

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA – BEJAIA
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Mémoire de fin de cycle

Présenté par :

M. ARZEOUG Djoumad et M. ZAMOUCHE Fares

Pour l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Génie des Procédés

Option : Génie Alimentaire

THEME

**EVALUATION ET OPTIMISATION DE L'ENCAPSULATION D'UN
INGREDIENT LIPOSOLUBLES (β -CAROTENE) PAR COMPLEXE
D'INCLUSION**

Soutenu le 02/07/2018

Membres de jury :

Président de jury : Pr. M.HAMACHI

Examineur : Dr. A.KACHBI

Encadreur : Pr. O.SENHADJI

Co-encadreur : Dr. F.OUGHLIS-HAMMACHE.

Promotion 2017- 2018

Remerciements

C'est au bon DIEU tout puissant que nous devons tous nos absolus remerciements pour nous avoir donné de la santé, la force, la volonté et surtout la patience tout au long du chemin de nos études et l'exécution de ce mémoire.

Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter nos profondes gratitudee et nos sincères remerciements à notre encadreur M^{me} SANHADJI pour sa précieuse aide, ses orientations et le temps qu'elle nous a accordé pour notre encadrement.

Nos vifs remerciements vont aussi à notre Co-promotrice M^{me} OUGHLIS qui nous a soutenus par ses précieux conseils et encouragements durant de long mois.

Nous remercierons également les membres du jury qui ont bien voulu consacrer un peu de leur précieux temps pour examiner notre travail, qu'il trouve ici le témoignage de notre reconnaissance.

Et finalement nous remercions nos parents pour leurs aides morales et financières tout au long de nos études et tous ceux qui ont contribué de prêt ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

*A la lumière de ma vie, ma très chère mère et mon cher père
que dieu les garde pour moi*

*A mes chers frères et sœur : Ahcen, Madjid, Omar, Mahfoud,
Anisa et Ghania qui ont été toujours là pour moi, et qui m'ont
donné un magnifique modèle de labour et de persévérance,
j'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma
reconnaissance et tout mon amour.*

A mes belles-sœurs, mes neveux et mes nièces

A Fares et sa famille

A toute la promotion Génie Alimentaire

A tous mes amis (es)

*Je dédie ce modeste travail pour leur exprimer ma gratitude
et ma reconnaissance.*

DJOUHAD

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Ma mère

A toi la plus douce, la plus tendre et la plus adorable des mamans,

Tu m'as généreusement comblé d'affection et de bienveillance.

Tu as toujours fait de ton mieux pour m'assurer bonheur et confort.

Pour ton amour profond, ton soutien infaillible et tes sacrifices innombrables, je dédie ce travail en témoignage de mon éternelle reconnaissance et de mon très grand attachement.

Que dieu te garde le plus longtemps parmi nous, te procure santé, bonheur et te protège de tout mal.

Mon père, à Mes deux frères et à Ma sœur

Votre amour et votre soutien ne m'ont jamais fait défaut. Qu'il me soit permis de vous exprimer toute mon adoration et mon indéfectible attachement.

Que Dieu vous accorde une vie pleine de bonheur et de santé.

A Djoumad et sa famille

FARES

Liste des abréviations

ATG : Analyse thermogravimétrique.

α -CD : alpha-Cyclodextrine.

β -car : bêta-carotène.

β -CD : bêta-Cyclodextrine.

β -CD/ β -car : complexe bêta cyclodextrine/ bêta carotène.

γ -CD : gamma-Cyclodextrine.

CD-S : complexe Cyclodextrine-Substrat

CDs : Cyclodextrines.

CGT-ase : Cyclodextrine Glucosyl Transfér-ase enzyme.

DMLA : Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age

DRX : Diffraction des Rayons X.

DSC : Calorimétrie Différentielle à balayage

E : trans.

ED : Eau Distillée.

IR : Spectroscopie Infrarouge.

IR-TF : Infrarouge à Transformée de Fourier.

PA : Principe Actif.

PE : Plans d'Expériences.

pH : potentiel Hydroxyle.

UV : Ultra Violet.

Z : cis.

.

Liste des figures

Chapitre I

Figure I.01 : Structure générale des caroténoïdes	04
Figure I.02 : Structure chimique de β -carotène.....	05
Figure I.03 : Les différents procédés d'encapsulation	10
Figure I.04 : Schématisation du processus de coacervation.....	12
Figure I.05 : Les cyclodextrines naturelles	14
Figure I.06 : Représentation tridimensionnelle d'une β -cyclodextrine.....	15
Figure I. 07 : Schéma général de la formation d'un complexe d'inclusion entre une molécule hôte de cyclodextrine et une molécule invitée	20
Figure I. 08 : Formation d'un complexe d'inclusion entre une β -CD et une molécule invitée hydrophobe dans l'eau	20
Figure I. 09: Représentations schématiques de complexes d'inclusion de stoechiométries différentes.....	21
Figure I. 10 : Types de diagrammes de solubilité selon la classification de Higuchi et Connors	23
Figure I.11 : Influence de l'addition de la β -cyclodextrine sur le spectre UV d'une solution aqueuse d'un principe actif, le piroxicam à 95 μ M et à pH 5	24
Figure I.12 : Domaine d'étude pour 2 facteurs.	29
Figure I.13 : Surface de réponse.....	29

Chapitre II

Figure II.01 : Agitateur axiale mécanique.....	36
Figure II.02 : Centrifugeuse.	37
Figure II.03 : Spectrophotomètre UV-Visible.....	37

Figure II.04 : Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)	38
Figure II.05 : Analyseur thermogravimétrique.....	38

Chapitre III

Figure III.1 : Spectre UV-Visible du β -carotène dissout dans l'éthanol (C= 20mg/l).....	43
Figure III.2 : Courbe d'étalonnage du β -car dans eau/éthanol (50/50 v/v).....	43
Figure III.3 : Courbe d'étalonnage du β -car dans l'hexane.....	44
Figure III.4 : Spectre d'absorption UV-Visible du β -car obtenu pour T= 5 °C	44
Figure III.5 : Spectre d'absorption UV-Visible du β -car obtenu pour T=37 °C	45
Figure III.6 : Spectre d'absorption UV-Visible du β -car obtenu pour T= 50 °C.	45
Figure III.7 : Spectre d'absorption UV-Visible du β -car obtenu pour T= 80°C.	46
Figure III.8 : Spectre UV-Visible du β -car exposé à la lumière à T=22°C.....	47
Figure III.9 : Spectre UV-Visible du β -car à l'abri de la lumière à T=22°C	47
Figure III.10 : Cinétique de formation des complexes d'inclusion β -CD/ β -car.....	48
Figure III.11 : Spectres DRX de la β -CD, β -car et du complexe β -CD/ β -car	49
Figure III.12 : Spectre IR du β -CD, β -car et du complexe β -CD/ β -car	50
Figure III.13 : Courbes ATG et ATD de la β -CD et du β -car.	52
Figure III.14 : Courbes ATG et ATD du complexe β -CD/ β -car.....	53
Figure III.15 : Diagramme de solubilité de phase du complexe β -CD/ β -car	54

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.01 : Propriétés physicochimiques du β -carotène.....	05
Tableau I.02 : Domaine et exemple d'application de l'encapsulation	09
Tableau I. 03 : Caractéristiques des cyclodextrines naturelles.....	16
Tableau I. 04 : Solubilité en g/100 ml de la β -cyclodextrine dans différents solvants et à différentes températures	18
Tableau I.05 : Propriétés physicochimiques des CDs naturelles	18
Tableau I.06 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications alimentaires	26
Tableau I.07 : Matrice des expériences (plan composite centré)	30

Chapitre II

Tableau II.1 : Caractéristiques physico-chimique du β -car utilisé.....	35
Tableau II.2: Caractéristiques physico-chimiques et structurales de la β -CD utilisée.....	35
Tableau II.3 : Solvants utilisés et leurs propriétés physico-chimiques	36
Tableau II.4 : Les caractéristiques physico-chimiques de l'acide citrique monohydraté et de di-Sodium hydrogénophosphate.....	36
Tableau II.5 : Préparation des solutions tampon	40

Chapitre III

Tableau III.1 : Les domaines expérimentaux des facteurs étudiés dans l'optimisation de l'encapsulation du β -car	56
Tableau III.2 Matrice des essais du plan factoriel 2^3 et résultats	57
Tableau III.3 : Matrice des essais au centre du domaine et résultats.	57
Tableau III.4 : Valeurs et signification des coefficients du modèle de premier degré.....	58
Tableau III.5 : Comparaison entre la valeur prédite par le modèle au centre du domaine et la moyenne des essais au centre.	59
Tableau III.6 : Matrice des essais en étoile et résultats.....	59
Tableau III.7: Valeurs et signification des coefficients du modèle de second degré	60

SOMMAIRE

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1 Caroténoïdes	03
I.1.1 Bref historique.	03
I.1.2 Définition.	03
I.1.3 Structure chimique.	04
I.1.4 Classification.....	04
I.1.5 Propriétés physicochimiques.	05
I.1.5.1 Solubilité.....	05
I.1.5.2 Réactivité.	05
I.1.5.3 Origine de la couleur des caroténoïdes.	06
I.1.6 Dégradation.....	06
I.1.6.1 Dégradation par la lumière.....	06
I.1.6.2 Dégradation par la chaleur	06
I.1.6.3 Dégradation chimique.....	07
I.1.7 Propriété antioxydante	07
I.1.8 Application.....	07
I.1.8.1 Intérêt technologique.....	07
I.1.8.2 Intérêt nutritionnel	08
I.2 Encapsulation.....	08
I.2.1 Définition	08
I.2.2 But de l'encapsulation.....	09

I.2.3 Application.....	09
I.2.3.1 Domaine alimentaire	09
I.2.4 Techniques d'encapsulation.....	10
I.2.4.1 Les procédés physicochimiques.....	11
I.2.4.2 Les procédés chimiques	11
I.2.4.3 Les procédés mécaniques.....	11
I.2.5 Techniques d'encapsulation d'arômes	11
I.2.5.1 Spray drying.....	11
I.2.5.2 Coacervation	12
I.2.5.3 Extrusion	12
I.2.6. Complexe d'inclusion (inclusion moléculaire).....	13
I.3 Cyclodextrines	13
I.3.1 Bref historique	13
I.3.2 Définition et structure	14
I.3.2.1 Définition	14
I.3.2.2 Structure	15
I.3.3 Cyclodextrines CDs modifiées	16
I.3.4 Caractéristiques physicochimiques des cyclodextrines	17
I.3.4.1 Solubilité.....	17
I.3.4.2 Propriétés basiques.....	19
I.3.4.3 Stabilité	19
I.3.4.4 Toxicité	19
I.3.5 Propriété complexante	19
I.3.5.1 Facteur influençant l'inclusion moléculaire.....	21
I.3.5.2 Effet de la complexation	21

I.3.6	Equilibre du complexe d'inclusion	21
I.3.7	Techniques de caractérisation des complexes d'inclusion.....	22
I.3.7.1	Diagramme de solubilité de phase	22
I.3.7.2	Spectroscopie UV	24
I.3.7.3	La calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	24
I.3.7.4	La diffraction des rayons X (DRX)	24
I.3.7.5	Analyse thermogravimétrique (ATG).....	25
I.3.7.6	Spectroscopie Infrarouge (IR).....	25
I.3.8	Application des cyclodextrines	25
I.3.8.1	Application alimentaire.....	25
I.3.8.2	Domain pharmaceutique	26
I.3.8.3	Domaine cosmétique.....	27
I.3.8.4	Domaine environnemental	27
I.3.8.5	Domaine textile	27
I.4	Plan d'expériences	27
I.4.1	Introduction.....	27
I.4.2	Définition	28
I.4.3	Terminologie.....	28
I.4.4	Principe	29
I.4.5	Plans d'expérience pour surface de réponse	29
I.4.5.1	Plan composite.....	29
I.4.5.2	Matrice des expériences	30
I.4.6	Modélisation	31
I.4.6.1	Variable centrés réduites.....	31
I.4.6.2	Modèle	31

I.4.6.3 Test de signification des coefficients modèle	33
I.4.6.4 Test de validité du modèle	34
I.4.6.5 Test de signification globale de la régression	34
I.4.6.6 Coefficient de corrélation R^2	34

Chapitre II

Matériels et méthodes

II.1 Produits chimiques utilisés	35
II.1.1 β -carotène	35
II.1.2 β -Cyclodextrine	35
II.1.3 Solvants utilisés	35
I.1.4 Acide et base utilisés.....	36
I II. 2 Appareillage	36
II.3 Protocoles expérimentaux.....	38
II.3.1 Détermination de la longueur d'onde maximale d'absorption du β -carotène	38
II.3.2 Courbes d'étalonnage	38
II.3.3 Test de dégradation du β -carotène.....	39
II.3.4 Préparation des solutions tampon	39
II.3.5 Optimisation du temps d'équilibre	40
II.3.6 Préparation des complexes d'inclusion	40
II.3.6.1 Caractérisation des complexes d'inclusion.....	41
II.3.6.1.1 Diffraction des Rayons X (DRX)	41
II.3.6.1.2 Analyse thermogravimétrique (ATG)	41
II.3.6.1.3 Spectroscopie Infrarouge	41

II.3.7 Elaboration du diagramme de solubilité	41
II.4 Préparation des essais des plans d'expériences	42

Chapitre III

Résultats et discussions

III.1 Détermination de la longueur d'onde maximale d'absorption du β -carotène	43
III.2 Courbes d'étalonnage du β -carotène	43
III.3 Etude de l'effet de la température et de la lumière sur la dégradation du β -carotène	44
III.4 Temps d'équilibre	48
III.5 caractérisation des complexes d'inclusion	49
III.5.1 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)	49
III.5.2 Caractérisation par spectroscopie IR TF	50
III.5.3 Caractérisation par analyse thermogravimétrie	52
III.6 Diagramme de solubilité de phase	54
III.7 Modélisation du processus de complexation du β -car par la β -CD par les plans d'expériences	54
III.7.1 Facteurs influents l'encapsulation du β -car par la β -CD	55
III.7.2 Domaine d'étude	55
III.7.3 Réponse étudiée	56
III.7.4 Elaboration du modèle de 1 ^{er} degré	56
III.7.4.1 Matrice des essais du plan factoriel et du centre du domaine	56
III.7.4.2 Calcul des coefficients du modèle du 1 ^{er} degré	58
III.7.5 Elaboration du modèle du second degré	59
III.7.5.1 Test de validité du modèle de second degré	60
Conclusion générale.	62
Liste bibliographique	64

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Le β -carotène fait partie d'un groupe de produits chimiques naturels connu sous le nom de carotènes ou caroténoïdes, responsable de la couleur orange de nombreux fruits et légumes tels que les carottes, les citrouilles et les patates. C'est un précurseur de la vitamine A et joue un rôle important dans le métabolisme et l'entretien de la santé humaine. Il a une puissante activité antioxydante en piégeant les radicaux libres et les espèces réactives à l'oxygène et protège ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs. Sa consommation en quantité suffisante aide à prévenir de nombreuses maladies chroniques comme le cancer, les maladies cardiaques, les maladies cardiovasculaires...etc. Il est largement utilisé par l'industrie pharmaceutique, cosmétique et notamment par l'industrie alimentaire comme colorant et comme conservateur de denrées alimentaires (**Zaibunnisa et al. 2011 ; Sy, 2011**).

Cependant, le β -carotène est un composé hautement hydrophobe, sensible à l'air, à la lumière et peut être détruit lors des procédés de transformation des aliments à haute température, limitant ainsi son application dans différentes industries. Le développement de méthodes permettant l'augmentation de sa solubilité, de sa stabilité vis-à-vis de la lumière, la chaleur et l'oxygène est essentiel (**Nikolai, 2003 ; Zaibunnisa et al, 2011**).

Il existe plusieurs techniques permettant l'augmentation de la solubilité des molécules hydrophobes telles que le spray drying, l'extrusion, la coacervation et la complexation par inclusion. Cette dernière, à laquelle nous nous intéresserons et qui fera l'objet de notre travail, est une approche prometteuse pour augmenter la solubilité aqueuse des molécules hydrophobes. Une molécule invitée est encapsulée dans la cavité d'une molécule hôte pour former ce que nous appelons «un complexe d'inclusion». Les cyclodextrines trouvent de nos jours un champ d'application important. Elles sont produites à partir de la dégradation enzymatique de l'amidon et constituées de six (α -cyclodextrine), sept(β -cyclodextrine) et huit (γ -cyclodextrine) unités de glucopyranose liés par des liaisons α (1 \rightarrow 4). La β -cyclodextrine possède, en effet, une structure particulière caractérisée par sa cavité en forme de cône tronqué, relativement hydrophobe dans laquelle une molécule invitée hydrophobe peut être encapsulée. Les nombreux groupements hydroxyles orientés vers l'extérieur confèrent aux cyclodextrines un caractère hydrophile. Les interactions entre l'invité et l'hôte sont des interactions non-covalentes telles que les forces de Van Der Waals et les forces hydrophobes. Par conséquent, la solubilité, la stabilité et la libération contrôlée de molécules hôtes peuvent être améliorées en formant des complexes d'inclusion (**Mendeep et al, 2016 ;Zaibunnisa et al, 2011**).

