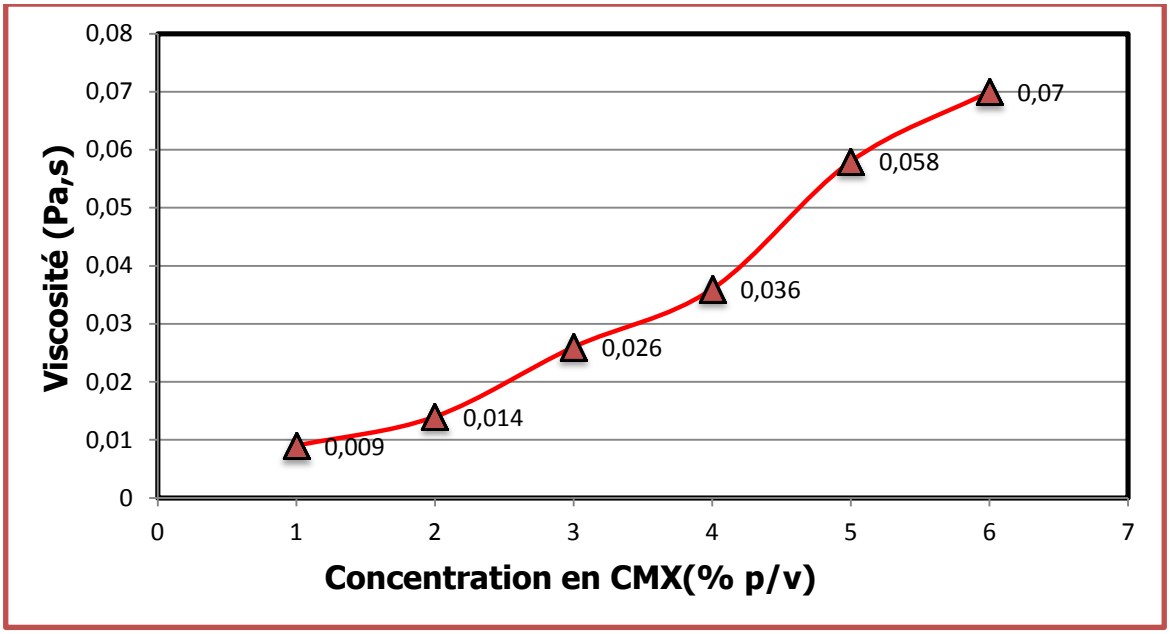


Figure III.11. Variation de la viscosité en fonction de la concentration enCMX

c. Détermination du pH : On remarque, d'après les résultats obtenus (Tableau III.11) que les valeurs de pH des solutions de CMX varient entre 7.86 et 8.39, avec une légère augmentation en fonction de l'augmentation de la concentration en CMX.

Tableau III.11. Résultats des mesures du pH des solutions de CMX

Concentration en CMX en % (p/v)	2.5	5	7.5	10	12,5	5
pH	7.86	7.94	8.11	8.20	8.27	8.39

d. Identification par FTIR : L'analyse FTIR (Figure III.12) a confirmé la modification de la gomme xanthane par l'apparition du pic à 1325 cm^{-1} relatif à l'élongation de la liaison C-O-C. On remarque également l'augmentation de l'intensité des pics à 1049 cm^{-1} et 1600 cm^{-1} pour les CMX, correspondant respectivement de l'apparition de nouvelles liaisons éther et de l'augmentation de la fraction de groupement COOH [75,76]. La disparition du pic à 1700cm^{-1} est le résultat de la des acétylation qui est la conséquence du traitement acido-basique avec l'acide monochloroacétique et de la solution concentrée (16N) d'NaOH.

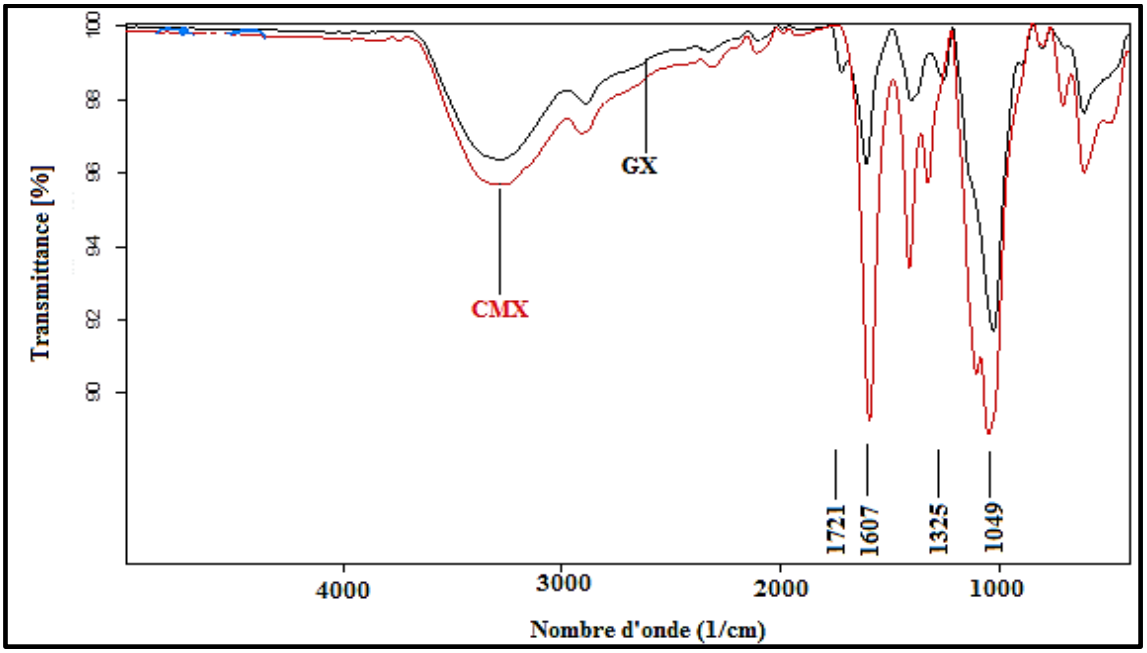


Figure III.12. Spectres FTIR du xanthane natif (GX) et du carboxymethylxanthane (CMX)

III.4.Formulation des capsules

La formulation est l'art de sélectionner qualitativement et quantitativement les principes actifs et les excipients (nature chimique, état physique, caractères organoleptiques) en fonction de la forme galénique et des opérations pharmaceutiques conduisant à un produit formulé.

III.4.1.Principe de la formulation des capsules à base d'ALG et de CMX

Le principe consiste à faire tomber goutte à goutte la solution polymérique contenant le mélange d'ALG et de CMX dans un bain ou est réalisée la gélification des gouttes. Une solution de 2% d'ALG ou de CMX est mélangée au principe actif (PX) à encapsuler. Le mélange ainsi obtenu est extrudé goutte à goutte dans une solution de $CaCl_2$ à1M pour L'ALG et d'$AlCl_3$ à 5%M pour le CMX. Les capsules obtenus sont laissés dans la solution de $CaCl_2$ et Alcl3 pendant 1heure, puis filtrés et lavés avec de l'eau distillée et enfin laissés sécher à l'air libre. En générale, les capsules formés sont sphériques et de taille homogène. Leur taille peut varier selon l'évolution de la technique de 100µm à 300µm.

- ***Mode opératoire :***

- Peser une masse de polymère (ALG, CMX) sur une balance analytique de précision et la faire dissoudre dans 50 ml de NaCl à 0.1Mafin d'obtenir des concentrations en biopolymère de l'ordre de 2%.