L'objectif de notre travail est d'étudier la complexation du β -carotène par la β -cyclodextrine et de tenter de modéliser ce processus par la méthode des plans d'expériences.

Ce manuscrit est subdivisé en trois chapitres :

Le premier chapitre renferme une synthèse bibliographique sur les caroténoïdes, les cyclodextrines et leurs complexes d'inclusion et enfin la méthode des plans d'expériences.

Dans le deuxième chapitre, nous présentons le matériel utilisé, les protocoles expérimentaux et les méthodes d'analyse et de caractérisation des complexes.

Le troisième chapitre est réservé à l'analyse et à l'interprétation des résultats.

Le manuscrit se termine par une conclusion dans laquelle une synthèse des résultats et des perspectives à envisager sont apportées.

CHAPITRE I

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1 Caroténoïdes

La couleur est un paramètre important de notre perception du monde. Outre son caractère esthétique évident, elle joue un rôle important dans notre vie, elle influence nos humeurs. On observe qu'un véritable langage des couleurs s'est développé sur la base de cette constatation. Ce langage est utilisé par les principaux acteurs de la consommation (publicitaire, médias ...). L'industrie alimentaire n'est pas en reste. A l'exigence du consommateur face à l'apparence du produit, l'industriel répond par un effort de contrôle de ces paramètres. Pour ce faire, certains aliments sont enrichis par des molécules colorantes telles que les caroténoïdes (**Morin-Savy, 2007**).

I.1.1 Bref historique

L'histoire des caroténoïdes remonte à 1831 quand Wackenroder isole pour la première fois un pigment à partir de carottes et le nomme "carotène". Les carotènes ont été dès lors largement découverts dans les plantes. Six ans plus tard, en 1837, Berzelius nomme les pigments jaunes des couleurs de l'automne xanthophylle et en 1910, Tswett nomme toute la classe de composés relatifs à ces pigments les caroténoïdes. Strain en 1938 a utilisé le nom carotène pour les hydrocarbures, et xanthophylle pour les dérivés oxygénés d'hydrocarbures. Concernant leur analyse, c'est le botaniste russe Tswett qui aurait procédé à la séparation et la purification de ces composés pour la première fois. Il inventa la chromatographie pour la séparation des pigments de feuille (chlorophylle verte, carotènes et xanthophylles, orange à jaune) (**Edouard Degrou, 2014**).

I.1.2 Définition

Les caroténoïdes sont des pigments colorés dont la couleur varie du jaune au rouge. Ils sont naturellement synthétisés par des plantes, certains champignons, des algues et quelques bactéries. Chez les plantes et les algues qui contiennent des caroténoïdes, ceux-ci se trouvent dans les chloroplastes et les chromoplastes. Ils ont deux rôles principaux : l'absorption de l'énergie lumineuse pour la photosynthèse et la protection de la chlorophylle contre les dommages causés par la lumière. Chez les animaux, les caroténoïdes ne peuvent pas être synthétisés, ils sont simplement absorbés via l'alimentation (**Chanforan, 2010**).

Certains caroténoïdes sont utilisés comme colorants par l'industrie alimentaire dans la préparation de boissons, de crèmes glacées, de confiseries...etc. Ils sont absorbés par le corps humain et possèdent pour celui-ci des propriétés avantageuses (Phan-Thi, 2014).

I.1.3 Structure chimique

Les caroténoïdes sont des molécules de pigments lipophiles, avec une structure constituée d'unités conjointes d'hydrocarbure isoprène (composé de 5 atomes de carbone) avec alternance simple et double liaison. Tous les caroténoïdes sont des tétraterpénoïdes ; ils sont produits à partir de 8 molécules d'isoprène et contiennent 40 atomes de carbone ($C_{40} H_{56}$). L'ensemble résultant est une chaîne hydrocarbonée polyénique linéaire qui est parfois terminée par un anneau à l'une ou aux deux extrémités et qui peut contenir plusieurs groupes fonctionnels (Galzerano, 2015).

Du fait de la présence de doubles liaisons, les caroténoïdes peuvent adopter des configurations E(*trans*) ou Z (*cis*). A l'état naturel, ils sont généralement présents sous la forme E, configuration la plus stable d'un point de vue thermodynamique. Sous l'effet de la lumière ou de la chaleur, les caroténoïdes sous forme E sont susceptibles de s'isomériser pour donner des isomères Z(Chanforan, 2010).

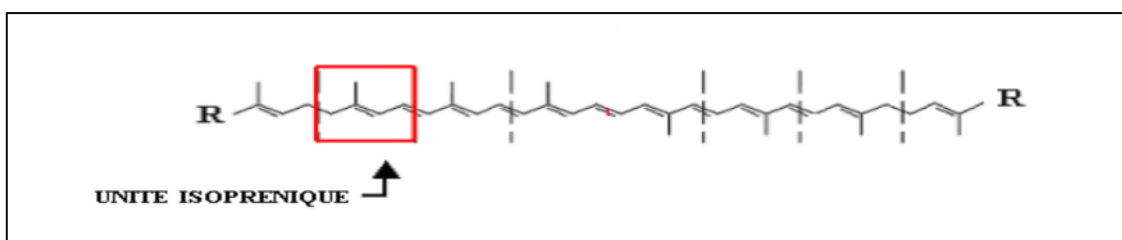


Figure I.01 : Structure générale des caroténoïdes (Alves Da Costa Cardoso, 2008).

I.1.4 Classification

Les caroténoïdes ont été identifiés et divisés en deux principales classes : xanthophylles, qui contiennent l'oxygène, et carotènes qui sont purement des hydrocarbures et ne contiennent pas de l'oxygène (Galzerano, 2015).

Le bêta-carotène (β -car) fait partie de cette dernière classe (carotène), il se compose généralement de huit unités d'isoprène à structure cyclique caractéristique du groupe des provitamines A (Phan-Thi, 2014). La structure chimique du β -carotène est représentée sur la figure suivante :

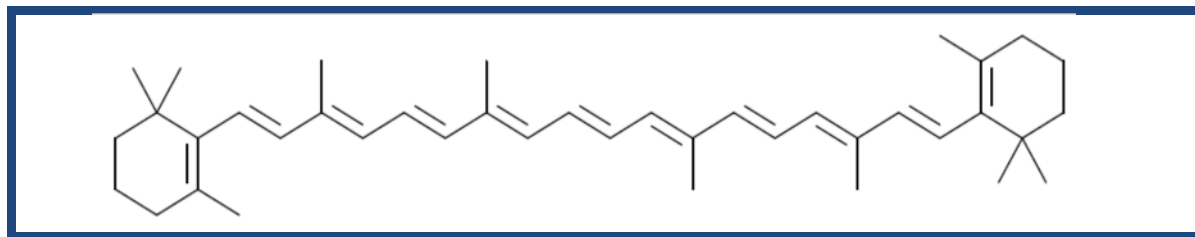


Figure I.02 : Structure chimique de β -carotène(Van der werf, 2013).

I.1.5 Propriétés physicochimiques

I.1.5.1 Solubilité

Les caroténoïdes sont des substances lipophiles solubles dans les solvants organiques plus au moins polaires (hexane, acétone, éthanol...) et insolubles dans l'eau. Le β -carotène dans les milieux aqueux, il a tendance à former des agrégats et précipiter en cristaux sous l'effet des interactions faibles et réversibles entre les liaisons hydrogène, des interactions électriques de type Van Der Waals et de l'effet de l'hydrophobie. La solubilité des caroténoïdes dépend aussi de leurs structure en *trans* ou en *cis*-isomères (Phan-Thi, 2014 ; Sy, 2011).

Les propriétés physicochimiques les plus intéressantes de β -carotène sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau I.01 : Propriétés physicochimiques du β -carotène (Phan-Thi, 2014)

Propriété	β -carotène
Formule brute	C ₄₀ H ₅₆
Masse molaire (g/mol)	536.87
Nombre de doubles liaisons conjuguées	11
Température de fusion (°C)	183
Solubilité dans l'eau (mg/l)	0.6

I.1.5.2 Réactivité

Les caroténoïdes sont sensibles à la lumière, au chauffage, à l'oxygène, à certains réactifs chimiques (acides et dans quelques cas des bases) et aux espèces oxydantes (métaux

de transition). En effet, la chaîne polyène riche en électrons est la cible d'attaque par des radicaux oxydants (Sy, 2011).

I.1.5.3 Origine de la couleur des caroténoïdes

La couleur est l'élément caractéristique des caroténoïdes, elle peut varier du jaune au rouge. Leur couleur est due à leur système de doubles liaisons conjuguées créant un chromophore et permettant ainsi l'absorption de la lumière visible entre 400 nm et 500 nm. Le degré de conjugaison du chromophore détermine les caractéristiques d'absorption du caroténoïde. Il faut un minimum de 7 doubles liaisons conjuguées à un composé pour absorber la lumière visible. Au delà de 7, Plus le nombre de double liaison conjugué est important plus le λ_{\max} (longueur d'onde d'absorbance maximale) du caroténoïde est grand et plus sa couleur tend vers le rouge foncé (Morin-Savy, 2007).

I.1.6 Dégradation

La chaleur, la lumière et l'oxygène peuvent induire l'isomérisation de certaines des doubles liaisons *trans* de la chaîne, mais aussi induire des réactions qui dégradent les caroténoïdes. Même sous forme cristalline, les caroténoïdes peuvent être dégradés rapidement dès qu'ils sont stockés (Sy, 2011)

I.1.6.1 Dégradation par la lumière

L'exposition à la lumière induit la dégradation des caroténoïdes, qui se manifeste par un blanchiment plus ou moins rapide selon les sources lumineuses (UV naturels, flashlaser...) En premier lieu, la photo-irradiation provoque le passage des caroténoïdes à l'état excité sous l'effet de l'énergie lumineuse. Puis, le caroténoïde sous forme excitée réagit avec le milieu et l'oxydation libère notamment des radicaux cations de caroténoïdes (Sy, 2011).

I.1.6.2 Dégradation par la chaleur

Les caroténoïdes sont des composés thermolabiles. La thermolabilité est la propriété d'une substance à être détruite, décomposée ou à changer de propriétés lorsqu'elle subit une élévation de température. Les teneurs en caroténoïdes des aliments sont diminuées par les divers traitements thermiques des procédés de préparation (blanchiment, chauffage, cuisson, friture) et leur structure est également affectée. Cette dégradation dépend de la température et de la durée du chauffage (ex : à 210°C, le β -carotène est presque totalement dégradé en 15

min ; à 97°C la dégradation est plus progressive, et le caroténoïde reste stable pendant plusieurs heures à 30°C)(Claverie, 2014 ; Amoussa Hounkpatin, 2011 ; Sy, 2011).

I.1.6.3 Dégradation chimique

Les caroténoïdes peuvent interagir avec de nombreux réactifs chimiques tels que les acides (ex : acide sulfurique et le β -carotène) et les oxydants (l'ozone qui est un antimicrobien efficace utilisé dans l'industrie alimentaire, les nitrites présent dans la salive...). Les conséquences de ces réactions chimiques est la dégradation des caroténoïdes et la formation des complexes ioniques, qui peuvent ensuite se dissocier pour donner des carbocations dans le cas d'interaction avec les acides et des peroxydes de caroténoïdes dans le cas d'interaction avec les oxydants (Sy, 2011).

I.1.7 Propriété antioxydante

Un antioxydant se définit comme une substance qui, quand elle est présente en faible concentration par rapport à celles de substrats oxydables, retarde significativement ou prévient l'oxydation de ce substrat (Chanforan, 2010). La plupart des caroténoïdes ont une activité antioxydante grâce à leur structure chimique comportant une longue chaîne de polyène riche en électrons et des doubles liaisons conjuguées susceptibles d'être très réactive. Cet aspect chimique permet aux caroténoïdes de neutraliser l'oxygène singulier et des radicaux libres (Phan-Thi, 2014).

I.1.8 Application

I.1.8.1 Intérêt technologique

Les caroténoïdes sont utilisés dans de nombreux secteurs, sous leur forme naturelle ou comme molécules synthétiques : par l'industrie pharmaceutique (dans certains cas de pathologies humaines), en cosmétique (sous forme de capsules ou incorporés dans des crèmes), dans l'agroalimentaire (pour augmenter la perception de la couleur des aliments) et dans l'élevage (compléments pour les volailles)(Sy, 2011).

En alimentation humaine et animale les caroténoïdes figurent en tête des ingrédients fonctionnels. Ils sont utilisés couramment pour leurs propriétés technologiques (coloration, limitation de l'oxydation des aliments) et servent surtout à augmenter l'impression de qualité, perçue par le consommateur, des aliments auxquels ils sont incorporés (travail sur l'image du

produit, compensation d'atténuations ou de variations naturelles de la couleur, ou encore protection d'arômes ou de vitamines sensibles à la lumière...) (Sy, 2011).

I.1.8.2 Intérêt nutritionnel

Certains caroténoïdes sont des éléments nutritifs importants pour l'homme et les animaux puisqu'ils servent de précurseurs à la vitamine A, le rétinol. En effet, la première étape dans la formation du rétinol est le clivage de la double liaison centrale du β -carotène, ce qui permet l'obtention de deux molécules de rétinol qui, après réduction, donneront la vitamine A. En outre, les caroténoïdes seraient également impliqués dans la prévention de certaines maladies. Leur effet bénéfique a été montré dans les maladies de l'œil dont la DMLA (Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age), les maladies cardiovasculaires, certains cancers et l'érythème induit par la lumière. L'action des caroténoïdes dans la prévention de ces maladies serait liée à leur pouvoir antioxydant (Morin-Savy, 2005).

I.2 Encapsulation

L'encapsulation est vectrice d'innovations de par ses avantages de protection et de libération contrôlée dans l'espace et dans le temps. La force de l'encapsulation peut se résumer en un mot : le choix. Chaque nature physico-chimique d'actif peut être encapsulée avec succès grâce à plusieurs techniques disponibles avec la possibilité de sélectionner différents matériaux enrobant. Différentes structures internes de particules sont réalisables avec des tailles qui peuvent être variables. La structure externe peut également être modifiée. Enfin, il est possible de choisir la forme physique finale des particules obtenues : solution diluée ou concentrée ou encore forme sèche sont autant de possibilités à prendre en compte (Bile, 2015).

I.2.1 Définition

L'encapsulation est une technique qui consiste à piéger ou enrober une substance ou un mélange de substances spécifiques à l'aide de matériaux adaptés. Les substances à encapsuler peuvent être liquides, solides ou gazeuses. Ce sont souvent des principes actifs sensibles ou instables à certains facteurs environnementaux ayant une action ciblée, ou bien des substances dont on souhaite modifier l'état (transformation d'un liquide en solide par exemple). Les matériaux enrobants, quant à eux, sont essentiellement des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des lipides, mais parfois également d'autres molécules (Kerdudo, 2014). Ces

derniers (matériaux enrobants) doivent être neutres en goût, filmogènes, adsorbants et émulsifiants (Claverie, 2014).

I.2.2 But de l'encapsulation

L'encapsulation permet de transformer un liquide en solide, de masquer une odeur ou un goût désagréable, d'augmenter la solubilité des substances lipophiles, de protéger des substances sensibles des effets délétères de l'environnement extérieur, ainsi que d'obtenir une libération contrôlée et ciblée des principes actifs (Ach, 2014).

I.2.3 Application

On trouve des applications de l'encapsulation dans de nombreux domaines industriels, listé dans le tableau I.02 dans lequel sont également précisés des exemples de composés encapsulés.

Tableau I.02 : Domaine et exemple d'application de l'encapsulation (Kerdudo, 2015).

Domaine d'application	Exemples
Cosmétique	Encapsulation de vitamines sensibles à l'oxydation.
Pharmaceutique	Encapsulation de l'aspirine pour masquer le goût et libérer l'actif dans l'environnement intestinal.
Peinture	Encapsulation de biocides pour prolonger la durée de vie des peintures.
Textile	Encapsulation d'actifs se libérant lors des frottements entre le vêtement et la peau.
Agrochimie	Encapsulation de pesticides et insecticides.

I.2.3.1 Domaine alimentaire

L'encapsulation est notamment utilisée dans le domaine alimentaire afin d'enrichir des aliments en arômes, vitamines, minéraux, probiotiques, acides gras et antioxydants. Par exemple, les bactéries probiotiques sont encapsulées afin d'améliorer leur viabilité au cours des procédés de fabrication des produits alimentaires et aussi pour permettre une libération ciblée au niveau du tractus gastro intestinal. Les caroténoïdes (lutéine et lycopène) sont quant

à eux encapsulés afin d'améliorer leur stabilité vis-à-vis de la lumière, de l'humidité et de la température, tandis que les huiles riches en acides gras polyinsaturés (omégas 3), telles que l'huile de microalgue et l'huile de thon, sont encapsulées afin d'augmenter la stabilité des acides gras vis-à-vis de l'oxydation (Ach, 2014).

I.2.4 Techniques d'encapsulation

Divers techniques ont été étudiées et appliquées pour former des capsules dans différentes industries. Il existe plusieurs manières de les classer suivant différents critères (Santos and Meireles, 2010; Rabeau, 2009) :

- 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 l'encapsulation.