- Mettre le mélange sous agitation magnétique à 500 tr/min jusqu'à dissolution complète du biopolymère.
- Introduire 0.5g de PX dans le mélange de biopolymère sous agitation magnétique à 500 tr/min à température ambiante pendant 1 heure.
- Remplir une seringue de 10ml par la solution de biopolymère.
- Faire l'extrusion de la solution de biopolymére goutte à goutte à travers l'orifice d'une seringue de diamètre 0.8mm à une distance de 5cm d'un cristallisoir à un débit de 1ml/ min.
- Le cristallisoir contient une solution d'AlCl3 à 5% (Pour la solution de CMX) ou $CaCl_2$à 1% (Pour la solution d'ALG) sous agitation magnétique à 100tr/min pendant 1heures.
- Filtrer les capsules formées sur papier filtre Wattman (0.45µm).
- Laver les capsules à l'eau distillée trois fois afin d'éliminer les résidus de sels de la surface.
- Des capsules sont préparées à blanc (sans PX) en parallèle pour compléter la caractérisation.
- Laisser sécher les capsules à l'air libre pendant 24h

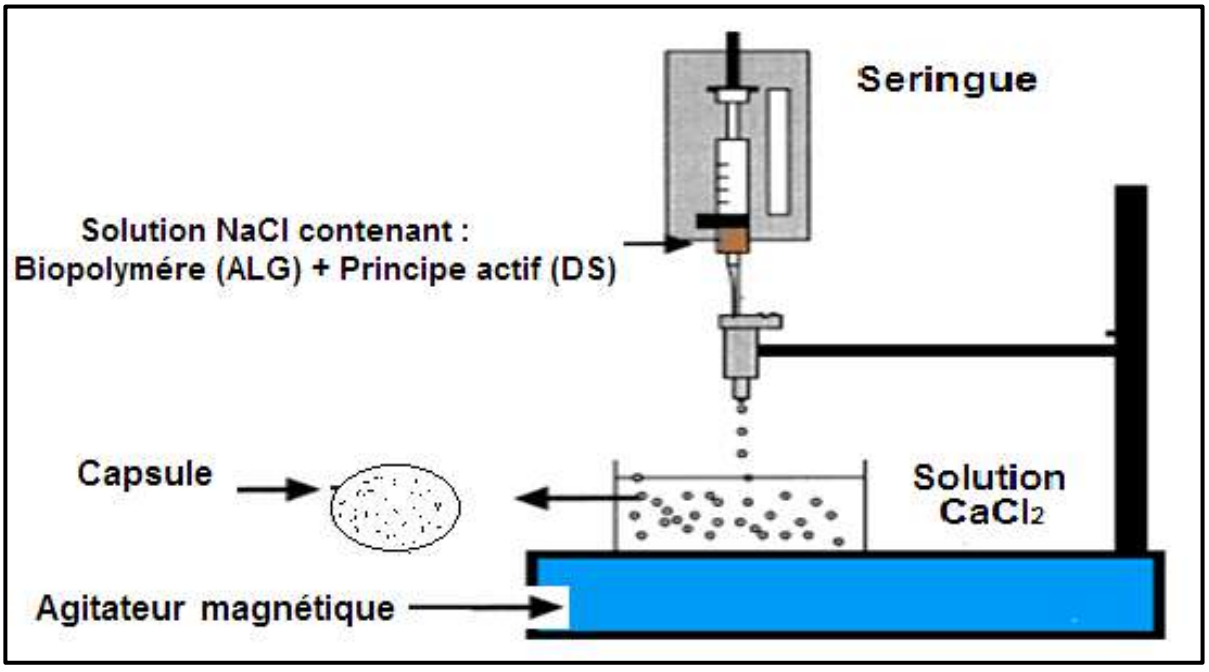


Figure III.13. Schéma du dispositif pour la préparation des capsules.

III.4.2.Caractérisation des capsules

III.4.2.1. Morphologie des capsules humides et sèches

Les capsules obtenue ont une forme sphérique a l'état humide, mais après le séchage Les capsules sont dépourvues d'eau et s'allonge légèrement. Dès qu'on les remet dans un Milieu aqueux, les capsules regonflent et reprennent leurs formes initiales (**Figure III.14).**

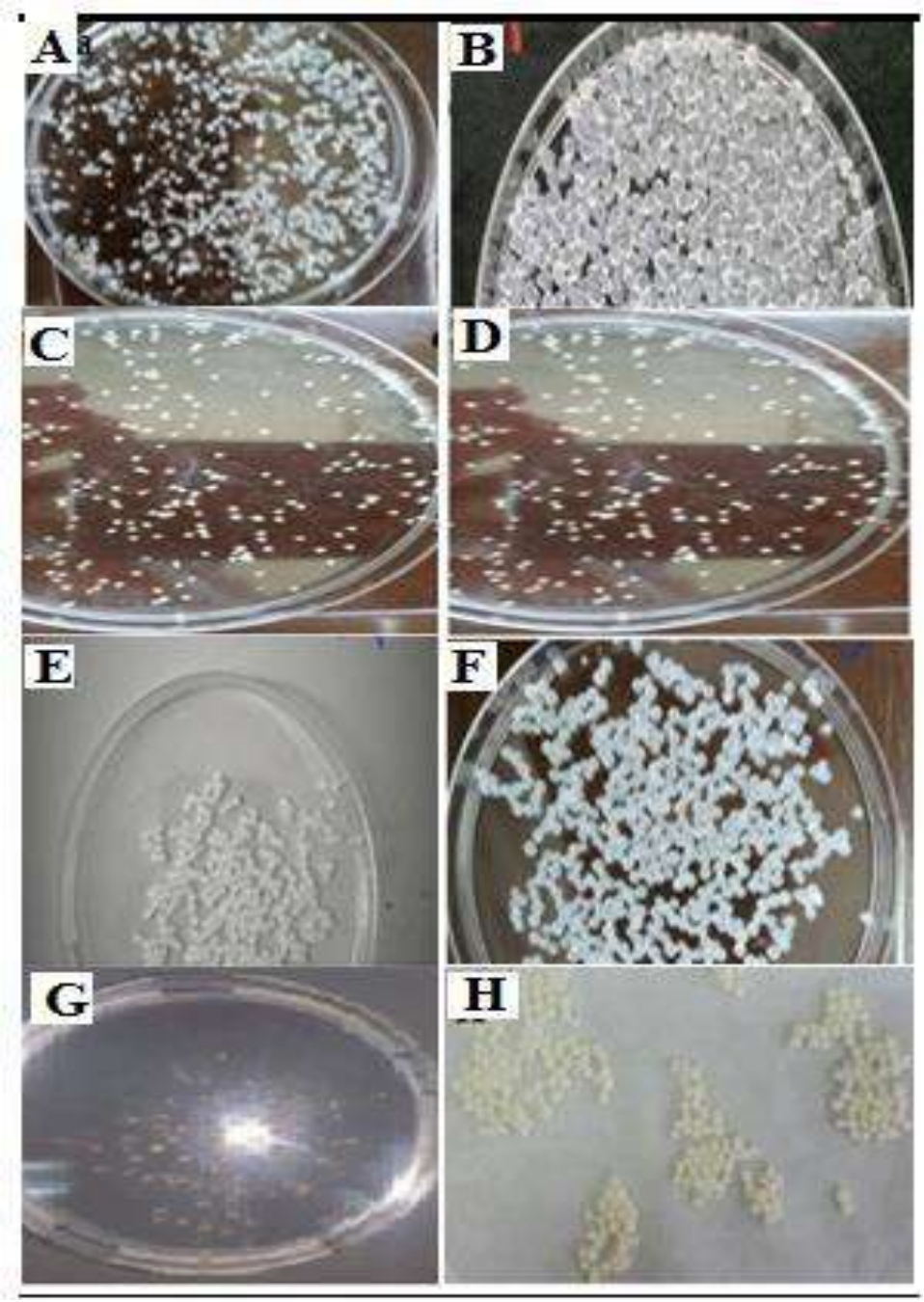


Figure III.14. Formes et aspect des capsules formulés à différentes concentration en CMX : **(a ,B)**: capsules à100% (p /v) sèche et humide respectivement**,(C D)**: capsules à(50% Alg,50%CMX) (p /v) sèche et humide respectivement ,**(E,F)**:capsules à(100%Alg)(p /v) sèche et humide respectivement, **(G,H)**: capsules à(75%Alg,25%CMX)(p /v)sèche et humide.

III.4.2.2. Analyse granulométrique des capsules

La taille des capsules obtenues est mesurée par un micromètre digital ayant une précision de 0.001mm [77]. Un choix au hasard de trois (03) séries de capsules contenant 20 capsules à chaque analyse est réalisé. Une analyse statistique de la moyenne et du coefficient de variation sont effectués sur chaque série d'analyse effectuée.

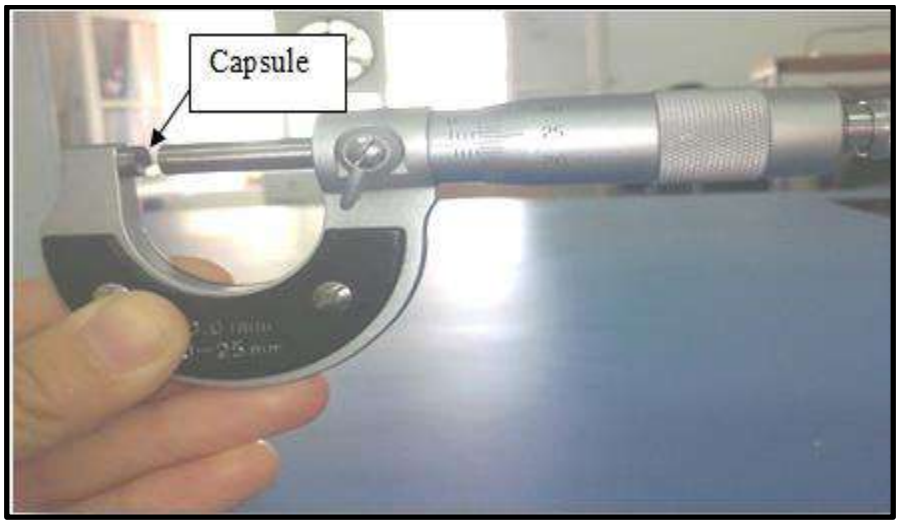


Figure III.15. Mesure de la taille des capsules par un micromètre digital

Les résultats de mesures obtenus sont résumés dans le tableau III. 12.