Cette dernière manière de classer les procédés industriels est la plus couramment utilisée. On distingue, comme le résume la figure I.03 les procédés physico-chimiques, les procédés chimiques et les procédés mécaniques (Rabeau, 2009)

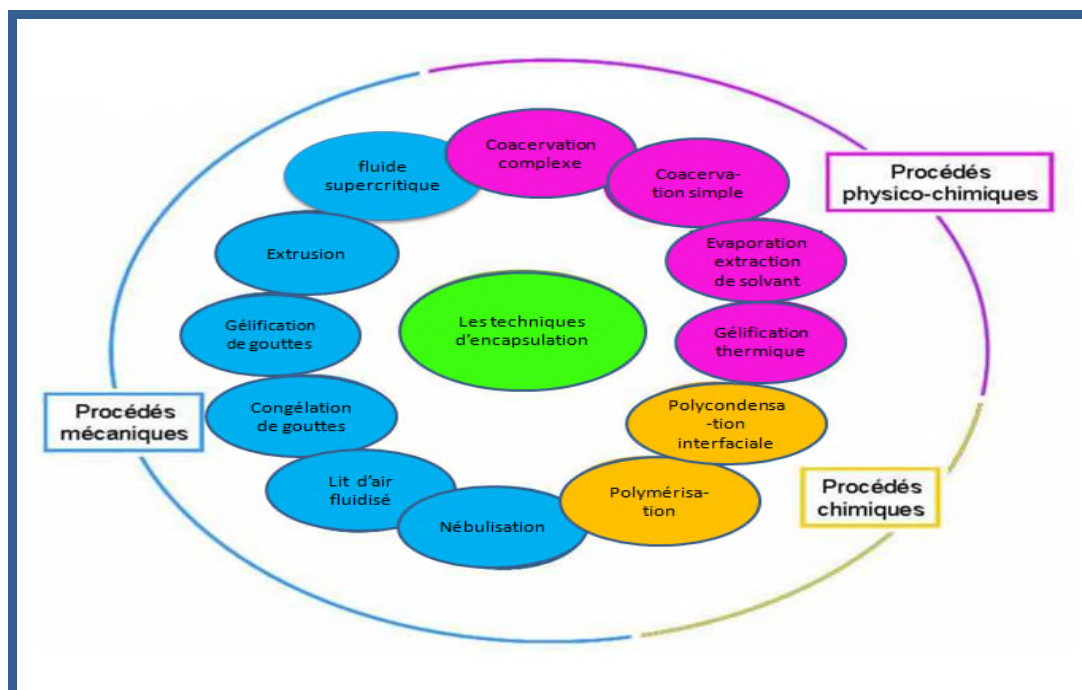


Figure I.03 : Les différents procédés d'encapsulation (Rabeau, 2009).

I.2.4.1 Les procédés physicochimiques

Les procédés physico-chimiques sont 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 (**Rebeau, 2009**).

I.2.4.2 Les procédés chimiques

L'encapsulation par voie chimique consiste en la polymérisation autour de la substance à enrober (pure ou en solution) d'un ou plusieurs monomères conduisant à la formation in situ d'une membrane de protection. Plusieurs types de polymérisation peuvent être envisagés : polycondensation, polymérisation radicalaire ou anionique (**Nesterenko, 2012**).

I.2.4.3 Les procédés mécaniques

Les procédés mécaniques mettent en œuvre des techniques de pulvérisation, de formation de gouttes ou de gouttelettes et d'extrusion (**Cortial, 2015**).

I.2.5 Techniques d'encapsulation d'arômes

Trois techniques sont majoritairement employées dans l'encapsulation d'arômes (**Kerdudo, 2014**) :

I.2.5.1 Spray drying

Le spray drying est largement utilisé dans l'industrie agro-alimentaire. Cette technique permet, par exemple, de protéger des actifs de l'oxydation et de transformer des liquides en poudres.

Le principe réside dans le séchage rapide sous air chaud d'un liquide pulvérisé sous forme de fines gouttelettes afin de générer une poudre. Un polymère hydrophile ou hydrophobe est tout d'abord dissous dans un solvant approprié. Le solvant doit être volatil. La substance à enrober, solide ou liquide, est ensuite dissoute, suspendue ou émulsifiée dans ce solvant. Des ingrédients tels que des tensioactifs, sels, ajusteurs de pH peuvent également être ajoutés afin de faciliter la solubilisation/dispersion des produits ou encore pour agir sur le mécanisme de libération du produit fini. Puis le mélange obtenu est pulvérisé à l'aide d'une

buse, d'un disque rotatif ou d'une turbine conduisant à l'obtention de microsphères solides précipitées (Kerdudo, 2014).

I.2.5.2 Coacervation

La coacervation est une technique faisant appel à un phénomène de changement d'état consécutif à l'addition au solvant initial d'un autre solvant non miscible, d'un sel ou d'un colloïde, qui conduit à un état intermédiaire entre la solubilisation et la précipitation. Comme montré sur la figure I.04, la substance à enrober est dispersée dans une solution colloïdale de polymère (a). Suite à l'ajout d'un agent chimique, la solution colloïdale commence à se séparer et à précipiter : on parle de coacervat (b). Le polymère, dans un état intermédiaire, se dépose à la surface de la substance à encapsuler et forme une couche continue externe (c). Cette couche finit par se rigidifier et la microcapsule est ainsi formée (d). (Claverie, 2014).

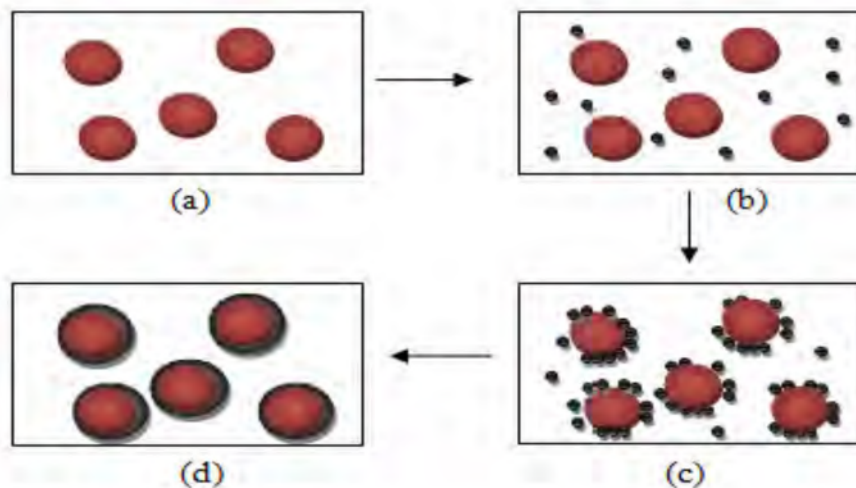


Figure I.04 : Schématisation du processus de coacervation (Claverie, 2014).

I.2.5.3 Extrusion

Lors de l'extrusion, la substance à enrober est dispersée dans un polyside porté à 110°C. Le mélange est alors forcé à travers une filière et les filaments obtenus à sa sortie sont plongés dans un liquide déshydratant comme l'alcool isopropylique. En durcissant, la masse extrudée piège la substance à enrober. Le produit durci subit alors un découpage calibré en fonction de la taille de particules souhaitée (Claverie, 2014).

I.2.6. Complexe d'inclusion (inclusion moléculaire)

Complexe d'inclusion ou l'inclusion moléculaire est la technique d'encapsulation qui utilise la structure des β -cyclodextrines pour piéger n'importe quel matériau de base. Elle est utilisée pour la protection des composés instables et à haute valeur additive spécialement les arômes. Le principe de cette technique repose sur la dilution de la molécule à enrober dans le matériau enrobant (β -cyclodextrine). La β -cyclodextrine est premièrement dissoute dans l'eau pour former une solution aqueuse à laquelle est ajoutée la substance à enrober. Un complexe d'inclusion est alors formé entre la β -cyclodextrine et la substance à enrober, qui peut être récupéré et séché par des moyens conventionnels (**Santos and Meireles, 2010**).

Afin d'optimiser l'encapsulation par les CDs, il est nécessaire de réaliser (**Mahthieu, 1986**) :

- L'optimisation de la quantité de CDs ajoutée au PA : elles ne doivent pas être en excès dans la solution par rapport à la quantité de PA pour permettre la présence d'une plus grande proportion de molécules lipophiles libres,
- L'obtention d'une dissolution optimale du complexe.

Le rendement de l'inclusion est calculé par la formule suivante (**Mahthieu, 1986**) :

$$\% \text{Rendement} = \frac{\text{Quantité de PA totale} - \text{Quantité de PA libre}}{\text{Quantité de PA totale}} * 100 \dots \dots \dots \text{I. 1}$$

I.3 Cyclodextrines

I.3.1 Bref historique

L'histoire des cyclodextrines (CDs) a commencé il y a plus d'un siècle. En 1891, A. Villiers rapporte l'obtention de 3g d'une substance cristalline, à partir de la digestion bactériologique de 1kg d'amidon, il détermine la composition de cette substance comme étant $[(C_6H_{10}O_5)_2, 3H_2O]$ et met en évidence la présence de deux produits (probablement l' α - et la β -cyclodextrine). Il les baptise celluloses en raison de la similarité entre leurs propriétés physico-chimiques et celles de la cellulose (**Deunf, 2010**).

En 1904, Schardinger parvient à isoler le bacille responsable de la dégradation de l'amidon, qu'il nomme *bacillus macerans*, et qui reste toujours à l'heure actuelle, le moyen de production de la cyclodextrine le plus employé. Il caractérise les deux celluloses de Villiers

comme étant deux oligosaccharides cycliques qu'il nomme dextrine cristalline α et dextrine cristalline β (Leclerq, 1997).

En 1932, Pringsheim découvre que les CDs sont capables de former des complexes d'inclusion avec de nombreux composés organiques. Cependant, ce n'est que quatre ans plus tard que Freudenberg et son équipe émettent l'hypothèse que ces dextrines sont cycliques et constituées d'unités saccharidiques (Decottignies, 2013).

La propriété des CDs à former des complexes d'inclusion devient alors le sujet d'études intensives. C'est ainsi que le tout premier brevet concernant l'application des CDs pour la mise en forme d'un composé à activité biologique est déposé en 1953. A partir de ce moment, on observe une recrudescence de l'étude des CDs, tant du point de vue de leur fabrication industrielle, que de l'exploitation de leurs propriétés, de leurs modifications chimiques ou bien encore, de leurs domaines d'applications (Weisse, 2002).

I.3.2 Définition et structure

I.3.2.1 Définition

Les CDs sont des oligosaccharides cycliques (Safine, 2002), issues de la dégradation enzymatique de l'amidon par la CGT-ase (cyclodextrine glucosyl transférase enzyme) qui est produite par un large nombre de microorganismes tels que *Bacillus macerans*. Elles sont constituées de l'assemblage de 6 à 12 motifs de glucose reliés par des liaisons α -1,4 glucosidiques. Même si on peut en trouver certaines constituées jusqu'à 32 monomères, les plus importantes à l'heure actuelle dans l'industrie et les plus stables sont les α -CDs avec 6 unités glucose, β -CDs 7 unités et γ -CDs avec 8 unités (Marcopoulos, 2011).

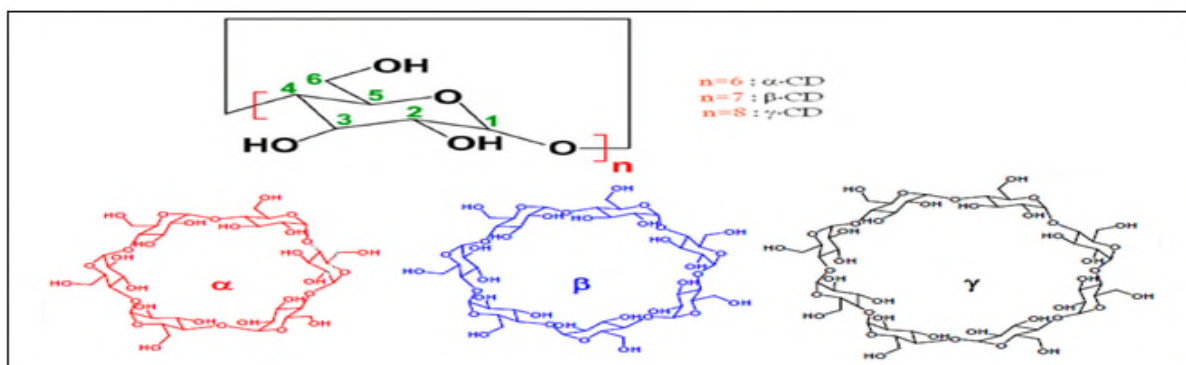


Figure I.05 : Les cyclodextrines naturelles (Khaoulani, 2015).

I.3.2.2 Structure

Les CDs ont une structure macrocyclique (**Jacquet, 2006**). Cette structure en trois dimensions apparait sous la forme d'un cône tronqué, à l'extérieure duquel se trouvent les groupements hydroxyles. La partie extérieure est donc hautement hydrophile. L'intérieure de la cavité est constituée par des atomes d'hydrogène portés par les carbones C3 et C5 ainsi que par les atomes d'oxygène participant à la liaison glycosidique ce qui lui confère un caractère apolaire (**Castagne, 2010**). On distingue également la face primaire (la plus étroite) où l'on trouve les fonctions alcools primaires en position C6, et la face secondaire (la plus large) où l'on trouve les fonctions alcools secondaires en position C2 et C3 (**Partigeon, 2010**). La libre rotation des hydroxyles primaires diminue le diamètre effectif de la cavité du côté où ils se trouvent, alors que les hydroxyles secondaires sont en position plus figée (**Vaysse-Dufaure, 2011**).

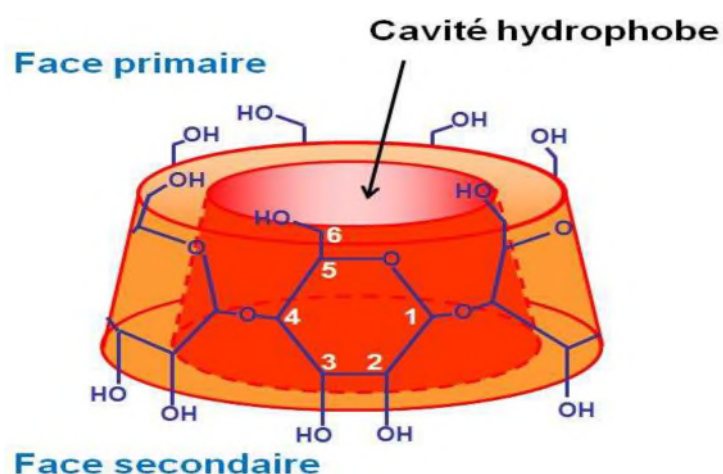


Figure I.06 : Représentation tridimensionnelle d'une β-cyclodextrine (**Partigeon, 2010**)

Le diamètre de la cavité et la masse moléculaire des CDs augmentent avec le nombre d'unités glucopyranose constitutives (**Castagne, 2010**). Les caractéristiques les plus intéressantes des cyclodextrines naturelles sont récapitulées dans le tableau suivant :

Tableau I. 03 : Caractéristiques des cyclodextrines naturelles (**Bakkour, 2005 ; Bonnet, 2001**)

Propriétés	α -CD	β -CD	γ -CD
Nombre de glucoses	6	7	8
Formule brute (anhydre)	$C_{30}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{72}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Masse atomique (anhydre)	972,85	1134,99	1294,14
Longueur de la cavité (Å)	7,9±0,1	7,9±0,1	7,9±0,1
Diamètre de la cavité (Å)	4,7-5,3	6,0-6,6	7,5-8,4
Diamètre extérieur (Å)	14,6±0,4	15,4±0,4	17,5±0,4
Volume de la cavité (Å ³)	174	262	427

I.3.3 Cyclodextrines (CDs) modifiées

Généralement l'utilisation des CDs naturelles est limitée en raison de leur faible solubilité dans les milieux aqueux. La modification chimique des CDs permet d'obtenir des dérivés possédant des propriétés physico-chimiques différentes de celles des CDs naturelles et d'élargir leurs champs d'application. Les objectifs de ces modifications sont (**Hanna, 2004**) :

- L'augmentation de la solubilité aqueuse.
- La modification de la capacité de complexation.
- L'introduction de groupements à fonctions spécifiques (catalytique, complexation de cations métalliques, etc.)

Les modifications chimiques les plus courantes portent sur **(Hanna, 2004)** :

- La substitution d'un ou de plusieurs groupements hydroxyles par des halogènes, des groupements amines...etc.
- L'oxydation des alcools primaires pour former des aldéhydes ou des acides carboxyliques.
- La substitution nucléophile interne avec formation d'époxyde.
- La substitution d'un ou de plusieurs atomes d'hydrogène (des hydroxyles primaires ou secondaires) pour former des éthers ou des esters.