Tableau III. 12. Taille des capsules obtenues à différentes concentrations en ALG.et CMX

Capsules avant séchage			
N° Formule	**Conc. Reticulant(p/v)**	**Diamètre moyen (µm)**	**CV*(%)**
F1 : (100% ALg)	$CaCl_2$ (1%)	200.66	2.90
F2 : (75%Alg+25%CMX)	$CaCl_2$ (1%)	200	3.84
F3 : (50%Alg+50%CMX)	$CaCl_2$ (1%)	210.76	4
F4 : (100% CMX)	$AlCl_3$(5%)	257.40	3.16
Capsules après séchage			
N° Formule	**% ALG (p/v)**	**Diamètre moyen(µm)**	**CV*(%)**
F1 : (100% ALg)	$CaCl_2$ (1%)	100.33	1.58
F2 : (75%Alg+25%CMX)	$CaCl_2$ (1%)	67.73	0.465
F3 : (50%Alg+50%CMX)	$CaCl_2$ (1%)	24.73	0.486
F4 : (100% CMX)	$AlCl_3$(5%)	62.50	0.46

* CV : coefficient de variation.

L'analyse des données montre que la dimension des capsules varie d'une formule à l'autre selon la concentration en ALG et en CMX. Après séchage des capsule, leurs formes est réduite et devient plus petites et plus ou moins sphériques avec des diamètres allant de 135.65µm pour la formule F1 (100 %d'ALG) à 100.33µm pour la formule F4 (100%CMX).

La figure III.16illustre les diamètres des capsules avant et après leur séchage. L'analyse statistique des données montre une variation uniforme de la dimension des capsules traduite par des résultats reproductible, illustré par un coefficient de variation très petit (<2%).

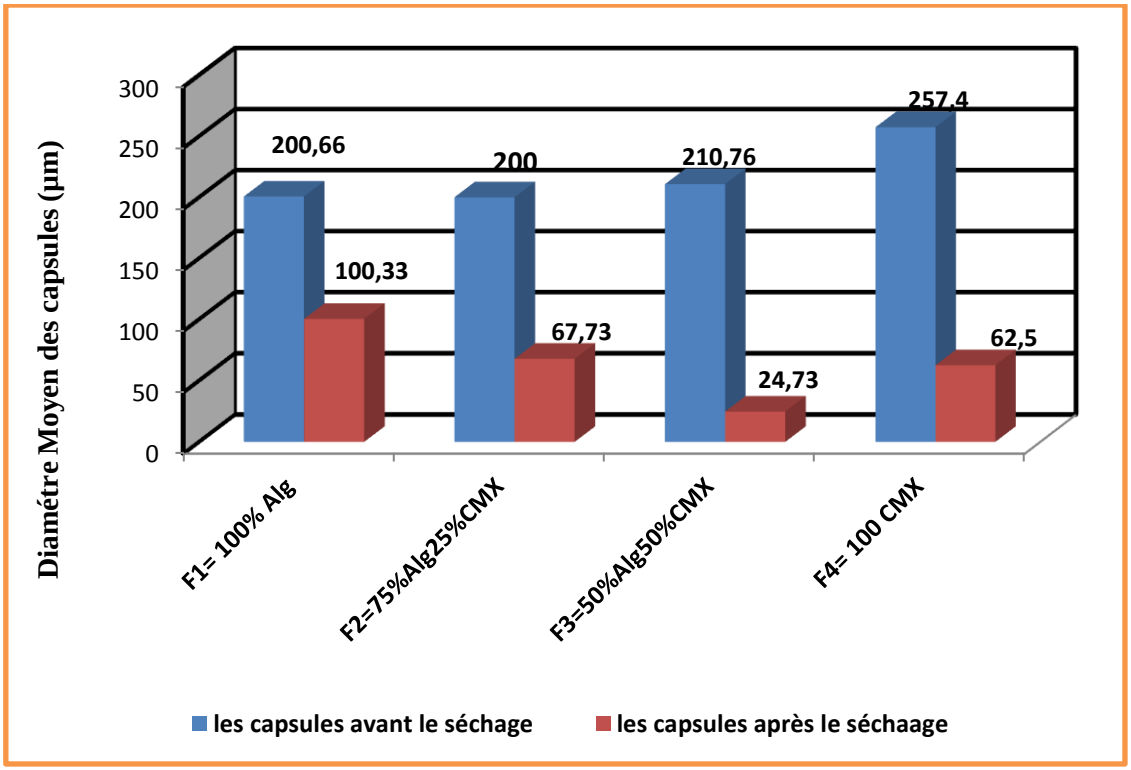


Figure III.16. Tailles des capsules (avant et après séchage)

Après les résultats obtenus lors des caractérisations précédentes, les formules retenues pour les tests de gonflement et de dissolution sont les formules F1, F2 et F4.

III.4.2.3. Etude du gonflement des capsules

L'étude du gonflement permet d'établir la cinétique de pénétration du milieu de dissolution dans les capsules. Cette étude permet d'établir son taux d'absorption et son augmentation de volume au cours du temps. La technique d'analyse de la cinétique de gonflement est basée sur la gravimétrie [78]. Cette méthode consiste à mesurer la quantité de liquide absorbée par les capsules en fonction du temps jusqu'à l'équilibre. Les capsules son

pesées puis placées dans le milieu de dissolution étudié. Deux milieux de dissolution sont testés : Milieu 1 : solution tampon pH1.2 ; Milieu 2 : solution tampon pH7.4

a. Mode opératoire

- Peser environ 50mg de capsules sèche sur une balance analytique de précision.
- Incorporer les capsules soigneusement dans 25ml du milieu de dissolution.
- A des intervalles de temps réguliers, les capsules sont retirées du milieu de dissolution, posés sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide,
- Peser les capsules obtenues à l'aide d'une balance analytique de précision.

Les taux de gonflement sont calculés par la formule suivante :

$$\textbf{Taux de gonflement}\ (\%) = \frac{\mathbf{m_g - m_i}}{\mathbf{m_i}} \times \mathbf{100} \qquad (\mathbf{3.1})$$

Oùm_i est la masse des capsules à l'état initial (au temps t_0) et, $m_g$est la masse des capsules à l'état gonflé (au temps t).

Les résultats du test de gonflement des capsules dans les différents milieux de dissolution sont représentés sur(les figures 17. 18)

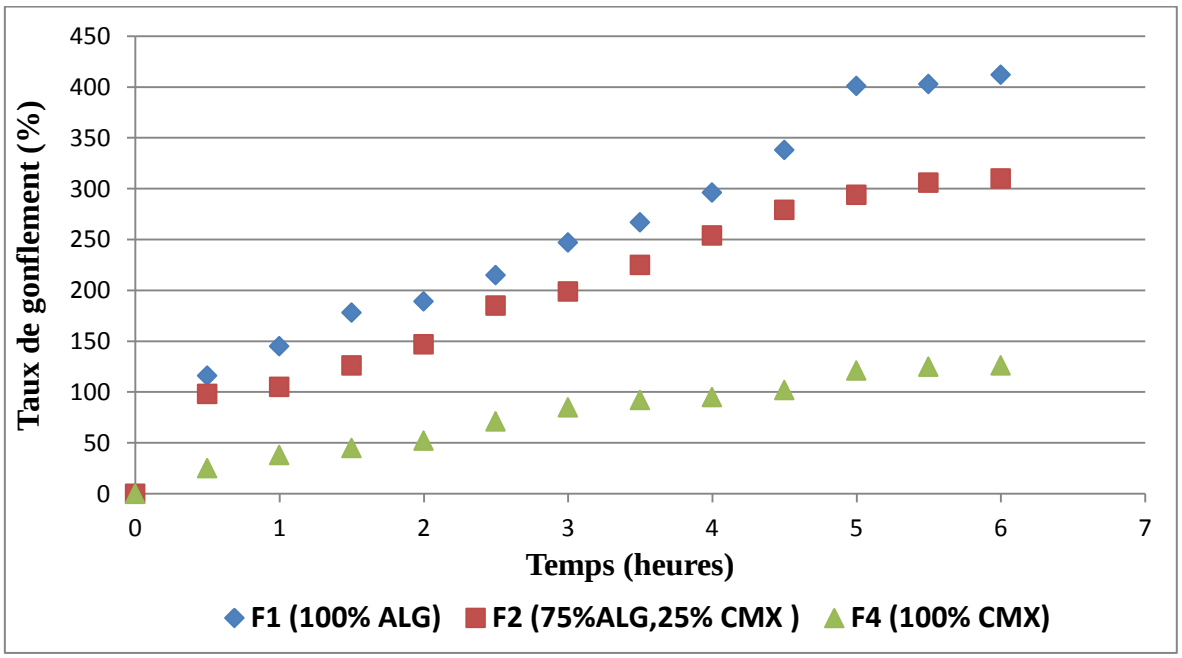


Figure III.17. Cinétique de gonflement des capsules (pH1.2)

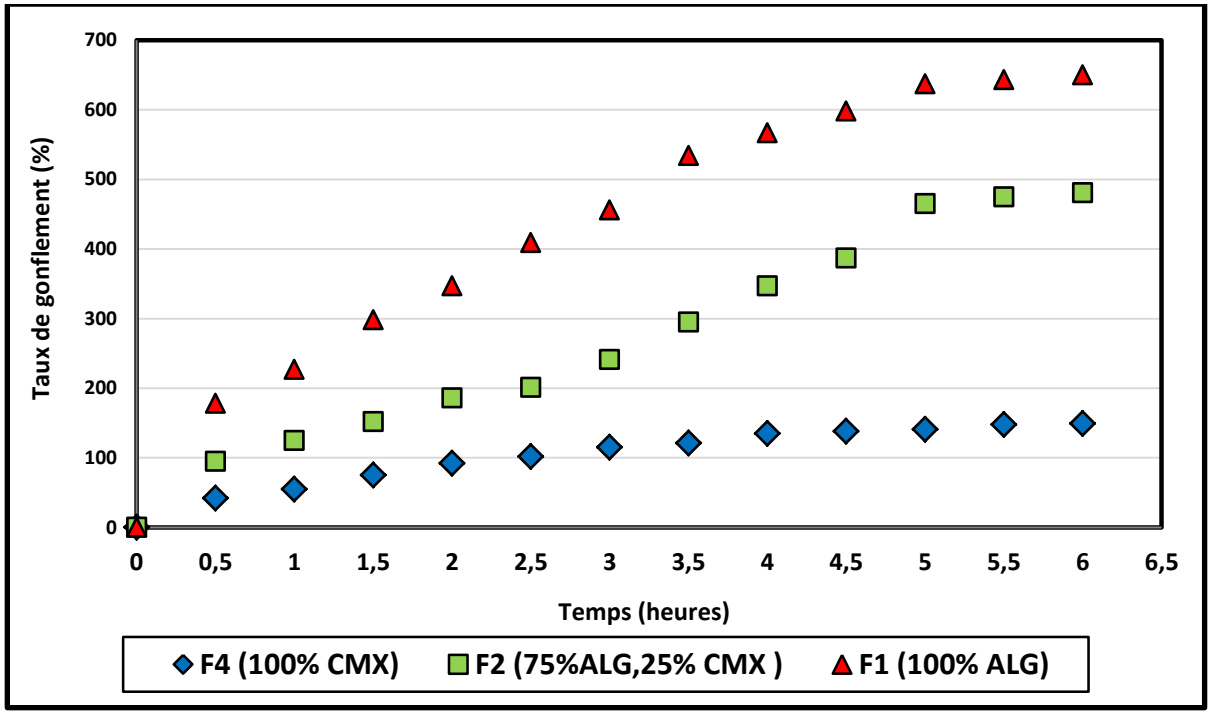


Figure III.18. Cinétique de gonflement des capsules (pH7.4)

- **Résultats et discussion**

A partir des résultats obtenus lors des études de gonflement des formule de capsules étudiées, on remarque que :

- Les taux de gonflement augmentent d'une façon progressive en fonction du temps dans les deux milieux de dissolution étudiés et pour toutes les formules de capsules testées.
- Les taux de gonflement sont plus importants dans le milieu pH7.4par rapport au milieu pH1.2, pour toutes les formules étudiées.
- Les taux de gonflement sont plus importants lorsque la concentration en ALG augmente dans les capsules dans les deux milieux étudiés.
- Le taux de gonflement à l'équilibre des capsules dans le milieu pH1.2 est de l'ordre de 126% lorsque la concentration en CMX est de 100% (F4), et atteint un maximum de 412% lorsque la concentration en ALG est de 100% (F1).
- Les taux de gonflement des capsules à l'équilibre, dans le milieu pH7.4 varient entre 149% lorsque la concentration en CMX est de 100% (F4), et atteint des taux de 650 % lorsque la concentration en ALG 100% (F1).

La figure III. 19 montres les taux de gonflement à l'équilibre des capsules dans les deux milieux de dissolution étudiés.

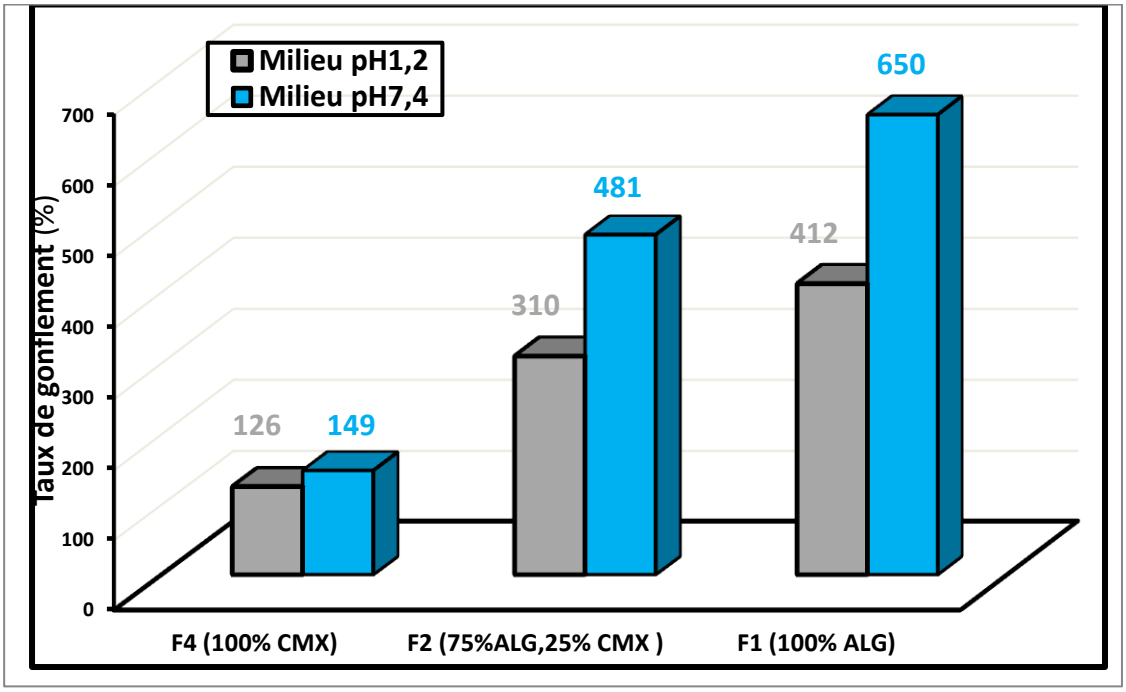


Figure III.19. Taux de gonflement à l'équilibre des capsules.

L'ALG est un polysaccharide de charge négative. Ces charges sont liées aux groupements–COOH des monomères G et M de la macromolécule. Ces monomères sont sous la forme non dissocié à pH1.2 (pH<3.5), donc la molécule d'ALG ne présente pas un taux de gonflement important à cette zone de pH. Par contre, à pH7.4 (pH>3.5), les monomères sont pour la plupart sous la forme $–COO^-$, ceci contribue à l'augmentation de la différence de pression osmotique entre les deux milieux interne des capsules et externe donc le taux de gonflement augmente considérablement, jusqu'à atteindre un état équilibre. Le CMX également à un comportement similaire à l'ALG vue son caractère polyélectrolyte, ce qui rends sont taux de gonflement plus important en milieu pH7.4 qu'en milieu pH1.2. L'étude du mélange ALG/ CMX a montré que les taux de gonflement sont plus important que le CMX seul et moins important que l'ALG seul, mais les taux de gonflement des mélanges ALG/CMX restent appréciable dans les deux milieux.

III.4.2.4. Détermination des taux d'encapsulations

La quantité de principe actif (PX) introduite dans les capsules est calculée par dosage spectrophotométrie UV-Vis [79].

a. Mode opératoire

- Peser précisément 100mg de capsules sur une balance analytique de précision.
- Disperser les capsules dans 100ml de solution tampon pH7.4, sous agitation magnétique à 1000tr/min pendant quatre heures.
- Filtrer la solution obtenue sur filtre en papier Whatman®.
- La solution filtrée est analysée par spectrophotométrie UV-VIS à une longueur d'onde de 276nm.

Le taux d'encapsulation est calculée par la formule (III.2)

$$\textbf{Taux d'encapsulation} = \frac{\textit{Quantité de principe actif dosé aprés encapsulation}}{\textit{Quantité de principe actif réellement encapsulée}} \; \boldsymbol{X\ 100} \quad (\boldsymbol{III.2})$$

Tableau III.13.Résultats des taux d'encapsulation.