I.3.4 Caractéristiques physicochimiques des cyclodextrines

I.3.4.1 Solubilité

Les groupements hydroxyles constituant l'extérieure du cône, confèrent aux CDs un caractère polaire. Malgré la similitude de structure entre les différentes CDs, leur solubilité dans l'eau diffère. En effet, la β -CD, bien que possédant un nombre d'unités glucopyranose intermédiaire entre l' α -CD et la γ -CD, possède la solubilité la plus faible **(Jacquet, 2006)**. Ceci peut être expliquée par la formation d'une ceinture continue de liaisons hydrogène entre les groupements hydroxyles O2 et O3 d'unités de glucose adjacentes, qui rend la molécule de β -cyclodextrine plus rigide que les molécules de α - ou γ - cyclodextrines **(Fleury, 2005)**. Pour l' α -CD, la ceinture de liaisons hydrogène n'est pas complète à cause de la distorsion d'une unité glucose. Donc, au lieu d'avoir 6 liaisons hydrogène possibles, seulement 4, se forment. Tandis que la γ -CD est non-coplanaire, plus flexible, c'est pourquoi c'est la cyclodextrine la plus soluble des trois **(Charbonnier, 1999)**.

La solubilité des cyclodextrines dans l'eau augmente rapidement avec la température, et elle varie en fonction de la nature et de la concentration du solvant. Le tableau I.04 donne quelques valeurs de solubilité pour la β -cyclodextrine dans certains solvants **(Leclercq, 1997)**.

Tableau I. 04 : Solubilité en g/100 ml de la β -cyclodextrine dans différents solvants et à différentes températures (leclerq, 1997)

Solvant/Température	25°C	45°C
Eau	1,85	3,1
Ethanol	0,1	0,1
Propan-1-ol	0,1	0,1
Glycérol	4,3	0,8
Diméthylformamide	Excellente	Excellente
Diméthylsulfoxyde	Excellente	Excellente
Pyridine	Excellente	Excellente
N,N-Diméthylacétamide	Excellente	Excellente

Le tableau suivant liste les différentes propriétés physicochimiques des CDs naturelles (Bakkour, 2005 ; Bonnet, 2001).

Tableau I.05 : Propriétés physicochimiques des CDs naturelles (Bakkour 2005 ; Bonnet, 2001).

Propriétés	α -CD	β -CD	γ -CD
pKa 25 °C	12,332	12,202	12,081
ΔH° (ionisation), kcal/mol	8,36	9,98	11,22
ΔS° (ionisation), cal/(mol.k)	-28,3	-22,4	-17,6
Solubilité (eau, 25°C), mol/l	0,1211	0,0163	0,168
Solubilité (eau, 25°C), g/100ml	14,5	1,83	23,2
Nombre de molécules d'eau dans la cavité	6-7,6	11-12	13,3-17

I.3.4.2 Propriétés basiques

Les paires d'électrons non liés des ponts glycosidiques de l'oxygène sont orientés sur l'intérieure de la cavité, produisant une densité électronique élevée ce qui permet aux CDs d'avoir des propriétés basiques (selon Lewis) (**Bkkour, 2005**).

I.3.4.3 Stabilité

Les cyclodextrines sont stables en milieu alcalin mais peuvent subir une hydrolyse partielle à un pH < 3,5 et à une température supérieure à 60°C, produisant du glucose et une série de maltosaccharides acycliques détruisant ainsi leur structure (**Castagne, 2010 ;Bakkour 2005**).

I.3.4.4 Toxicité

Le profil toxicologique des trois CDs natives les plus communes et de certains de leurs dérivés, a été récemment passé en revue. En général, les CDs naturelles ainsi que leurs dérivés plus hydrophiles sont capables de passer à travers les membranes biologiques lipophiles, telles la cornée, les muqueuses ou la peau, avec de grandes difficultés (**Del Valle, 2003 ; Chekirou, 2012**).

Les cyclodextrines ont longtemps accusées de provoquer des irritations lors de leur application cutanée, ceci étant lié directement à leur capacité à inclure les différents constituants des membranes biologiques. Mais les études de toxicité ont démontré que l'administration orale des cyclodextrines est pratiquement non-toxique, en raison de leur très faible absorption gastro-intestinale (**Del Valle, 2003 ; Chekirou, 2012**).

I.3.5 Propriété complexante

Le caractère amphiphile des CDs (intérieur de la cavité hydrophobe et extérieur hydrophile) leur confère une propriété particulière: la formation de complexes d'inclusion avec de nombreuses molécules organiques. Ce dernier (complexe d'inclusion) (figure I. 7) peut se produire aussi bien en solution qu'à l'état solide (**Willai, 2007 ; Kfoury, 2015**).

Un complexe d'inclusion est la résultante d'une multitude d'interactions mettant en jeu la CD, l'invité et le solvant visant à acquérir l'état thermodynamique le plus stable (**Kfoury, 2015**).

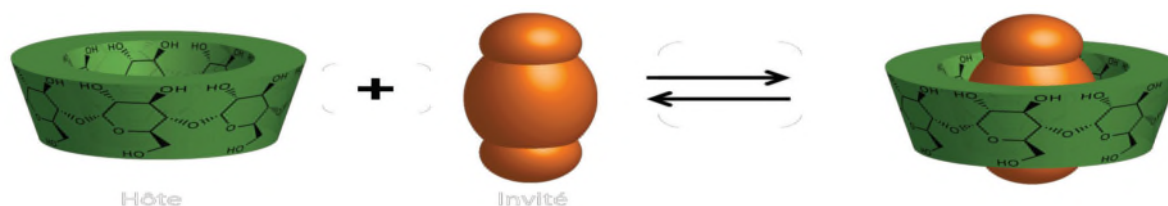


Figure I. 07 : Schéma général de la formation d'un complexe d'inclusion entre une molécule hôte de cyclodextrine et une molécule invitée (Kfouny, 2015).

En solution aqueuse la cavité apolaire de la CD est occupée par des molécules d'eau, énergétiquement défavorables (interactions polaire / apolaire). Ces molécules d'eau pourront donc être facilement substituées par une "molécule invitée" appropriée, moins polaire que l'eau (Bouzitouna, 2009). La formation d'un complexe d'inclusion peut être décrit en 6 étapes (Galant, 2003 ; Kfouny, 2015) :

1-Rapprochement entre l'hôte et l'invité ;

2-Réstructuration du solvant au sein de la cavité impliquant l'expulsion de plusieurs molécules d'eau ;

3-Déstructuration de l'eau autour de l'invité et transfert de plusieurs molécules d'eau vers le reste de la solution ;

4-L'invité pénètre et occupe la cavité de CD formant ainsi un complexe d'inclusion stabilisé par des interactions de Van der Waals, interactions hydrophobes et/ou par des liaisons hydrogène ;

5-Les molécules d'eau libres se réarrangent et forment des liaisons hydrogène entre elles ;

6- La structure de l'eau est restaurée autour de l'invité non complexé.

La figure suivante illustre les étapes de formation d'un complexe type 1/1.

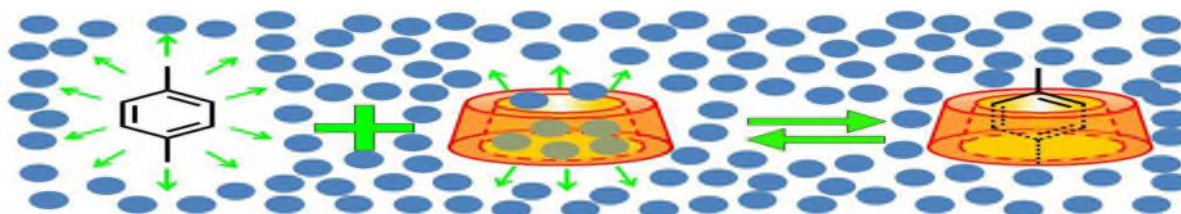


Figure I. 08 : Formation d'un complexe d'inclusion entre une β -CD et une molécule invitée hydrophobe dans l'eau (Partigeon, 2010).

Les complexes CD/invité formés, sont généralement du type 1/1, comme celui décrit ci-dessus, c'est-à-dire qu'une CD complexe une seule molécule invitée. Toutefois, il existe aussi des complexes du type 1/1, 2/1, 1/2 et 2/2 ou d'ordre supérieur (**Nouairi, 2017**).



Figure I. 09: Représentations schématiques de complexes d'inclusion de stoechiométries différentes (**Kfouny, 2015**)

I.3.5.1 Facteur influençant l'inclusion moléculaire

La formation d'un complexe d'inclusion dépend de plusieurs facteurs. Outre la taille, des facteurs tels que la charge, la polarité de la molécule invitée, température et le pH du milieu sont importants pour la formation de complexes d'inclusion (**Oughlis-Hammache, 2018 ; Castagne, 2010**).

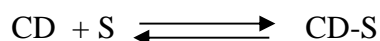
I.3.5.2 Effet de la complexation

La complexation des molécules invitées dans la cavité des CDs peut mener aux changements avantageux des propriétés chimiques et physiques de ceux-ci. Parmi ces changements on peut citer (**Del Valle, 2003**):

- Modification des substances liquides aux poudres.
- Amélioration de la solubilité des substances.
- Stabilisation des substances sensible à la lumière et à l'oxygène.
- Fixation des substances très volatiles.
- Modification de la réactivité chimique des molécules invitées.

I.3.6 Equilibre du complexe d'inclusion

L'association d'une CD et d'une molécule invitée S, ainsi que la dissociation du complexe formé CD-S, est gouvernée par un équilibre thermodynamique de la forme (**Chekirou, 2012**) :



La stabilité du complexe peut être exprimée par la constante de stabilité K_s ou la constante de dissociation K_d :

$$K_s = 1/K_d = [CD-S] / [CD] [S]$$

Où $[CD-S]$, $[CD]$ et $[S]$ sont respectivement les concentrations du complexe, de la CD et de la molécule invitée.

I.3.7 Techniques de caractérisation des complexes d'inclusion

La formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée peut être vérifiée à l'aide de différentes méthodes d'analyse. Les techniques de caractérisation les plus importantes sont l'absorption UV-Visible, le diagramme de solubilité de phase, spectroscopie infrarouge, thermogravimétrie (ATG), diffraction des rayons X et la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) (Oulmou, 2014 ; Leclercq, 1997).

I.3.7.1 Diagramme de solubilité de phase

Cette approche, telle que développée par Higuchi et Connors (1965), est très couramment utilisée pour l'évaluation de l'utilisation potentielle des cyclodextrines afin d'augmenter la solubilité de composés hydrophobes en milieu aqueux. Elle permet en effet d'obtenir le profil de la courbe de solubilité de la molécule invitée en fonction de la concentration en cyclodextrines et donc de prouver l'augmentation de la solubilité en présence de cyclodextrines (Wisse, 1999).

Les diagrammes de solubilité ou isothermes de solubilité sont réalisés en mesurant la concentration maximale que le composé peut atteindre dans une solution aqueuse de CD. La molécule invitée est placée en excès en présence de solutions aqueuses de cyclodextrines de concentrations croissantes, à une température donnée. Après un temps d'agitation nécessaire pour atteindre la complexation (de plusieurs heures à plusieurs jours), la quantité totale du composé solubilisé est mesurée. Un diagramme de solubilité est donc réalisé en représentant sur un graphique la solubilité apparente du composé en fonction de la concentration totale de CD (bouchalta, 2017).

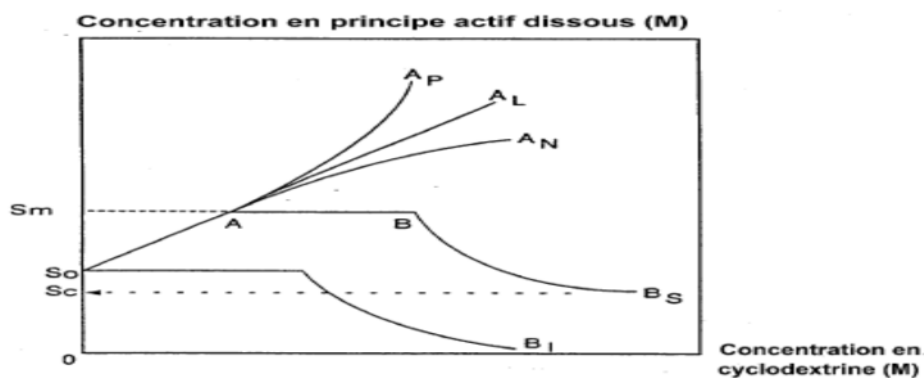


Figure I. 10 : Types de diagrammes de solubilité selon la classification de Higuchi et Connors (Vaysse-Dufaure, 2011).

Higuchi et Connors ont classé les différents types de diagrammes caractérisant les interactions substrat-ligand, auxquelles peuvent être assimilées les interactions cyclodextrine-molécule invitée. On distingue deux types majeurs; type A et type B.

Le type A est obtenu quand la solubilité apparente de la substance augmente avec des concentrations croissantes en cyclodextrine (Castagne, 2010).

- Les profils AL (linéaires) sont généralement attribués à la formation de complexes 1/1.
- Un diagramme de type AP traduit la formation simultanée de complexes de stœchiométries différentes (1/1 à l'origine, puis 1/2 ou 1/3, ...).
- Un profil AN peut être difficile à interpréter. La chute de solubilité par rapport au profil linéaire peut être liée à des modifications de la solubilité du complexe ou à l'association de molécules de cyclodextrines entre elles.

Les courbes de type B sont observées lorsque le complexe d'inclusion a une solubilité limitée. Si on considère la courbe BS, la solubilité du substrat est augmentée par l'ajout de cyclodextrine jusqu'au point A. Du point A à B, la solubilité maximale du complexe est atteinte puis l'ajout de cyclodextrine entraîne une précipitation du complexe. Pour la courbe Bi, l'ajout de cyclodextrine n'entraîne pas une augmentation de solubilité du substrat. De plus, au bout d'une certaine concentration, le complexe d'inclusion précipite. La constante d'association K_s d'un complexe 1 / 1 peut être déterminée à partir de la portion linéaire des diagrammes BS ou A selon l'équation (Vaysse-dufaure, 2011) :

$$K_s = \frac{\text{pente}}{S_0(1 - \text{pente})} \dots \dots \dots \text{I. 2}$$

I.3.7.2 Spectroscopie UV

Beaucoup de molécules invitées présentent une modification de leur spectre d'absorption UV-visible lorsqu'elles sont incluses dans une cyclodextrine. On peut observer un déplacement du maximum d'absorption ou une diminution du coefficient d'extinction molaire.

La Figure I.11 montre l'influence de l'addition de β -cyclodextrine dans un rapport molaire variant de 0 à 100 mM sur le spectre d'une solution de piroxicam. L'ajout de cyclodextrine entraîne un effet hypsochrome et hypochrome sur le spectre UV du piroxicam (Vaysse-Dufaure, 2011).

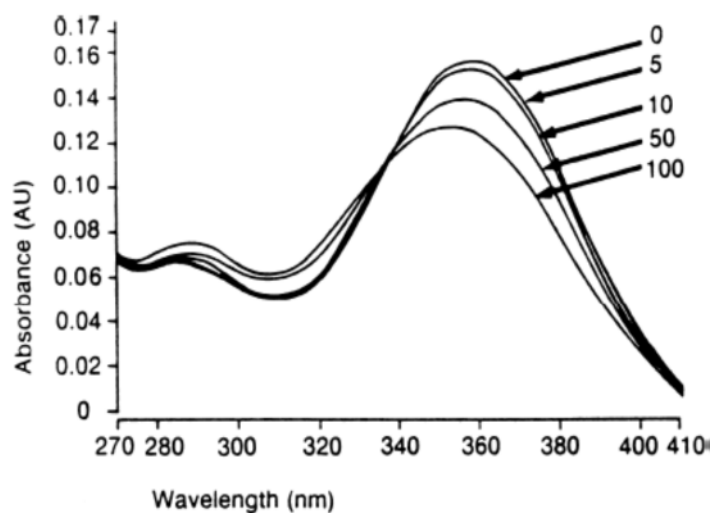


Figure I.11 : Influence de l'addition de la β -cyclodextrine sur le spectre UV d'une solution aqueuse d'un principe actif, le piroxicam à 95 μ M et à pH 5 (Vaysse-Dufaure, 2011).

I.3.7.3 La calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

La DSC est utilisée pour la mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion sous forme solide. Suite à la complexation, les propriétés thermodynamiques des composés changent permettant de détecter la modification ou la disparition du pic caractéristique de l'invité correspondant à son évaporation ou sa fusion suite à l'encapsulation (Kfoury, 2015).

I.3.7.4 La diffraction des rayons X (DRX)

La DRX permet de détecter les changements dans le réseau cristallin lors de la complexation. On observe généralement, une disparition ou une diminution des pics

caractéristiques de l'invité reflétant la perte de cristallinité associée à son inclusion dans la CD (Kfoury, 2015).

I.3.7.5 Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'analyse ATG donne des informations sur la formation des complexes d'inclusion entre les cyclodextrines et certaines molécules invitées. L'ATG consiste à mesurer très précisément la variation de masse d'un échantillon lorsque celui-ci est soumis à un régime de température sous atmosphère contrôlée. Cette technique permet d'accéder aux températures d'oxydation et de dégradation, et de quantifier les différents groupes fonctionnels d'un composé (Willai, 2007 ; Benhadi, 2010).