Formules	Qté PX Encapsulé (mg)	Qté PX Après encapsulation (mg)	Taux d'encapsulation(%)
F1 : (100%Alg)	0.504	0.461	91.51
F2 : (75%Alg 25%CMX	0.502	0.433	86.22
F4 :(100% CMX)	0.514	0.443	86.25

a. Résultats et discussion

b. D'après les résultats obtenus dans (**le tableau III.13)** on remarque que les taux d'encapsulation du PX varient entre 86.22% et 91.51%, selon les différentes formules étudiées. On remarque également que le taux d'encapsulation augmente avec la concentration en ALG formant les capsules. En effet, lorsque la concentration en en ALG est de 75%, et 25%CMX(F2), le taux d'encapsulation est de 86.22%. Alors que le taux d'encapsulation est de 86.25% lorsque la concentration en CMX est de 100% (F4), et atteint un taux maximum de 91.51% lorsque la concentration en ALG est de 100% (F1).

On remarque que les taux d'encapsulation sont plus important dans les capsules à base d'ALG à 100%, ceci peut être interpréter par le fait que le réseau polymérique de l'ALG est plus réticulé, entrainant un durcissement plus rapide des capsules empêchant le principe actif de ressortir et d'être expulser vers le milieu extérieur.

Par contre, les capsules à base de CMX ou de mélange ALG/CMX, de plus faibles taux d'encapsulation sont observées, pouvant être dus à la formation de capsules dont la membrane est beaucoup plus fine et donc la présence de pores à la surface permettent la libération précoce du PX et donc un taux d'encapsulation plus faible.

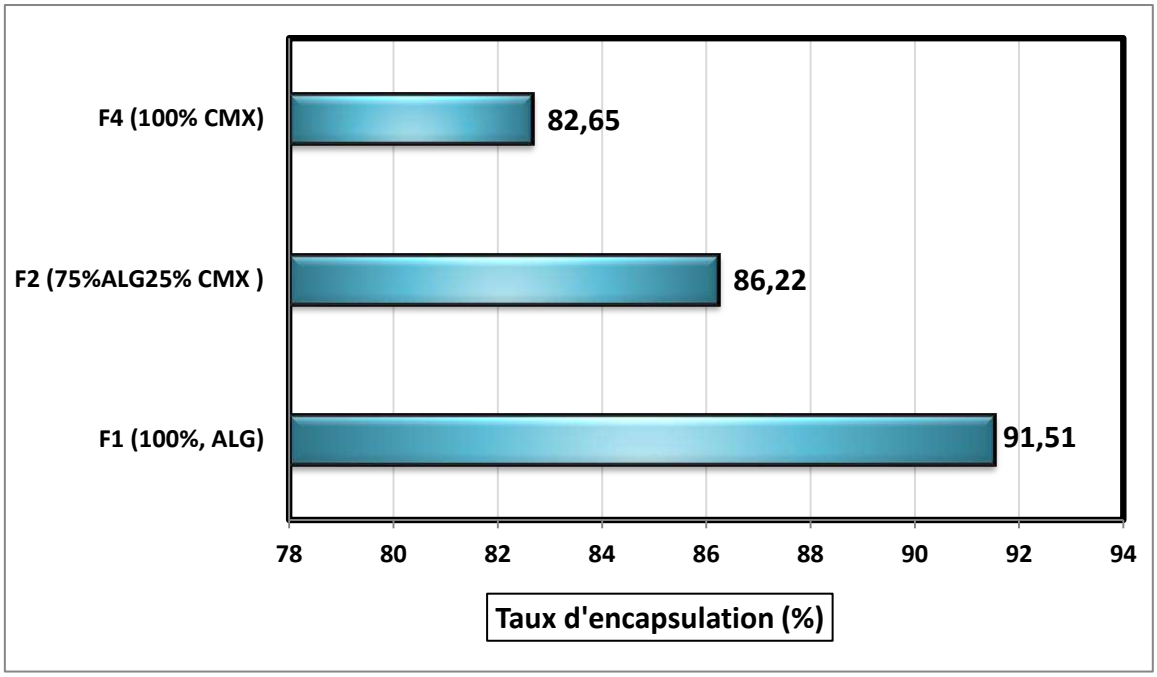


Figure III.20. Taux d'encapsulation du principe actif (PX).

III.4.2.5. Etude de la libération du principe actif à partir des capsules

L'étude de la libération est destinée à déterminer la vitesse de dissolution des principes actifs à partir des formes pharmaceutiques répondant aux normes de la pharmacopée [80].

Les informations suivantes sont données pour chaque préparation qui est soumise à l'essai de dissolution in vitro :

- l'appareil à utiliser,
- la composition, le volume et la température du milieu de dissolution,
- la vitesse de rotation ou le débit du milieu de dissolution,

- l'intervalle de temps, la méthode et le volume d'échantillonnage de la solution à examiner ou les conditions d'enregistrement continu,
- la méthode d'analyse,
- la ou les quantités de principes actifs qui doivent se dissoudre dans un intervalle de temps prescrit.

Le choix de l'appareillage est déterminé par les caractéristiques physicochimiques de la forme pharmaceutique. On optera pour l'appareil à panier pour la réalisation de nos essais, étant donné qu'il offre une meilleure libération du principe actif lors de sa diffusion à partir des capsules et ce dans toutes les directions.

Toutes les parties de l'appareil qui peuvent entrer en contact avec l'échantillon ou avec le milieu de dissolution sont chimiquement inertes et n'adsorbent pas la substance à examiner, ne réagissent pas en sa présence et n'influencent pas son comportement.

Toutes les parties métalliques de l'appareil qui peuvent entrer en contact avec l'échantillon ou avec la solution de dissolution doivent être en acier inoxydable approprié ou recouvertes d'un matériau approprié pour garantir que de telles parties ne causent pas de réaction et n'influencent pas l'échantillon ou la solution de dissolution.

Aucun élément de l'appareil ni de l'assemblage dans lequel il est placé n'exerce de mouvement d'agitation ou de vibration important autre que celui de l'élément de rotation à faible régime.

Il est préférable d'utiliser un appareil en verre qui permette l'observation de la préparation à examiner et de l'élément d'agitation pendant l'essai.

Ce test permet d'obtenir les profils de dissolution traduisant la quantité de principe actif libérée en fonction du temps.

a. Mode opératoire

- Introduire dans le récipient du test de dissolution le volume de 900ml du milieu de dissolution étudié (Solution tampon pH1.2 ou Solution tampon pH7.4).
- Equilibrez l'appareil Dissolut est à la température 37±0.5°C.
- Introduire 100mg de capsules dans le dispositif à panier muni d'agitateur.
- Mettre l'appareil en marche à 50 tr /min pendant 8heures.
- Procédez à des prélèvements de 10 ml d'échantillons à des intervalles de temps régulier.

- Effectuer le dosage sur chacun des échantillons prélevés, par spectroscopie UV-VIS à la longueur d'onde correspondant au milieu de dissolution étudié [78].
- La dissolution des capsules est réalisée pendant un temps de 02 heures dans le milieu de dissolution pH1.2 (milieu gastrique), et pendant 08 heures dans le milieu de dissolution pH7.4 (milieu intestinale) [71].

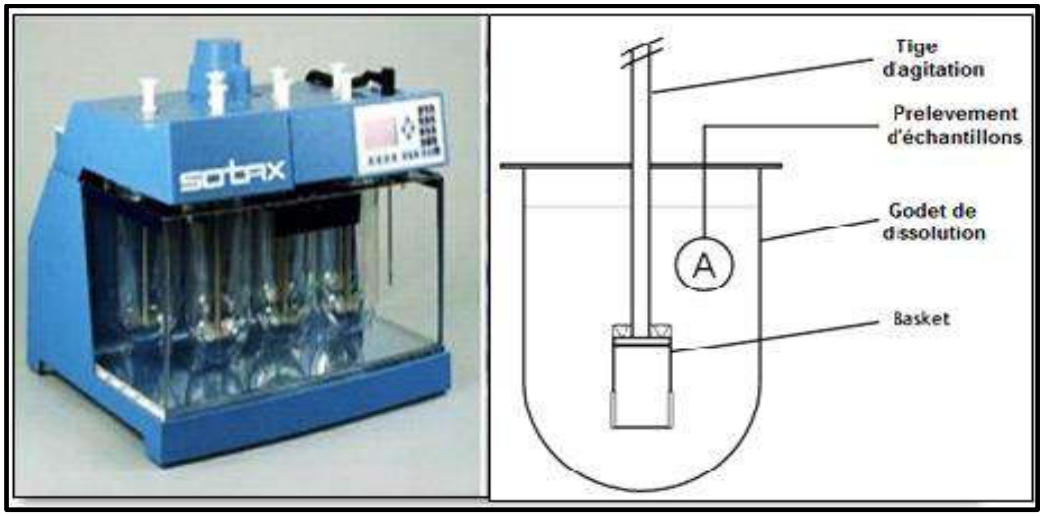


Figure III **.21.** Test de dissolution SOTAX.

- **Résultats et discussion**

Libération du PX dans le milieu pH1.2 : La figure III.22 représente la cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH1.2. Les profils de dissolution montrent une augmentation des taux de PX libéré en fonction du temps selon une fonction non linéaire.

On observe que les taux maximums de libération du PX est plus important dans la formule F1 (100% d'ALG) avec une valeur de 35.85% au bout de deux heures alors que ce taux diminue pour les formules F2 et F4 contenant le CMX comme biopolymère seul ou mélangé l'ALG. En effet, les taux de libération du PX sont respectivement de 22.76% et 13.43%, correspondant à F2 (75%ALG ,25%CMX), et F4 (100% CMX) respectivement.

Ces résultats indiquent que les matrices hydrophiles formants les capsules contenant la CMX sont plus résistante à la libération du PX par rapport aux capsules contenant uniquement l'ALG.

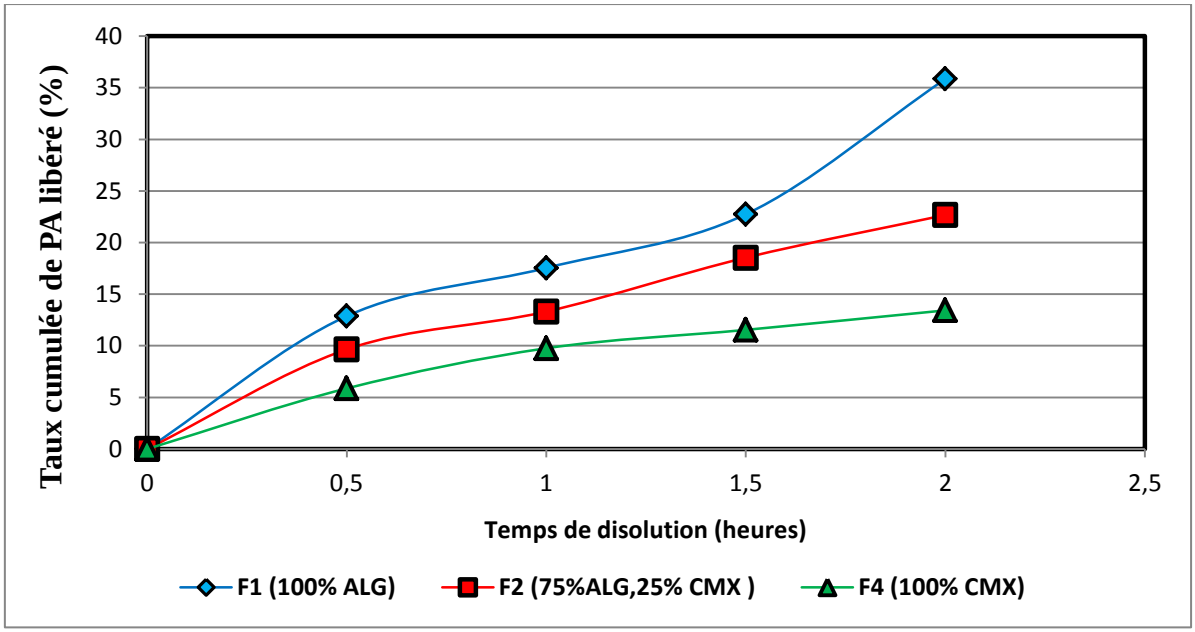


Figure III.22. Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH1.2.

Libération du PX dans le milieu pH7.4 : La figure III.23 représente la cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH7.4. Les profils de dissolution montrent une libération progressive et continue de PX en fonction du temps.

On remarque que les taux maximums de libération du PX atteignent un taux de libération totale et complète pour toutes les formules étudiées et cela à différents temps de dissolution.

Les taux de libération sont plus importants pour les capsules de la formule F1 (100 d'ALG %) avec une valeur de 35.85%au bout de 2.0 heures. Ces taux de libération sont respectivement de 99.99%au bout de 4heures dans les formule F1 (100 d'ALG %), 95.25% au bout de 6.5heures dans les formule F4 (100%CMX), et enfin un taux de 100% au bout de 6.5 heures dans les formule F2 (75 %ALG,25%CMX).

On remarque que le PX est libérée de façon plus lente dans les capsules F4 (100% CMX), suivi des capsule de F2 (75% Alg, 25%CMX) et enfin plus rapide dans les capsules F1 (100% d'ALG)

La libération prolongée de PX observée dans les capsules F4, à base de CMX uniquement peut être attribué à la résistance des capsules aux milieux de dissolution et donc la diffusion du PX est moins importante que dans les capsules contenant de l'ALG (F1). Une libération intermédiaire entre la F1 et la F4 a été observée lors de l'étude des capsules base du mélange des biopolymères.

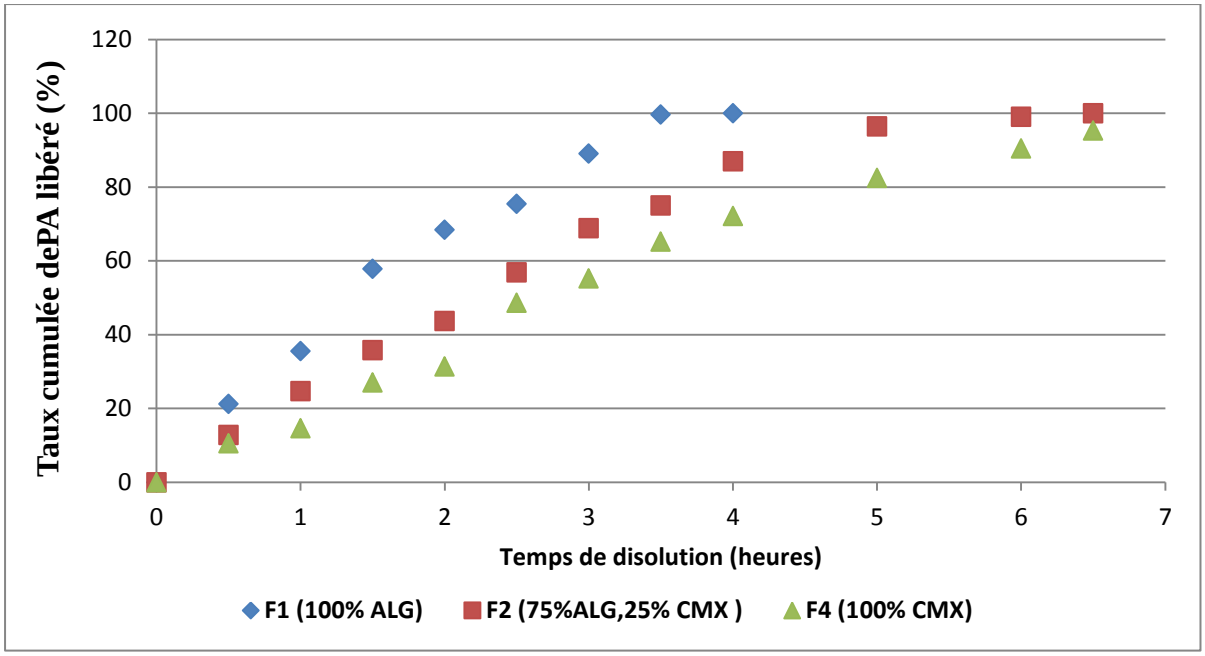


Figure III.23. Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH7.4.

III.5. Conclusion

Lors de cette étude expérimentale, la caractérisation du principe actif PX et des biopolymère ALG et CMX a été mené par différentes méthodes physicochimiques (FTIR, UV-VIS, Viscosimètre,….).

L'encapsulation du PX au sein de capsules d'ALG, de CMX et de mélange (75%Alg, 25%CMX) a été menée avec succès à l'aide de la méthode de gélification en présence d'un agent réticulent. En effet, ce travail nous a permis l'obtention de capsules de taille micrométriques qui varient en fonction de la composition en biopolymères, de tailles moyennes allant de 100.33µmà135.65µm.

La caractérisation des capsules a été réalisée du point de vue, taux de gonflement, taux d'encapsulation et cinétique de libération du principe actif (PX) dans différents milieux de dissolution.

Les taux de gonflement augmentent d'une façon progressive en fonction du temps dans les deux milieux de dissolution étudiés (pH1.2 et pH7.4) et pour toutes les formules de capsules testées et sont plus importants dans le milieu pH7.4 par rapport au milieu pH1.2. Les taux de gonflement sont plus importants lorsque la concentration en ALG augmente dans les capsules dans les deux milieux étudiés. L'étude du mélange ALG/ CMX a montré que les taux de gonflement sont plus important que le CMX seul et moins important que l'ALG seul, mais les taux de gonflement des mélanges ALG/CMX restent appréciable dans les deux milieux.