I.3.7.6 Spectroscopie Infrarouge (IR)

L'infrarouge est une technique qui peut être également utilisée pour caractériser les complexes d'inclusion. D'après la littérature, la bande OH caractéristique des CD est influencée par la formation du complexe et les bandes de la partie incluse de la molécule invitée sont généralement déplacées ou leur intensité diminue suite à la modification de l'environnement de l'invité. Les spectres des complexes présentent généralement un léger déplacement des pics, ce qui indique qu'il n'y a pas de liaison chimique forte (covalente) entre les composés mais juste une interaction. Chaque bande du spectre caractérise un groupement fonctionnel de la molécule et son déplacement permet de désigner quelle partie de la molécule invitée à interagir avec la CD (Oulmou, 2014).

I.3.8 Application des cyclodextrines

Grace à leur faible toxicité, le champ d'utilisation des cyclodextrines comme molécules hôtes (ou molécules cages) est très large. De nombreuses applications, qui utilisent en général la capacité complexante des CDs avec un grand nombre de molécules invitées, se sont développées. Ceci est dû à leurs différentes propriétés, et plus particulièrement celle caractérisant les β -CDs, qui les rendent très largement employées (Chekirou, 2012).

I.3.8.1 Application alimentaire

Dans l'industrie alimentaire, les CDs ont trouvé de nombreuses applications, elles forment des complexes d'inclusion avec une variété de molécules comprenant des graisses,

des arômes et des colorants (**Del Valle, 2003**). Elles sont utilisées principalement dans le but de préserver les arômes lors du stockage ou de leur manipulation.

Les cyclodextrines peuvent permettre d'envisager l'élimination ou la réduction des odeurs, des goûts indésirables et de la contamination bactériologique. Elles permettent aussi de prolonger la durée gustative des chewing-gums, de protéger les acides gras inclus dans leur cavité vis-à-vis de l'oxydation. Le tableau suivant présente quelques exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications alimentaires (**Leclerq, 1997**) :

Tableau I.06 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrine dans des applications alimentaires (**Leclerq, 1997**).

Propriétés	Substances concernées
Stabilité de produits volatils	Menthol, moutarde, confiseries
Stabilité contre l'oxydation	Framboise, café, miel
Résistance à la chaleur	Produits diététiques
Masquage d'odeurs indésirables	Café, thé, limonène
Prolongation des arômes	Bonbons, chewing-gum

I.3.8.2 Domain pharmaceutique

Les cyclodextrines sont des molécules intéressantes pour la formulation de médicaments, c'est pourquoi elles sont couramment utilisées dans le domaine de la technologie pharmaceutique. Les principales applications de ces excipients résident dans leur capacité à solubiliser des substances actives peu solubles en milieu aqueux et à améliorer potentiellement la biodisponibilité de molécules hydrophobes. Elles permettent parfois d'augmenter la stabilité, de diminuer la perception du mauvais goût voire les effets indésirables de certains principes actifs. De nombreux complexes à base de cyclodextrines ont

été étudiés en solution ou à l'état solide pour être délivrés par différentes voies d'administration (Castagne, 2010).

I.3.8.3 Domaine cosmétique

Les CDs sont encore employées dans les industries cosmétiques et parfumeries. Elles sont utilisées pour diminuer la volatilité des parfums. Les principaux avantages des cyclodextrines dans ce secteur sont la stabilisation, la protection et la livraison des arômes (Bakour, 2005).

I.3.8.4 Domaine environnemental

Les CDs peuvent jouer un rôle important dans la science environnementale. Les CDs sont utilisées dans le traitement de l'eau afin d'éliminer les agents contaminants. Les eaux usagées contenant des composés aromatiques tels que le phénol et le benzène peuvent être débarrassées de ces produits par le traitement avec la β -CD, ce qui confère aux CDs un rôle important dans la protection environnemental (Chekirou, 2012).

I.3.8.5 Domaine textile

Dans ce domaine les CDs sont surtout impliquées au niveau du finissage des textiles. Elles permettent de supprimer ou masquer les odeurs indésirables ou bien de renforcer l'absorption des colorants par le tissu et donc réduire leur perte durant le rinçage. De plus, les CDs permettent de récupérer une partie des colorants présents dans les eaux de lavage des usines (Kfoury, 2015).

I.4 Plans d'expériences

I.4.1 Introduction

A l'époque actuelle, bon nombre de procédés de fabrication ou d'expériences en laboratoire deviennent de plus en plus complexes car ils dépendent d'un grand nombre de variables difficiles à régler intuitivement. Ceci concerne, par exemple :

- Le pilotage optimal de machine-outil ;
- La détermination des proportions d'un mélange chimique ;
- La recherche des conditions environnementales optimales pour la production agricole, etc.

Seule la réalisation d'expériences va permettre d'appréhender et de modéliser de tels phénomènes complexes. Si ces expériences sont effectuées sans une méthodologie rigoureuse, il est fort probable qu'elles vont soit conduire à des impasses (modèle impossible à ajuster, résultats incohérents, etc.), soit à des résultats de qualité décevante. C'est pourquoi la méthode des plans d'expérience est préconisée afin d'optimiser ce type de démarche (**Tinsson, 2010**).

I.4.2 Définition

La méthode des plans d'expérience a été mise au point au début du siècle, dans les années 1920, par le statisticien anglais Sir Ronald A. Fischer, dans le cadre d'études agronomiques. Les plans d'expériences (PE) constituent essentiellement une stratégie de planification d'expériences afin d'obtenir des conclusions solides et adéquates de manière efficace et économique. La méthodologie des plans d'expériences se base sur le fait qu'une expérience convenablement organisée, conduira fréquemment à une analyse et à une interprétation statistique relativement simple des résultats (**Karam, 2004**).

I.4.3 Terminologie

L'expérimentateur dans son étude, s'intéresse à une grandeur qu'il mesure à chaque essai. Cette grandeur s'appelle la réponse, c'est la grandeur d'intérêt. La valeur de cette grandeur dépend de plusieurs variables appelées facteurs. La valeur donnée à un facteur est appelée un niveau. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes, la borne inférieure (ou niveau bas) et la borne supérieure (ou niveau haut). L'ensemble des valeurs entre le niveau bas et niveau haut est appelé domaine de variation du facteur (**Babaud, 2010**).

S'il existe plusieurs facteurs, la réunion des domaines de chaque facteur définit le domaine d'étude. Ce domaine d'étude est la partie de l'espace expérimental retenue par l'expérimentateur pour faire ses essais. Une étude, c'est-à-dire un ensemble d'expériences bien définies, est représenté par une série de points disposés dans le domaine d'étude (Figure I.12). A chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. A l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localisent sur une surface appelée surface de réponse (Figure I.13) (**Babaud, 2010**).

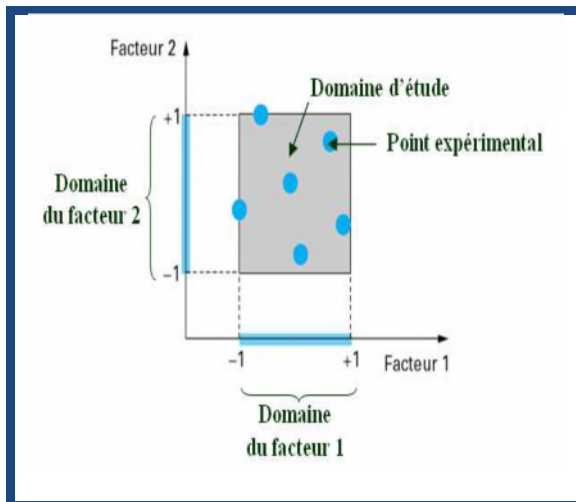


Figure I.12 : Domaine d'étude pour 2 facteurs.

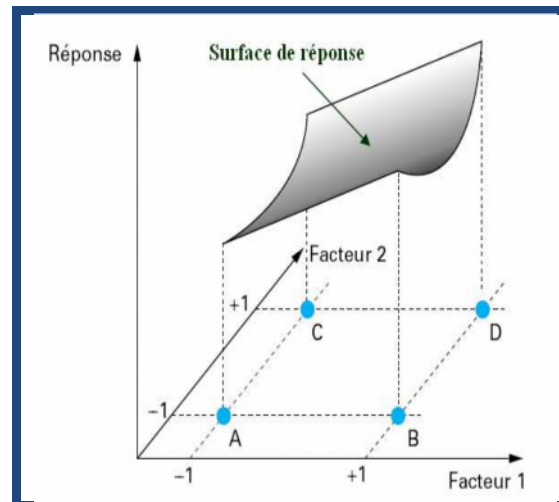


Figure I.13 : Surface de réponse.

I.4.4 Principe

Le principe des plans d'expériences consiste à faire varier simultanément les niveaux de un ou plusieurs facteurs à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse et en permettant de modéliser facilement les résultats. Le point délicat dans l'utilisation des plans d'expériences sera donc de minimiser le plus possible le nombre d'expériences à mener sans sacrifier la précision sur les résultats (Faucher, 2006).

I.4.5 Plans d'expérience pour surface de réponse

Il existe un grand nombre de plans d'expériences selon le nombre de variable à étudier. Parmi ces plans, certains sont plus fréquemment utilisés notamment le plan factoriel complet et le plan fractionnaire (Babaud, 2010).

I.4.5.1 Plan composite

Les plans factoriels complets sont des plans pour lesquels le nombre de niveau de chaque facteur est restreint à deux. Toutes les combinaisons de niveaux sont effectuées au cours de l'expérimentation, soit 2^k essais pour (k) facteur étudiés. Les plans composites centrés sont en fait des plans factoriels complets auxquels on a ajouté des points dits en étoile et des points au centre. Ils permettent l'étude d'un modèle quadratique, dans la plupart des cas des phénomènes non linéaires (Babaud, 2010 ; Vial et Jardy, 1997 ; Ghalouni, 2011).

Dans un plan composite centré, le domaine de variation des facteurs est ramené à $[-\alpha ; +\alpha]$. Ainsi un facteur variant dans l'intervalle $[Z_{j\min} ; Z_{j\max}]$ sera découpé en 5 niveaux $-\alpha, -1, 0, 1$ et $+\alpha$. Le nombre totale des essais à réalisés N_t et le paramètre α sont calculés grâce aux formules suivantes (Ghalouni, 2011) :

$$N_t = N_f + N_\alpha + n_0 = 2^k + 2k + n_0 \dots \dots \dots \text{I.3}$$

$$\alpha = N_f^{1/4} \dots \dots \dots \text{I.4}$$

Ou :

$N_f = 2^k$ est le nombre des essais pour le plan factoriel ;

$N_\alpha = 2k$ est le nombre des essais en étoile ;

n_0 = nombre d'essai au centre du domaine.

I.4.5.2 Matrice des expériences

Dans un plan composite centré, la matrice des expériences pour trois facteurs à deux niveaux qui permet de déterminer les essais à réaliser est semblable à la matrice représentée dans le tableau I.07. Cette matrice est constituée de trois parties différentes. La première partie (essais 1 à 8) est la partie factorielle. La seconde partie (9 à 14) regroupe les essais en étoile et la troisième (15 à 17) partie regroupe les essais au centre du domaine (Tinson, 2010).

Tableau I.07 : Matrice des expériences (plan composite centré)(Tinson, 2010).

Nombre d'essais	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	-1.6818	0	0
10	+1.6818	0	0
11	0	-1.6818	0
12	0	+1.6818	0
13	0	0	-1.6818
14	0	0	+1.6818
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0

I.4.6 Modélisation

La modélisation est l'objectif des plans d'expériences. Elle permet une fois que les facteurs influents sont identifiés, de trouver l'équation ou la fonction qui décrit au mieux les variations du phénomène étudié en fonction de ces facteurs (**Goupy, 1999**).

I.4.6.1 Variable centrés réduites

L'établissement du modèle exprimant la réponse en fonction des paramètres opératoires, nécessite la transformation de ces derniers en variables codées ou variables centrées réduites. La formule permettant le passage des valeurs réelles $Z_1, Z_2 \dots Z_K$ aux variables codées $x_1, x_2 \dots x_K$ (variable codées) est la suivante (**Oughlis-Hammache, 2018**) :

$$x_j = \frac{Z_j + Z_j^0}{\Delta Z_j}, \quad j = 1, 2 \dots k \dots \dots \dots \text{I. 5}$$

$$\text{avec : } Z_j^0 = \frac{Z_{j \max} + Z_{j \min}}{2} \quad \text{et} \quad \Delta Z_j = \frac{Z_{j \max} - Z_{j \min}}{2}, \quad j = 1, 2 \dots k.$$

$x_1, x_2 \dots x_k$: variables codées ;

$Z_1, Z_2 \dots Z_k$: facteur contrôlés ;

Z_j^0 : variable réelle correspondante au centre du plan ;

ΔZ_j : Unité ou intervalle de variation suivant l'axe des Z_j ;

Z_{\min} : Valeur minimale de la variable réelle ;

Z_{\max} : Valeur maximale de la variable réel.

I.4.6.2 Modèle

Toute réponse expérimentale peut être écrite sous la forme suivante (**Goupy, 1999**) :

$$y = f(Z_1, Z_2 \dots Z_K) + e \dots \dots \dots \text{I. 6}$$

y : Réponse expérimentale ;

e : Erreur expérimentale ;

f : Est une fonction inconnue (modèle théorique) des facteurs influents ($Z_1, Z_2 \dots Z_k$).

Les modèles empiriques les plus utilisés sont des modèles polynomiaux de degré généralement inférieur ou égal à 2 (**oughlis-Hammache, 2018**) :

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{\substack{u,j=1 \\ u \neq j}}^k \beta_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + e \dots \dots \dots \text{I. 7}$$

Le modèle théorique s'écrira donc :

$$\hat{y} = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{\substack{u,j=1 \\ u \neq j}}^k \beta_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 \dots \dots \dots \text{I. 8}$$

Où \hat{y} est la valeur prédite par le modèle. (X_j) représente le niveau attribué au facteur (j), c'est la valeur de la coordonnée du facteur (j) retenue par l'expérimentateur pour réaliser son essai. (β_0 constante de régression), (β_j effets linéaires), (β_{uj} effets d'interactions) et (β_{jj} effets quadratiques) sont les coefficients du modèle mathématique adopté pour décrire les résultats de l'expérience. Ces coefficients sont les inconnues qu'il faut déterminer (**oughlis-hammache, 2018 ; babaud, 2010**).

A la fin du plan d'expérience, on a donc (n) équations polynomiales (s'il y a n essais) à (p) inconnues (s'il y a p coefficients dans le modèle choisi). Le modèle I.7 s'écrit d'une manière simple sous forme matricielle (**babaud, 2010**):

$$Y = X\beta + E \dots \dots \dots \text{I. 9}$$

Avec

Y : Vecteur réponse ;

X : Matrice de calcul, dépendant des points expérimentaux choisis pour exécuter le plan du modèle postulé ;

β : Vecteur des coefficients ;

E : Vecteur des résidus.

Afin de résoudre ce système possédant moins d'équations que d'inconnues. On utilise la méthode de régression des moindres carrés. On obtient ainsi les estimations les plus probables des coefficients β .

L'expression qui permet le calcul des coefficients du modèle est la suivante (**Oughlis-Hammache, 2018**) :

$$\beta = (X^T X)^{-1} X^T Y \dots \dots \dots \text{I. 10}$$

X^T : est la transposée de la matrice de calcul X.

I.4.6.3 Test de signification des coefficients modèle

La signification des coefficients du modèle est déterminée par le test de Student (**Oughlis-Hammache, 2018**) les valeurs de t_j sont calculées par l'expression suivante :

$$t_j = \frac{|b_j|}{Sb_j} \dots \dots \dots \text{I. 11}$$

Où :

t_j suit une loi de student;

b_j le jème coefficient de l'équation de régression ;

Sb_j est l'écart quadratique moyen qui est défini dans le cas d'un modèle du second degré par :

$$Sb_j^2 = C_{jj} S_{\text{rep}}^2 \dots \dots \dots \text{I. 12}$$

C_{jj} sont les éléments diagonaux de la matrice variance-covariance ($X^T X$) et S_{rep}^2 est la variance de reproductibilité, elle est calculée par la loi suivante :

$$S_{\text{rep}}^2 = \frac{\sum_1^{n_0} (y_{oi} - \bar{y}_0)^2}{(n_0 - 1)} \dots \dots \dots \text{I. 13}$$

y_{oi} et \bar{y}_0 représente respectivement la réponse et moyenne des réponses mesurées.

Si la valeur de t_j est supérieure à la valeur t_α (f) lue sur la table de Student correspondant au risque $\alpha = 5\%$ pour un nombre de degré de liberté $f_1 = n_0 - 1$ alors le coefficient b_j est significatif. Les coefficients non significatifs sont exclus de l'équation du modèle (**Oughlis-Hammache, 2018**).

I.4.6.4 Test de validité du modèle

La validité du modèle est vérifiée par le test de Fischer qui consiste à comparer la variance résiduelle $S_{rés}^2$ à la variance de reproductibilité (**Goupy, 1999**).

$$S_{rés}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{(N - p)} \dots \dots \dots \text{I. 14}$$

N est le nombre d'essai, ($f_2=N-p$) nombre de degrés de liberté (p étant le nombre de coefficients significatifs).

Si : $F_1 = \frac{S_{rés}^2}{S_{rep}^2} < F(\alpha, f_2, f_1)$ avec $F(\alpha, f_2, f_1)$ est la valeur lue sur la table de Fischer correspondant au risque $\alpha = 5\%$, cela signifie que la différence entre les deux variances est petite c'est-à-dire les variances sont homogènes et le modèle est sans biais.

I.4.6.5 Test de signification globale de la régression

La signification globale de la régression est testée par la comparaison de la variance due à la régression S_{reg}^2 à la variance résiduelle (**Goupy, 2001**) :

$$F_2 = \frac{S_{reg}^2}{S_{rés}^2} \dots \dots \dots \text{I. 15} \quad \text{Avec : } S_{reg}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{(p-1)} \dots \dots \dots \text{I. 16}$$

Si F_2 est supérieur à la valeur tabulée du test de Fisher $F(\alpha, f_3, f_2)$ pour le niveau de signification $\alpha=5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f_3=p-1$ et f_2 , dans ce cas, les variables retenues pour la modélisation ont, dans leur ensemble, un effet significatif sur y et l'équation est adéquate.

I.4.6.6 Coefficient de corrélation R^2

Pour apprécier la précision de l'équation de régression, on calcule le coefficient de détermination R^2 qui représente le taux de corrélation entre les réponses calculées par la régression et celles mesurées (**Oughlis-Hammache, 2018**).

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2} \dots \dots \dots \text{I. 17}$$

CHAPITRE II

Chapitre II

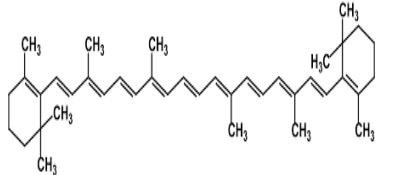
Matériels et méthodes

II.1 Produits chimiques utilisés

II.1.1 β -carotène

Le β -carotène(β -car) que nous avons utilisé provient de chez SIGMA ALDRICH, il est sous forme de poudre de couleur rouge, ses caractéristique physico-chimique sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

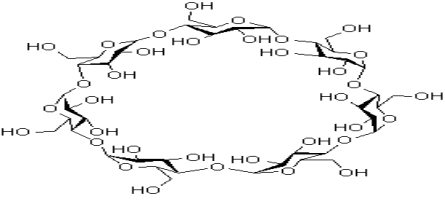
Tableau II.1 : Caractéristiques physico-chimique du β -car utilisé.

Nom	Formule chimique	Formule développée	Masse molaire g/mol	Pureté %
β -carotène	$C_{40}H_{56}$		536,87	97

II.1.2 β -Cyclodextrine

La β -Cyclodextrine (β -CD) que nous avons utilisé est fourni par Alfa Aesar, elle est sous forme de poudre blanche, ses caractéristiques physico-chimiques sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

Tableau II.2: Caractéristiques physico-chimiques et structurales de la β -CD utilisée.

Nom	Nombre d'unités glucose	Formule chimique	Formule développée	Masse molaire g/mol	Solubilité dans l'eau g/L à 25°C
β -CD	7	$C_{42}H_{72}O_{35}$		1135	18,3

II.1.3 Solvants utilisés

Les solvants utilisés dans ce travail ainsi que leurs caractéristiques physico-chimiques sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau II.3 : Solvants utilisés et leurs propriétés physico-chimiques.

Solvants	Formule chimique	Masse molaire g/mol	Densité	Pureté	Fournisseur
Ethanol	C ₂ H ₆ O	46,07	0,81	96%	PROLABO
Hexane	C ₆ H ₁₄	86,18	0,659	95%	SIGMA-ALDRICH

II.1.4 Acide et base utilisés

Tableau II.4 : Les caractéristiques physico-chimiques de l'acide citrique monohydraté et de di-Sodium hydrogénophosphate

Nom	Formule chimique	Masse molaire g/mol	Pureté	fournisseur
Acide citrique monohydraté	C ₆ H ₈ O ₇ .H ₂ O	210,14	-	BIOCHEM Chemopharma
di-Sodium hydrogénophosphate	Na ₂ HPO ₄	141,96	99%	PROLABO

II.2 Appareillage

- Balance Analytique : toutes les pesés ont été réalisées moyennant une balance de marque « OHAUS », de 0,1 mg de précision.
- Agitateur oscillant «Vibromatic» à 8 postes assurant une agitation axiale mécanique à vitesse réglable (0-1000 U/min).

**Figure II.01** : Agitateur axiale mécanique.

- Agitateur magnétique multipostes de marque «VELP scientifica» à vitesse réglable.

- Un pH mètre : Les mesures du pH ont été effectuées avec un pH mètre de marque « HANNA », modèle pH 211.
- Ultrason «Tierratech» à temps et à température réglables.
- Bain marie de marque «julabo» (0-140 °C).
- Logiciel « Origin6.0 » pour tracer les spectres
- Une centrifugeuse de marque « Hettich ZENTRIFUGEN », modèle EBA 20.



Figure II.02 : Centrifugeuse.

- Un spectrophotomètre UV- Visible de marque « Thermo SCIENTIFIC », modèle EVOLUTION 220.



Figure II.03 : Spectrophotomètre UV-Visible

- Un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) de marque SHIMADZU, modèle Affinity-1.



Figure II.04 : Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)

- Analyseur thermogravimétrique de type SETERAM TG/DTA 92



Figure II.05 : Analyseur thermogravimétrique

II.3 Protocoles expérimentaux

II.3.1 Détermination de la longueur d'onde maximale d'absorption du β -carotène

Afin de déterminer la longueur d'onde maximale, nous avons préparé une solution de β -carotène ($C= 20 \text{ mg/l}$) dans l'éthanol et nous avons réalisé son spectre d'absorption par un balayage spectroscopique dans l'intervalle 200-800nm et nous avons déterminé la longueur d'onde maximale λ_{max} qui correspond à l'absorbance maximale du spectre.

II.3.2 Courbes d'étalonnage

La courbe d'étalonnage de β -carotène ($A= f(C)$) a été obtenue en mesurant l'absorbance de solutions de concentrations connues (étalons) (1, 5, 10, 15, 10, 25) mg/L à la longueur d'onde $\lambda_{\text{max}}=452\text{nm}$. Ces solutions ont été préparées à partir d'une solution mère de β -car

($C=50\text{mg/L}$, soit une masse de 5mg dans 100 ml d'éthanol) et diluées avec un mélange éthanol/eau.

La courbe d'étalonnage du β -car ($A= f(C)$) dans l'hexane a été réalisée à l'aide de 5 standards de concentration croissantes (0.8, 1, 1.4, 1.8, 2) mg/L préparés à partir d'une solution mère de $C= 5\text{mg/L}$ dont les absorbances ont été mesurées à la longueur d'onde $\lambda_{\text{max}}=452\text{nm}$.

II.3.3 Test de dégradation du β -carotène

Le test de dégradation du β -car a été effectué par la préparation d'une solution mère du β -car de concentration de 10mg/L dans un mélange éthanol/eau 50/50 v/v.

Après avoir mesuré l'absorbance de la solution mère du β -car à t_0 des lots de tube à essai ont été préparés de façon à avoir 5ml de la solution mère dans chacun des tube à essai.

Afin d'évaluer l'effet de la température sur la dégradation du β -car, des lots de tube à essai contenant la solution du β -car à la même concentration initiale ont été maintenus aux températures 5 °C, 37 °C, 50 °C et 80 °C et pour évaluer l'effet de la lumière sur la dégradation de ce dernier (β -car), un lot de tube à essai a été exposé à la lumière tandis qu'un autre a été mis à l'abri de la lumière.

La cinétique de dégradation a été suivie par la mesure des absorbances des échantillons à des différents laps de temps.

II.3.4 Préparation des solutions tampon

Afin de maintenir un pH constant durant les opérations de complexation, des solutions tampon phosphate-citrate à différent pH ont été préparées par mélange de volumes bien définis de deux solutions de concentrations égales ($C=0,5\text{ M}$) d'acide citrique monohydraté et d'hydrogénophosphate de sodium.

Les solutions d'acide citrique et d'hydrogénophosphate à 0.5M ont été préparées par dissolution de 52,535g et 70,98 g dans 500 ml et 1000 ml d'eau distillée respectivement.

Le tableau suivant résume les volumes prélevés de chacune des deux solutions et les volumes d'eau distillée ajoutés pour la préparation des différentes solutions tampon.

Tableau II.5 : Préparation des solutions tampon.

pH	V (Na ₂ HPO ₄ à 0,5 M) ml	V (C ₆ H ₈ O ₇ à 0,5 M) ml	V (ED) ml
4	30,84	24,58	200
5	41,20	19,40	500
6.5	58,20	10,90	1000
8	77,80	01,10	500
9	200	00,00	200

II.3.5 Optimisation du temps d'équilibre

Pour l'optimisation du temps d'équilibre de la réaction de formation du complexe β -car/ β -CD, nous avons préparé deux solutions mères, une solution de β -car dans l'éthanol et une solution de β -CD dans l'ED de telle sorte que la $[\beta\text{-car}] = 2 [\beta\text{-CD}] = 2,73 \cdot 10^{-5} \text{ M} \cdot 10^{-5} \text{ M}$. Ensuite, nous avons préparé 6 échantillons contenant 12,5 ml de chacune des deux solutions mères et nous les avons mis sous agitation dans l'obscurité. L'absorbance initiale de la solution ainsi préparée a été mesurée.

La cinétique de l'encapsulation a été suivie par la mesure des absorbances des échantillons à différents temps. Un graphe donnant la variation de ces absorbances en fonction du temps est alors tracé pour déterminer le temps d'équilibre.

II.3.6 Préparation des complexes d'inclusion

La méthode de co-précipitation a été utilisée pour la préparation des complexes d'inclusion du β -CD/ β -car. Nous avons préparé des échantillons en mélangeant des concentrations équimolaires de β -car et β -CD ($2,32 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) dans 80ml éthanol/eau et nous les avons mis sous agitation à l'abri de la lumière, à température ambiante jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint (48 h). Les suspensions obtenues ont été cristallisées à 5°C pendant une heure puis centrifugées à 6000rpm durant 10min et le précipité obtenu a été séché à 37°C.

II.3.6.1 Caractérisation des complexes d'inclusion

Nous avons utilisé trois techniques de caractérisation afin de mettre en évidence la formations des complexes β -CD/ β -car à savoir :

II.3.6.1.1 Diffraction des Rayons X (DRX)

La caractérisation par DRX a été effectuée sur un appareil de marque X Pert Pro Panalytical. Les diffractogrammes ont été enregistrés dans l'intervalle de 2θ allant de 0° à 80° avec une vitesse de scanne de $2^\circ/\text{min}$.

II.3.6.1.2 Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les thermogrammes des composés β -CD, β -car et du β -CD/ β -car ont été enregistrés à l'aide d'un analyseur thermogravimétrique de marque SETERAM TG/DTA 92 constituer d'un ATG/DTG/ATD couplé et piloté par un micro-ordinateur. Ce modèle peut fonctionner dans l'intervalle de température allant de 20 jusqu'à 900°C , avec une précision pouvant atteindre 10mg à 20 mg. Les mesure sont faites sous atmosphère d'Azote avec une vitesse de chauffe de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

II.3.6.1.3 Spectroscopie Infrarouge

La spectroscopie Infrarouge a été utilisée pour déterminer les interactions entre hôte/invitée. Les spectres ont été obtenus dans la gamme $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ en utilisant un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) de marque SHIMADZU, modèle Affinity-1. Les analyses ont été réalisées sur des pastilles du β -CD, β -car et β -CD/ β -car préparés dans le KBr.

II.3.7 Elaboration du diagramme de solubilité

Le diagramme de solubilité de phase du β -carotène en fonction la concentration de β -CD a été réalisé selon la méthode décrite par Higuchi et Connors ; nous avons préparé des échantillons de 25ml de concentrations croissantes de β -CD (0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6)M dans mélange éthanol/eau (25/75 v/v) et nous avons ajouté un excès de β -car (2mg) pour chacune des solutions. Ces dernières sont ensuite placées sous agitation dans l'obscurité à température ambiante 22°C .

Après avoir atteint l'équilibre (48 h), les échantillons ont été filtrés pour éliminer le β -car non solubilisé. Le surnageant collecté subit une extraction avec l'hexane et la phase organique est analysée par l'UV-Visible afin de déterminer la concentration de β -car solubilisé par la β -CD.

Le diagramme de solubilité de phase est ensuite construit pour observer le profil de solubilité en portant les concentrations de β -CD sur l'axe des abscisses et les concentrations de β -car sur l'axe des ordonnées.

La constante d'association K_c a été calculée à partir de la pente de la droite et de la solubilité intrinsèque S_0 par la loi suivante :

$$K_c = \frac{\text{pente}}{S_0(1 - \text{pente})}$$

La solubilité intrinsèque S_0 est la quantité de β -car solubilisé dans le mélange éthanol/eau (25/75 v/v) sans ajout de cyclodextrine. Elle a été déterminée à partir de l'intersection de la droite avec l'axe des ordonnées dans le diagramme de solubilité de phases.

II.4 Préparation des essais des plans d'expériences

L'optimisation de l'opération de la complexation du β -car par la β -CD a été effectuée par la méthode de planification des expériences.

Les essais ont été réalisés dans 100 ml (25/75 v/v) éthanol/eau comme suit :

- La quantité de β -car indiquée a été pesée et solubilisée dans 25 ml d'éthanol par ultrason pendant 5 min.
- La quantité de β -CD indiquée a été pesée et dissoute dans 75 ml de la solution tampon correspondante et mélangée avec la solution du β -car.
- Les essais ont été mis sous agitation dans l'obscurité à température ambiante 22°C pendant 48 h.
- Après avoir atteint l'équilibre, les échantillons ont été analysés par la mesure des absorbances pour chaque essai. La concentration de β -car non encapsulée a été donc déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

$$\% \text{Rendement} = \frac{\text{Quantité de } (\beta\text{-car})_{\text{totale}} - \text{Quantité de } (\beta\text{-car})_{\text{libre}}}{\text{Quantité de } (\beta\text{-car})_{\text{totale}}} * 100$$

CHAPITRE III

Chapitre III

Résultats et discussions

III.1 Détermination de la longueur d'onde maximale d'absorption du β -carotène

Sur la figure III.1 est représenté le spectre UV-Visible du β -car dans le domaine de longueur d'onde allant de 200-800 nm. Nous constatons que l'absorbance maximale de ce dernier correspond à la longueur d'onde $\lambda_{\max} = 452$ nm.

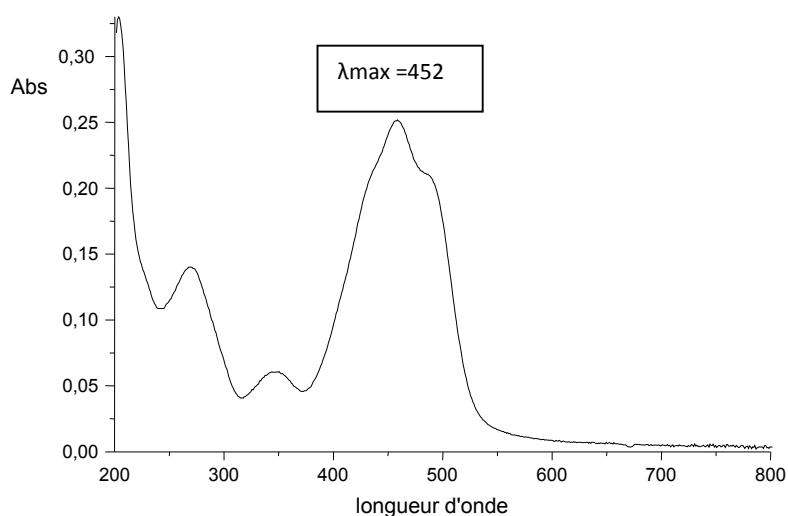


Figure III.1 : Spectre UV-Visible du β -carotène dissout dans l'éthanol ($C = 20\text{mg/l}$)

III.2 Courbes d'étalonnage du β -carotène

La figure III.2 représente la courbe d'étalonnage de β -car dans un mélange eau/éthanol (50/50 v/v) tandis que la figure III.3 représente la courbe d'étalonnage du β -car dans l'hexane.

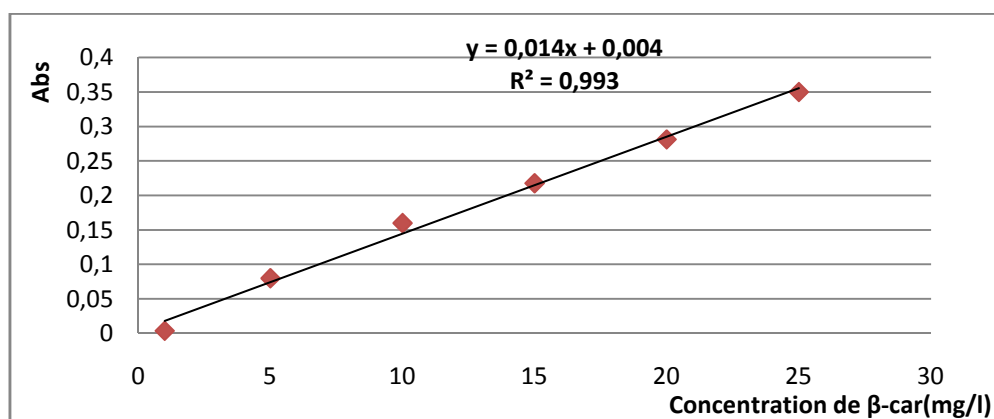


Figure III.2 : Courbe d'étalonnage du β -car dans eau/éthanol (50/50 v/v).