Les taux d'encapsulation du PX varient entre 86.22% et 91.51%, selon les différentes formules étudiées. Les taux d'encapsulation sont plus importants dans les capsules à base d'ALG à 100%, attribué à un réseau polymérique plus réticulé, entrainant un durcissement plus rapide des capsules empêchant le principe actif de ressortir et d'être expulsé vers le milieu extérieur. Pour les capsules contenant du CMX, de plus faibles taux d'encapsulation sont observés, dus à la formation de capsules dont la membrane est beaucoup plus fine et donc la présence de pores à la surface permettent la libération précoce du PX et donc un taux d'encapsulation plus faible.

Les résultats des taux de libération du PX à pH1.2 indiquent que les matrices hydrophiles formants les capsules contenant la CMX sont plus résistante à la libération du principe actif par rapport aux capsules contenant uniquement l'ALG.

A pH 7.4, le PX est libérée de façon plus lente dans les capsules F4 (100% CMX), suivi des capsule de F2 (75% Alg, 25%CMX) et enfin plus rapide dans les capsules F1 (100% d'ALG).

La libération prolongée de PX observée dans la formule F4, à base de CMX uniquement peut être attribué à la résistance des capsules aux milieux de dissolution et donc la diffusion du PX est moins importante que dans les capsules contenant de l'ALG (F1). Une libération intermédiaire entre la F1 et la F4 a été observée lors de l'étude des capsules à base du mélange des biopolymères.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de ce travail était l'encapsulation selon le procédé de gélification d'un principe actif (Piroxicam, PX) dans une matrice polymérique biodégradable à base d'alginate de sodium (ALG), de CarboxyméthylXanthane (CMX) et du mélange ALG/CMX.

Dans un premier temps, une étude de préformulation a été réalisée pour la caractérisation du principe actif PX et des biopolymères ALG et CMX par différentes méthodes physicochimiques (FTIR, UV-VIS, Viscosimètres,….).

Par la suite, l'encapsulation du PX au sein des capsules a été menée avec succès à l'aide de la méthode de gélification en présence d'un agent réticulent. En effet, la microencapsulation a permis l'obtention des capsules de tailles moyennes allant de 135.65µm à 100.33µm, où le PX est dispersé dans les matrices hydrophiles.

La caractérisation des capsules a été réalisée du point de vue, taux de gonflement, taux d'encapsulation et cinétique de libération du principe actif (PX) à différent milieux de dissolution.

Les taux de gonflement augmentent d'une façon progressive en fonction du temps dans les deux milieux de dissolution étudiés (pH1.2 et pH7.4) et pour toutes les formules de capsules testées mais sont plus importants dans le milieu pH7.4 par rapport au milieu pH1.2. Les taux de gonflement sont plus importants lorsque la concentration en ALG augmente dans les capsules dans les deux milieux étudiés. L'étude du mélange ALG/ CMX a montré que les taux de gonflement sont plus important que le CMX seul et moins important que l'ALG seul, mais les taux de gonflement des mélanges ALG/CMX restent appréciable dans les deux milieux.

Les taux d'encapsulation du PX varient entre 86.22% et 91.51%, selon les différentes formules étudiées. Les taux d'encapsulation sont plus importants dans les capsules à base d'ALG à 100%, attribué à un réseau polymérique plus réticulé, entrainant un durcissement plus rapide des capsules empêchant le principe actif de ressortir et d'être expulser vers le milieu extérieur. Pour les capsules contenant du CMX, de plus faibles taux d'encapsulation sont observées, dus à la formation de capsules dont la membrane est beaucoup plus fine et donc la présence de pores à la surface permettent la libération précoce du PX et donc un taux d'encapsulation plus faible.

Les résultats des taux de libération du PX à pH1.2 indiquent que les matrices hydrophiles formants les capsules contenant la CMX sont plus résistante à la libération du principe actif par rapport aux capsules contenant uniquement l'ALG.

A pH 7.4, le PX est libérée de façon plus lente dans les capsules F4 (100% CMX), suivi des capsule de F2 (75%Alg, 25%CMX) et enfin plus rapide dans les capsules F1 (100% d'ALG).

La libération prolongée de PX observée dans les capsules F4, à base de CMX uniquement peut être attribué à la résistance des capsules aux milieux de dissolution et donc la diffusion du PX est moins importante que dans les capsules contenant de l'ALG (F1). Une libération intermédiaire entre la F1 et la F4 a été observée lors de l'étude des capsules à base du mélange des biopolymères.

L'analyse des cinétiques de libération du PX permet de confirmer que les conditions opératoires telles que le pH du milieu de dissolution et la composition des capsules influencent d'une manière notable les taux de libération du principe actif. Par ailleurs, des profils de libération prolongée ont été obtenus dans le milieu intestinal pH7.4 avec des taux de libération de 99.99% au bout de 4heures dans les formule F1 (100 d'ALG %), 95.25% au bout de 6.5heures dans les formule F4 (100%CMX), et enfin un taux de 100% au bout de 6.5 heures dans les formule F2 (75 % ALG, 25%CMX), alors que des taux maximums de 35.85% au bout de deux heures ont été obtenus dans le milieu gastrique pH1.2. Ces résultats confirment une libération prolongée du principe actif. Enfin, nous pouvons conclure que l'ALG est un biopolymère ayant des propriétés très intéressantes pour l'encapsulation des principes actifs en vue d'avoir une libération prolongée d'un PA.

Références bibliographiques

[1]MkedderI., Modification et dégradation enzymatique de polysaccharides : investigation par imagerie et diffusion de rayonnement. Thèse de doctorat. Agricultural sciences. Université de Grenoble, 2012.

[2]Weiss P., La chimie des polymères. Thèse de Magister, Université Médicale, Virtuelle Francophone, France, 2010.

[3]Van de Weghe P., Les polymères. Sci Chim Rennes. 1974, 1-73.

[4]Mercier J.P., Chimie des polymères, http//.www.civil.usherbrooke.Ca/cours /gci/116 Notes cours 5.2, polymères, p6, 2000.

[5]Rabtafika HN., Paquot M., Dubois P., Les polymères issus du Végétal : Matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique, Biotechnol, Environ., 2006, 1053, 185-196.

[6] Pagga U., Beimborn D.B., and Yamamoto M., Biodegradability and compostability of polymers - Test methods and criteria for evaluation, Journal of Environmental Polymer Degradation. 996, 4(3), 173-178.

[7] Calmon-Decriaud A., Bellon-Maurel V., and Silvestre F., Standard methods fortesting the aerobic biodegradation of polymeric materials. Review and perspectives,in Blockco polymers Polyelectrolytes Biodegradation.1998, 207-226.

[8] Lenz R.W., Biodegradable Polymers. Advances in Polymer Science, Davis G., Characterization and characteristics of degradable polymer sacks, Materials.1993, 107-140.

[9] Chen SC., Lu Y., Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drugdelivery. Adv. Drug Delivery Rev.2004, 56, 1621–1633.

[10] Auras R., Harte B., Selke S., An overview of polylactides as Packaging Materials. Macromol. Biosci. 2004, 4, 835–864.

[11] Nodal, L'industrie française des matériaux composites des enjeux prioritaires pour un développement durable, Etude stratégique Consultant pour le comte de la DiGITIP/SIM. mai 2002.

[12] Ramier, J., Structures fibreuses tridimensionnelles de biopolymères pour l'ingénierie tissulaire, Thèse de Doctorat, Université paris-Est, France.2012.

[13] Fontanille M., Gnanou Y., Chimie et physico-chimie des polymères, 1ère édition, Dunod, France. 2002.

Références bibliographiques

[14] Létisse F., Quantification des contraintes nutritionnelles et métaboliques associées à la Production de gomme xanthane par Xanthomonas campestris, Thèse de Doctorat, Université de Toulouse, France.2000.

[15] Garon-Lardiere S., Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge Asparagopsisarmata, Bonnemaisoniales, Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale, France.2004.

[16] Bakri Y., Les glucides, Thèse de Magister, Université Mohammed V– Rabat, MAROC. 2006.

[17] Glicksman M., Gum technology in the food industry. Academic Press, New York.1969, p555.

[18] Glicksman M., Functional properties of hydrocolloids. Ed, Food Hydrocolloids. CRS Press, Boca Raton, Florida.1982. (V.1), 47-99

[19] Sutherland I.W., Extracellular polysaccharides. In : Biotechnology : a comprehensive treatise, Rehm R.I., and Reed G., Eds, Weinhem, NL.1983,531-574,

[20] Morley R.G., Utilisation of hydrocolloids in formulated foods. In: Philips G.O., WedlockD J., and Williams P.A., eds, Gums and Stabilisers for the food Industry. Pergamon Press. Oxford. (V.2), 1984,pp 211-239.