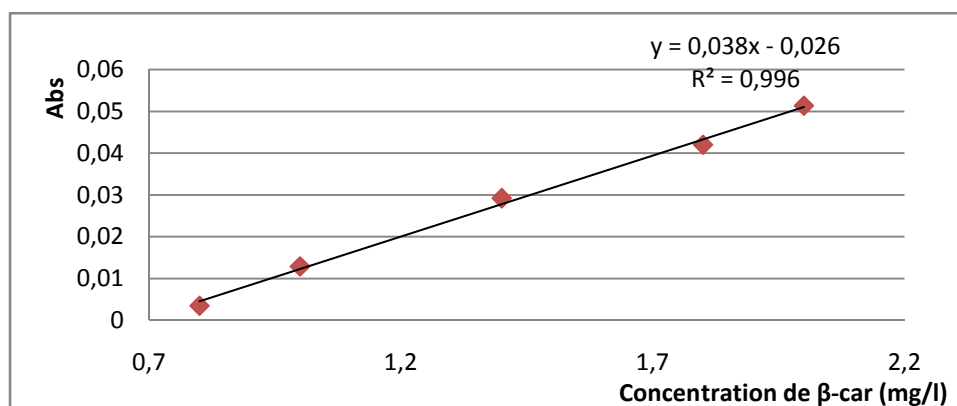


Figure III.3 : Courbe d'étalonnage du β -car dans l'hexane.

III.3 Etude de l'effet de la température et de la lumière sur la dégradation du β -carotène

Afin d'étudier l'effet de la température et de la lumière sur la dégradation du β -car, nous avons fait le suivi de l'évolution des spectres d'absorption UV-Visible de ce dernier pour les températures 5°C, 37°C, 50 °C et 80°C. Les résultats obtenus sont représentés sur les figures de III.4 à III.7.

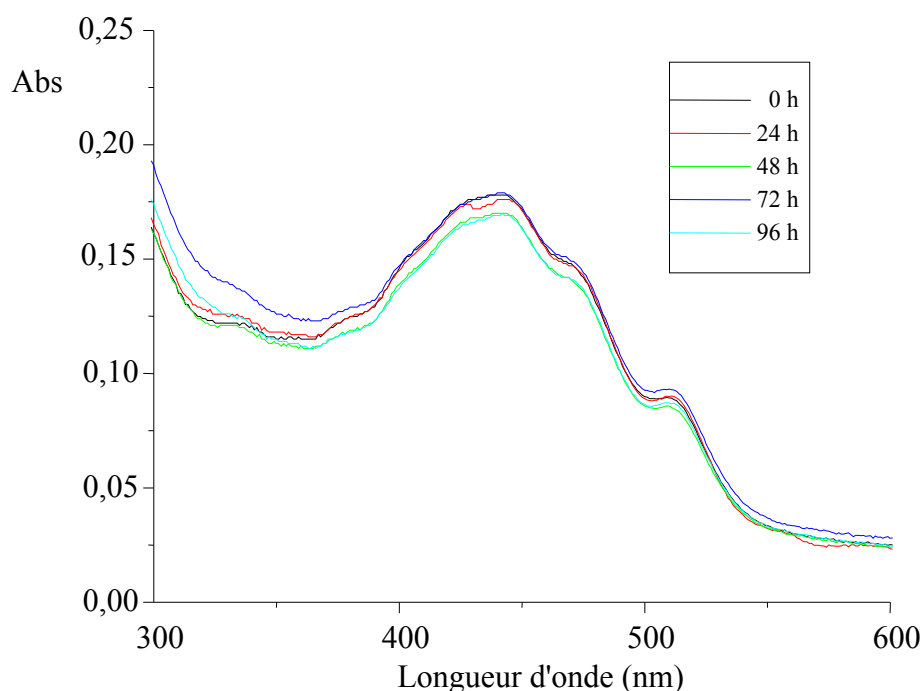


Figure III.4 : Spectres d'absorption UV-Visible du β -car obtenus pour T= 5 °C

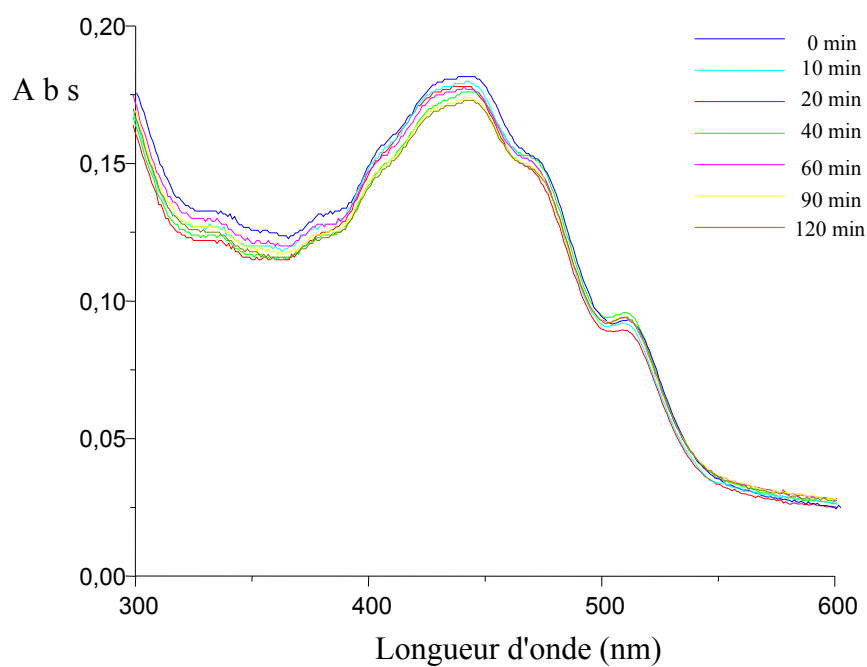


Figure III.5 : Spectres d'absorption UV-Visible du β -car obtenu pour $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$

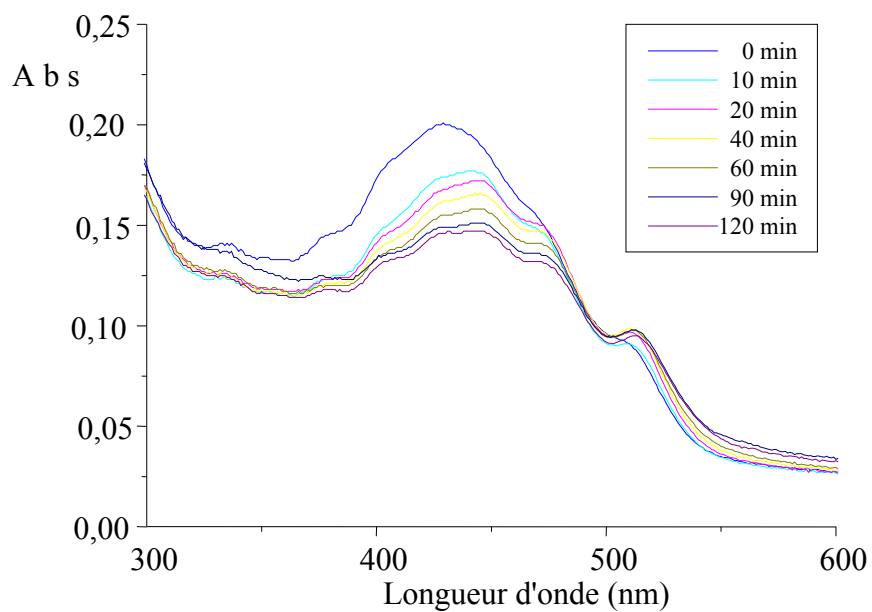


Figure III.6 : Spectres d'absorption UV-Visible du β -car obtenus pour $T=50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

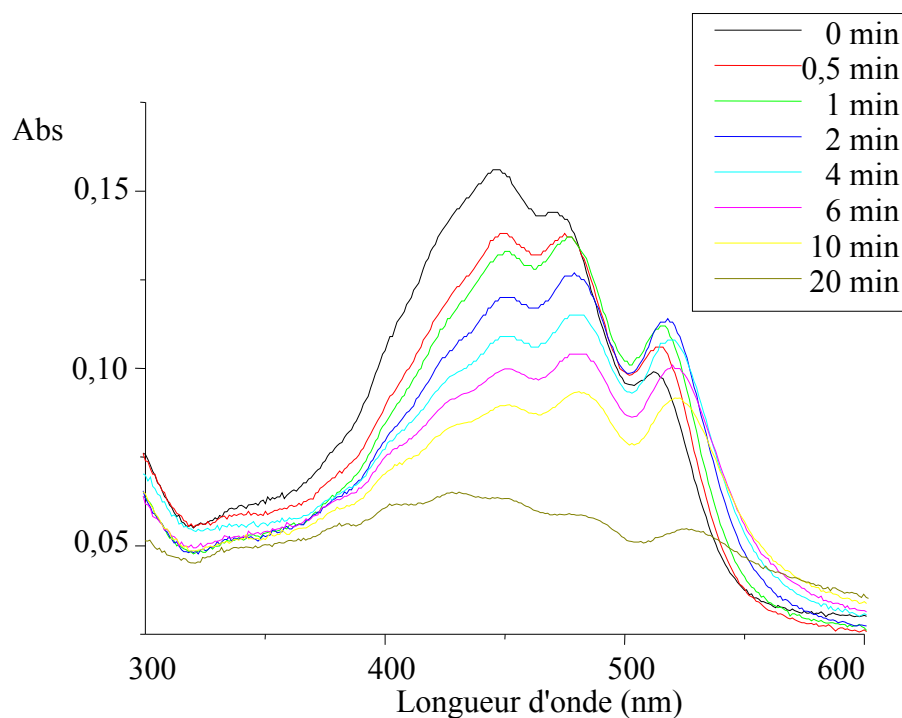


Figure III.7 : Spectres d'absorption UV-Visible du β -car obtenus pour $T= 80^{\circ}\text{C}$.

D'après les figures (III.4, III.5) qui représentent les résultats de l'effet des températures 5°C et 37°C respectivement sur la dégradation du β -car, nous remarquons que les spectres obtenus à différents laps du temps sont presque confondus et cela signifie que ce dernier ne se dégrade pas à ces deux températures.

Les spectres obtenus à $T=50^{\circ}\text{C}$ et à $T= 80^{\circ}\text{C}$ (figures III.6 et III.7) montrent une diminution des absorbances (effet hypochrome) au cours du temps qui se traduit par une perte du β -car.

En comparant les spectres obtenus à $T=50^{\circ}\text{C}$ et à $T=80^{\circ}\text{C}$ nous constatons que plus la température est élevée plus la dégradation est rapide, par exemple à $T=50^{\circ}\text{C}$, nous remarquons une diminution progressive des absorbances de 0min à 120min par contre à $T=80^{\circ}\text{C}$ nous remarquons une diminution rapide des absorbances et une dégradation importante du β -car au bout de 20 min (70% dégradée de la concentration initiale 10 mg/l).

Les spectres III.8 et III.9 représentent les résultats de l'effet de la lumière sur le β -car

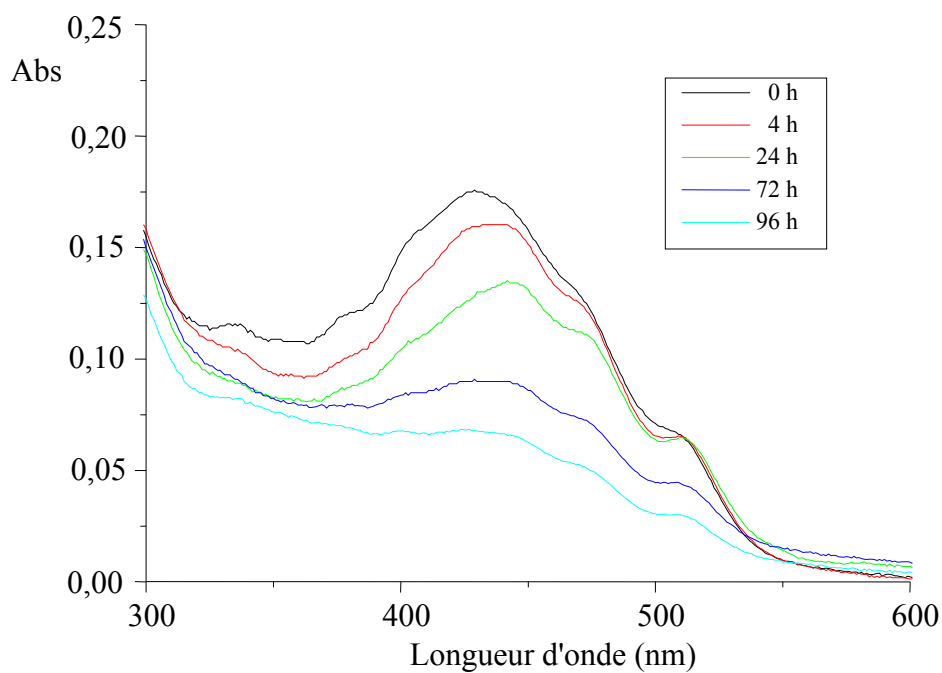


Figure III.8 : Spectres UV-Visible du β -car exposé à la lumière à $T= 22\text{ }^{\circ}\text{C}$

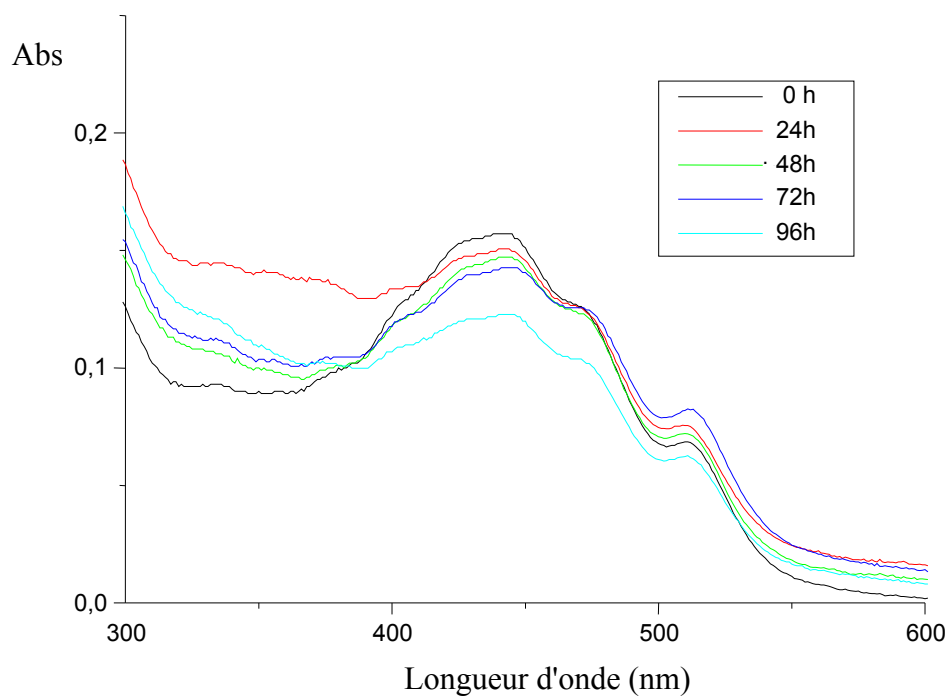


Figure III.9 : Spectres UV-Visibles du β -car à l'abri de la lumière à $T= 22\text{ }^{\circ}\text{C}$

Dans le cas où le β -car est exposé à la lumière, nous remarquons d'après la figure III.8 des diminutions significatives des absorbances au cours du temps, la dégradation du β -car commence juste après son exposition à la lumière et nous remarquons une dégradation importante après 4 jours (80% dégradé de la masse initiale)

Dans le cas où le β -car (figure III.09) est à l'abri de la lumière, nous remarquons que les spectres obtenus à 1, 2, 3 jours sont confondus ce qui signifie que le β -car reste conservé pendant cette durée de temps. Au delà, nous remarquons un effet hypochrome des absorbances, ce qui nous laisse conclure que la dégradation à l'obscurité ne commence qu'après 3 jours.

III.4 Temps d'équilibre

Afin de définir le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre de formation des complexes d'inclusion, des échantillons contenant les mêmes concentrations en β -CD et de β -car (la concentration de β -car en excès par rapport à celle de la β -CD) ont été préparés et analysés à différents temps. La durée totale de l'essai est de 51h.

Les résultats sont consignés dans la figure III.10.