[21] Alistair M. S., Food polysaccharids and theirs applications. 270 Madison Avenue, New York , 10016. 1995, pp 139-205.

[22] Règlement UE 231/2012 http://www.additifs-alimentaires.net/E415.php, (15/04/2015).

[23] http://chefsimon.lemonde.fr/additifs/xanthane.html,13.

[24] OVIATT H.W., and BRANTD., AThermal treatment of semi-dilutexanthan solutions Yields weak gels with properties resembling ghyaluronic acid, Int. J. of Biol. Macromol. 1993.15, 3–10.

[25] Yalpani M., and Sandford P.A., Commercial polysaccharides, recent trends and developments. In: Industrial polysaccharides: genetic engineering, structure/property relations and applications. Yalpani M., Ed, Amsterdam, NL. 1987,311-335,

[26] Morris., Yalpani M ., Organ oleptic properties of food polysaccharides in thickened systems. In: Industrial polysaccharides: genetic engineering, structure, property relations and applications, Ed, Amsterdam, NL.1987,225-238

[27] Linton J.D., Microbial polysaccharides. In: Biomaterials, Byron D., Ed, Basingstoke, U.K.1991, 217-261

Références bibliographiques

[28] Sutherland I.W. Xanthan. In: Xanthomonas. Swingl G., and Civerolo E.L., Eds, London, UK.1993, 363-388,

[29] Mazens D., Etude du transfert diffusionnel de solutés macromoléculaires dans les hydrogels d'alginate de calcium. 2005, P 15.

[30] Mokrani N., Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères alginate,chitosane , 2013.

[31] Smidsrød O., Skjåk-Bræk G., Alginate as immobilization matrix for cells, Trends biotechnol, vol, 8, 1990, pp :71–78.

[32] Skjåk-Bræk G., Grasdalen H., Smidsrød O., Inhomogeneous polysaccharide ionic gels, Carbohydr, Polym, vol 10, 1989, pp 31–54.

[33] Draget KI., Skjåk-Bræk G., Smidsrød O., Alginate based new materials, Int, J.Biol. Macromol, vol, 21, 1997,pp 47–55.

[34] Lee BJ., Min GH., Oral controlled release of melatonin using polymer reinforced and Coated alginate beads, Int, Pharm J., vol, 144, 1996, pp 37–46.

[35] Romalde J., Luzardo-Alvárez LA., Ravelo C., Toranzo A E., and ,Blanco-Méndez, Oral immunization using alginate microparticles as a useful strategy for booster vaccination against fish la ctoccocosis, Aquaculture, vol, 236, 2004,pp119–129.

[36] Vincent E., les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie application a la construction d'un biomatériau, à Saint-Dié (88) ,19 février 1987.

[37] Olivier.albeng.pagesperso-orange.fr/par-site-mat/polyms/pol-gen.htm

[38] prof. Djafer Benachour. Les mélanges de polymére, une nouvelle casse de matériaux Faculté de science de l'ingénieure université ,Ferhat Abbas Setif.

[39] Negar M., Mirhosseini H., Badlishah S., effect of pH on physicochemical properties andstability of sodium caseinate pectin stabilized emulsion. Journal of food, agriculture & environment, 2011.

[40] http:// www.swri.org/index.html

[41] Chang et Prakach, 2001.

[42] Richard et Benoit, 2000.

[43] Mazoun KH., Djouat S., Formulation des systèmes de libération des principes actifs à base des biopolymères, 2015.

[44] https://fr.wikipedia.org/wiki/Liposome

Références bibliographiques

[45] Ertan I., ET al. sustained-release dosage form of nitrofurantoin.part1.preparation of microcapsules and in vitro release kinetics. Journal of Microencapsulation Vol.11, No, 2, 1994, P127-135.

[46] Richard J ., Benoit JP., Micro-encapsulation, Techniques de l'ingénieur, J 2210, 2000, 1 – 20.

.

[47] Dziezak JD., Microencapsulation and encapsulated ingredients. Food Technology, 42.1988,136-153.

[48]. Boh B., Développements et Applications Industrielles des Microcapsules. In,Vandamme T., Poncelet D., Subra-Paternault P., editors. Micro-encapsulation des Sciences Aux Technologies. Paris, Lavoisier, 2007, p 9-22 .

[49]. Vandamme T., Poncelet D., Subra-Paternault P., Microencapsulation : des Sciences Aux Technologies. Paris: Éditions Tec & Doc, 200.

[50]. Devassine M., La Micro-encapsulation, Une Nouvelle Approche. CARMA 2005. Poncelet D., Christelle D., Les Méthodes de Micro-encapsulation de a à Z , Ou Presque.

[51]. Poncelet D., Life Is Based on a Combination of Biochemistry and Bioencapsulation. Tropical Journal of Pharmaceutical Research.007;6(2) ,685-6.

[52] Poncelet D., Christelle D., Les Méthodes de Microencapsulation de a à Z (Ou Presque).In: Vandamme T., Poncelet D., Subra-Paternault P., editors.

[53] Soper J., 1995. Utilization of Coacervated Flavors. ACS Symposium Séries,590,104-112.

[54] Versic R. J., 1988. Flavor encapsulation. ACS Symposium Séries, 370, 1-6.

[55] swapan kumarghosh ,functional coating and microencapsulation, ageneralperspective pdf.

[56] Patwardhan S. A., & Das K. G., 1983. Microencapsulation. In K. G., Das, Controlled-released technology ,pp. 121-141. John Wiley.

[57] Vandegaer J.E., 1973. Encapsulation by coacervation. In, Vandegaer J. E., Microencapsulation: Processes and Applications, pp 21-37.

[58] Barratt G., Colloidal drug carriers: achievements and perspectives, CellularandMolecular Life Sciences, 60, 21-3003.

[59] Risch S.J.,1995. Encapsulation: Overview of uses and techniques. ACS Symposium Series, 590, 2-7.

Références bibliographiques

[60] Gibbs B. F., Kermasha S., Alli L., & Mulligan C. N.,1999. En capsulationin the food industry: a review. International Journal of Food Sciences andNutrition, 50, 213-224.

[61] http/www.éditions-désante.fr.

[62] Lijuanzhanghttp://pubs.nrs-cnrc-gc.ca/cjche/ch845585.Html 23 universities montpellier France.

[63] http/www.Montepellier.inra.fr/umr-iate/pdf/avancees2-pdf.

[64] http/www.ensc-lille-fr/fi/master-cif/sujet-7.pdf

[65] http/www.vivantinfo.com/index

[66] IGOR G., MATTIASSON B.O., 2008, Smart polymers Applications inBiotechnology and Biomedicine, CRC Press, New york, 2eme édition, p 148-150 et 16.

[67] forme pharmaceutique nouvelle technique et documentation , la vosier ,1985.

[68] pharmacopée européenne

[69] Rohit Rajendra B., Riyaz Ali M., Osmani., Afrasim Moin., Review on Natural Polysaccharide Based Particulate Drug Delivery Systems: An Inimitable Tactic in Novel Drug Delivery Systems ., International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research,5(4). 2014, 138-155.

[70] Dibeedetto D., Breuil P., Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible, 3éme Éditions TI, 2007.

[71] Alistair M. S., Food polysaccharides and theirs applications. 270 Madison Avenue, New York, 10016.1995,pp 139-205.

[72] British Pharmacopeia, 5éme edition, 2007.

[73] Fertah M,. Belfkira Ah., El montassir,D., Taourirte,M, Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan La minariadigitata brown seaweed, Arabian Journal of Chemistry,2014.

[74] Lihong F., Libo W., Song G., Penghui W., Mingjia L., & Weiguo X., 2011.Synthesis, characterization and properties of carboxymethyl kappacarrageenan. Carbohydrate Polymers, 86(3), 1167–1174.

[75] Xu T., Xin M., Li M., Huang H., & Zhou S., 2010. Synthesis, characteristic and antibacterial activity of N,N,N-trimethyl chitosan and its carboxymethyl derivatives. Carbohydrate Polymers, 81, 931–936.

[76] Grant GT., Morris ER., Rees DA., Smith PJC., Thom D., Biological interactions between Polysaccharides and Divalent cations the: egg box model, FEBS Letters,32: 195, 1993.

Références bibliographiques

[77] Patel YL., The effect of drug concentration and curing time on processing and properties of calcium alginate beads containing Metronidazole by response surface methodology, AAPS Pharm Sci Tech 2006,7(4): 86.

[78] Lannuccelli V., Coppi G., Bernabel MT., Cameroni R., Air compartment multiple-unit system for prolonged gastric residence, Part I: Formulation study, Int, Pharm J., 2009, 1998,174, 47-54.

[79] Lehir A., Pharmacie Galénique, Bonne pratique de fabrication des médicaments, 8ème édition, Masson, Paris, 2001.