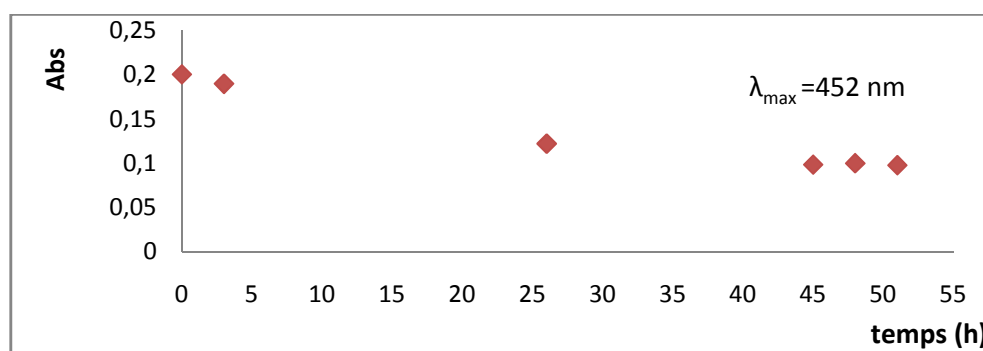


Figure III.10 : Cinétique de formation des complexes d'inclusion β -CD/ β -car.

Nous pouvons remarquer que la complexation se fait en deux étapes : une complexation rapide qui correspond à la diminution des absorbances dans l'intervalle 0h à 46h due à la grande disponibilité des cavités vacantes des β -CDs suivie d'une seconde étape plus lente (de 46h à 51h). Ce ralentissement de la quantité de β -car encapsulée est dû à la diminution progressive des cavités vacantes de la β -CD au fur et à mesure que l'encapsulation se produit.

On remarque également que le temps au bout duquel l'équilibre est atteint est de l'ordre de 46h.

Compte tenu de ces résultats et des résultats de la dégradation du β -car à l'abri de la lumière (la dégradation commence à partir de 3 jours) nous avons fixé la durée de nos expériences à 48h pour s'assurer que la complexation est maximale.

III.5 Caractérisation des complexes d'inclusion

Les poudres de β -car, β -CD et du complexe β -car/ β -CD ont été analysés par trois techniques de caractérisation.

III.5.1 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)

La figure III.11 montre les diagrammes de diffraction des rayons X de β -CD, β -car et du complexe β -CD/ β -car. Les diffractogrammes du β -CD et du β -car présentent plusieurs pics indiquant la nature cristalline de ces deux molécules tandis que le diffractogramme obtenu pour le complexe est complètement différent, présentant une structure amorphe qui s'explique par la perte de cristallinité et qui confirme la formation du complexe d'inclusion β -CD/ β -car.

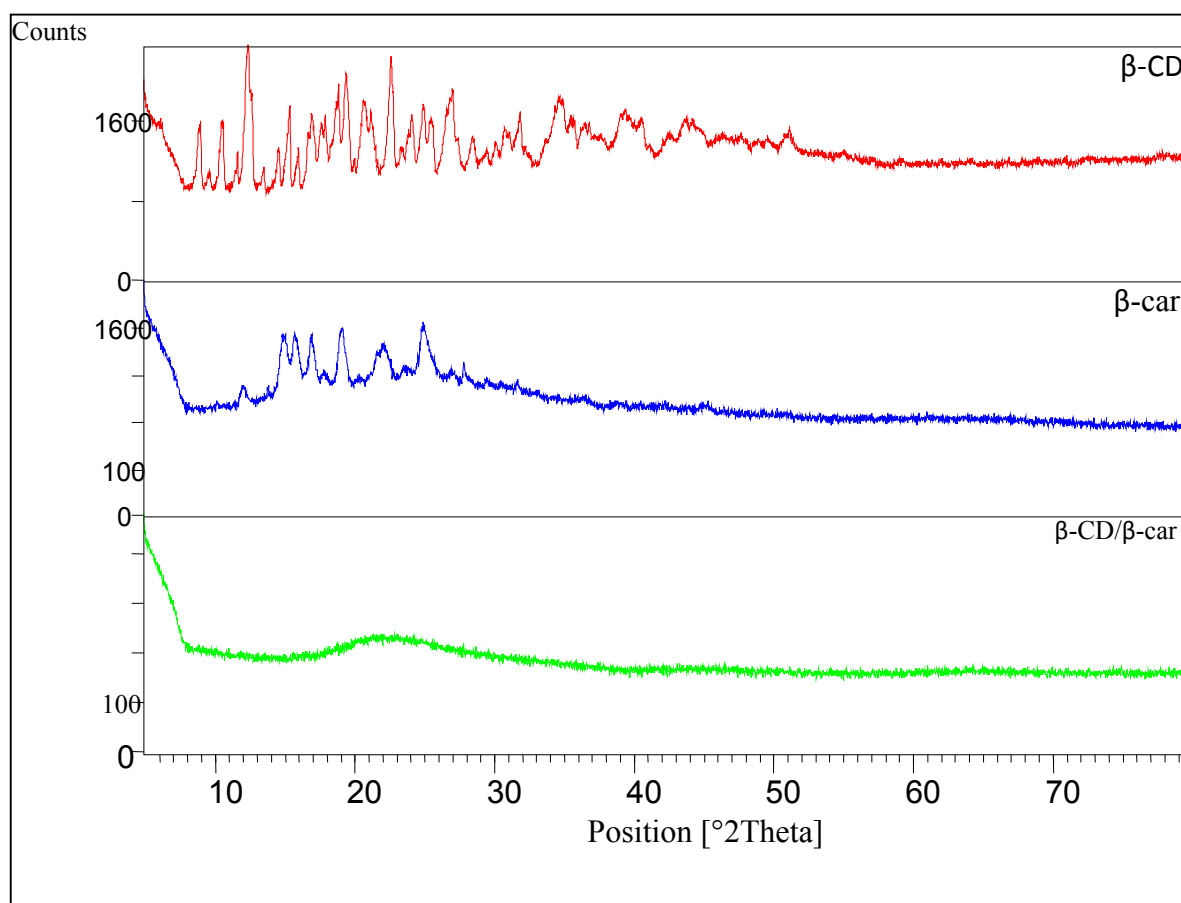


Figure III.11 : Spectres DRX de la β -CD, β -car et du complexe β -CD/ β -car.

III.5.2 Caractérisation par spectroscopie IR TF

La figure III.12 présente le spectre IR de la β -CD, du β -car et du complexe β -CD/ β -car.

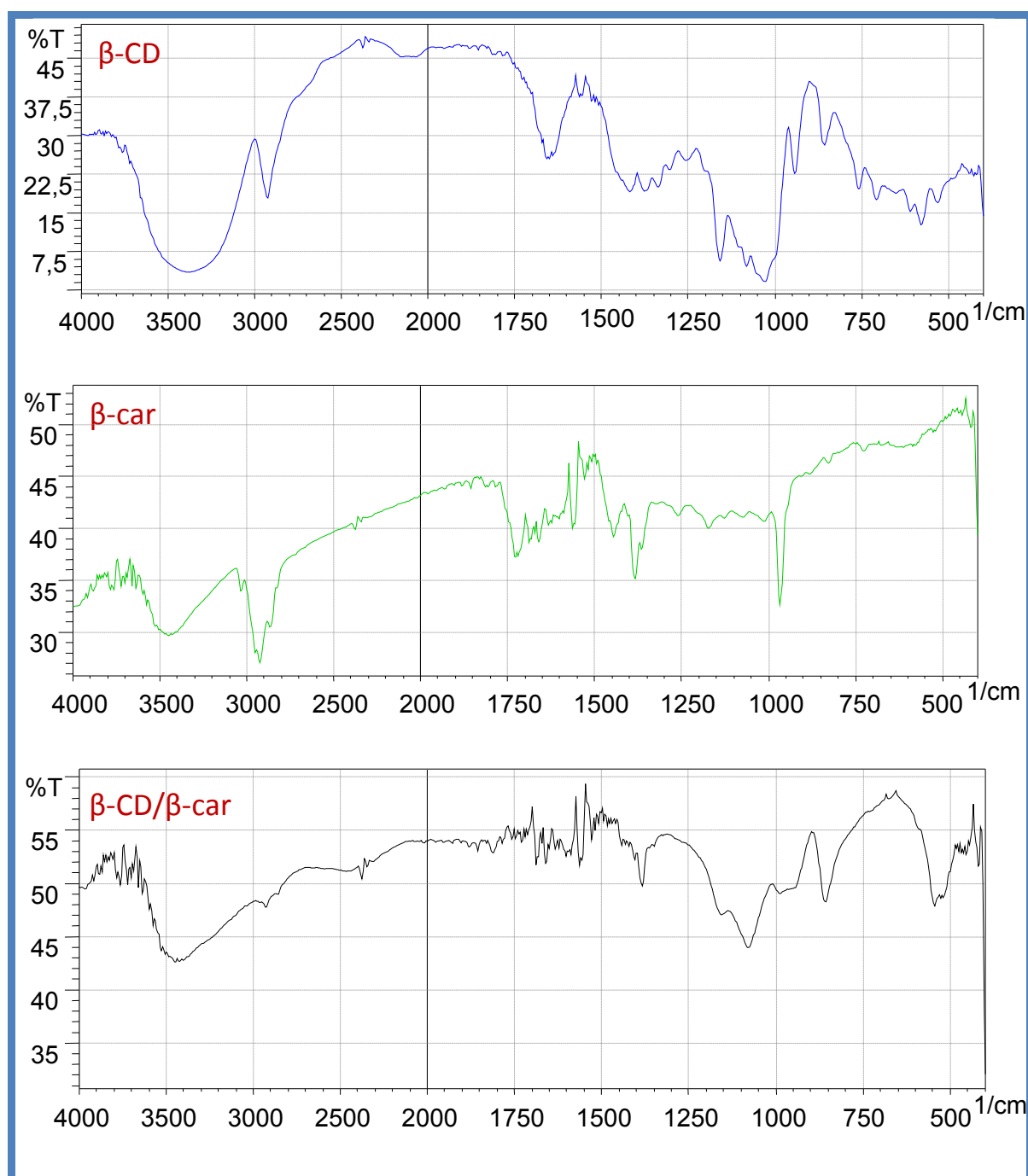


Figure III.12 : Spectre IR du β -CD, β -car et du complexe β -CD/ β -car

Le spectre IR de la β -CD est caractérisé par :

- Une bande large et intense à $3391,51\text{cm}^{-1}$ en raison de la vibration d'élongation des liaisons O-H libres;
- Vibration d'élongation à $2931,12\text{cm}^{-1}$ des liaisons C-H sp^2 ;

- Une bande à $1652,79\text{ cm}^{-1}$ qui correspond à la déformation O-H dans le plan de l'eau de cristallisation de la β -CD ;
- Des bandes à $1417,91\text{-}1257,08\text{ cm}^{-1}$ qui correspondent à la vibration de déformation des liaisons C-H sp^3 .
- Les bande situés dans le domaine $1157,51\text{-}1029,86\text{ cm}^{-1}$ correspondent aux vibrations d'élongation C-O-C et C-O-H.

Le spectre IR du β -car présente :

- Une bande $3447,83\text{ cm}^{-1}$ qui correspond aux vibrations d'élongation de la liaison =C-H sp^2 ;
- Une bande à 2926 cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation des liaisons C-H sp^3 ;
- Des bandes dans l'intervalle $1700,34\text{-}1546,67\text{ cm}^{-1}$ qui correspondent à la vibration de déformation de la liaison C-H sp^2 ;
- Un pic à $1384,73\text{ cm}^{-1}$ qui correspond à la vibration de déformation de la liaison C=C.

Le spectre IR du complexe présente :

- Une bande à $3442,72\text{ cm}^{-1}$ qui correspond aux vibrations d'élongations des liaisons C-H sp^2 et O-H libre.
- Une bande à 2926 cm^{-1} d'intensité faible qui correspond à la vibration d'élongation C-H sp^3 .
- Des bandes dans l'intervalle $1700,34\text{-}1546,67\text{ cm}^{-1}$ d'intensité faible qui correspondent à la vibration de déformation C-H sp^2 .
- Un pic à $1384,73\text{ cm}^{-1}$ qui correspond à la vibration de déformation des liaisons C=C.
- Des pics larges à $1162,61\text{-}1080,92$ correspondants à l'élongation C-O-C et C-O-H.

Nous remarquons que les deux pics du β -car enregistré à 2926 cm^{-1} (C-H sp^3 d'élongation) et à $1384,73\text{ cm}^{-1}$ (C=C) et le pic du β -CD enregistrés à $2931,12\text{ cm}^{-1}$ (C-H d'élongation) apparaissent dans le spectre du complexe avec une intensité faible comparativement a celle enregistré dans les spectres β -car et β -CD seuls, et nous pouvons également remarquer que lors de la complexation, le pic de la CD enregistré à $1652,79\text{ cm}^{-1}$ correspondant à la déformation O-H dans le plan des molécules d'eau incluses dans la cavité de la cyclodextrine n'a pas été identifié. Ceci indique l'exclusion des molécules d'eau de la cavité de la cyclodextrine et l'inclusion de la molécule β -car ce qui confirme la formation du complexe.

III.5.3 Caractérisation par analyse thermogravimétrie

Les figures III.13 et III.14 représentent les courbes de perte de masse ATG et leur dérivé ATD pour la β -CD du β -car et du complexe β -CD/ β -car.

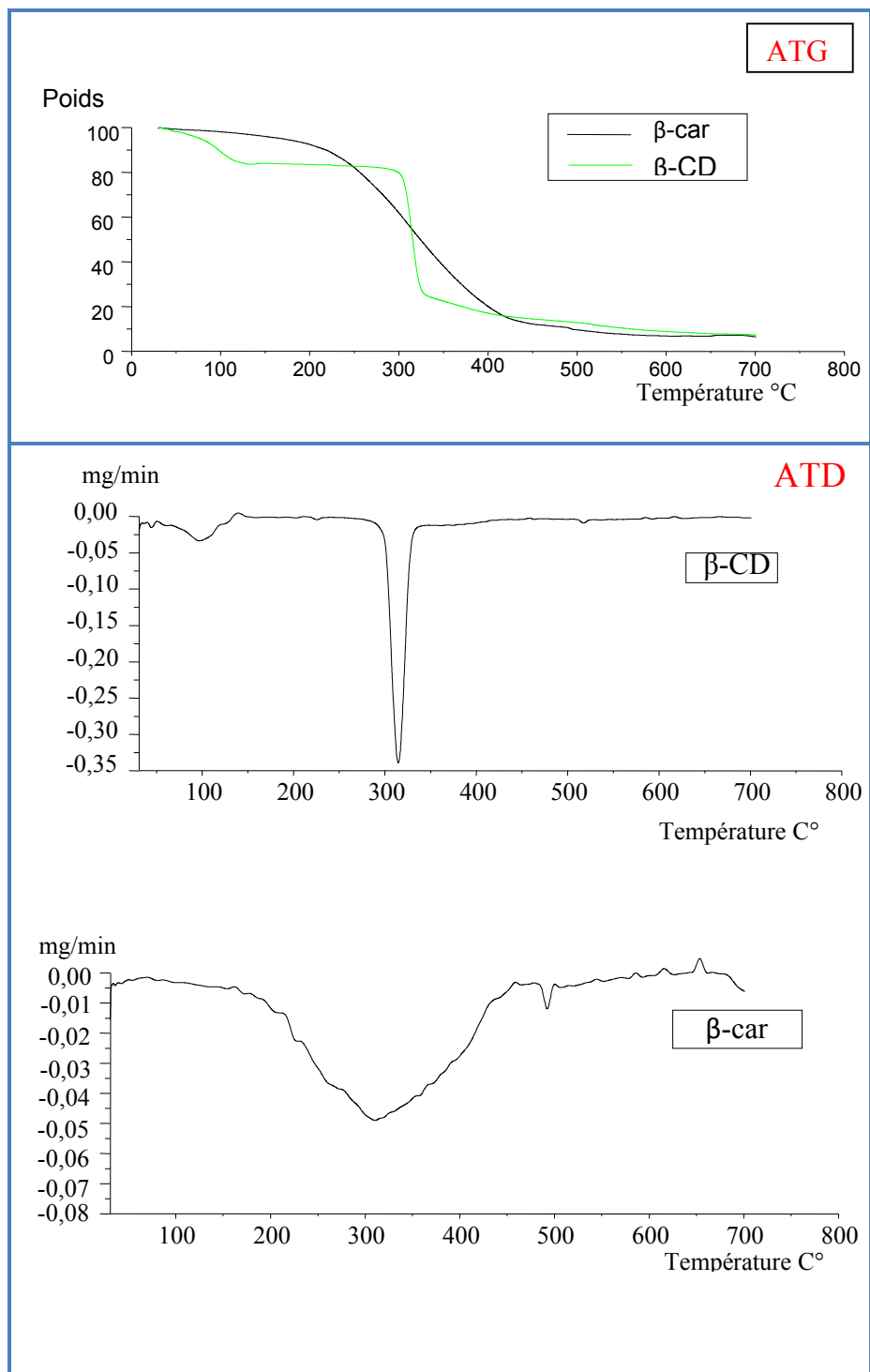


Figure III.13 : Courbes ATG et ATD de la β -CD et du β -car.

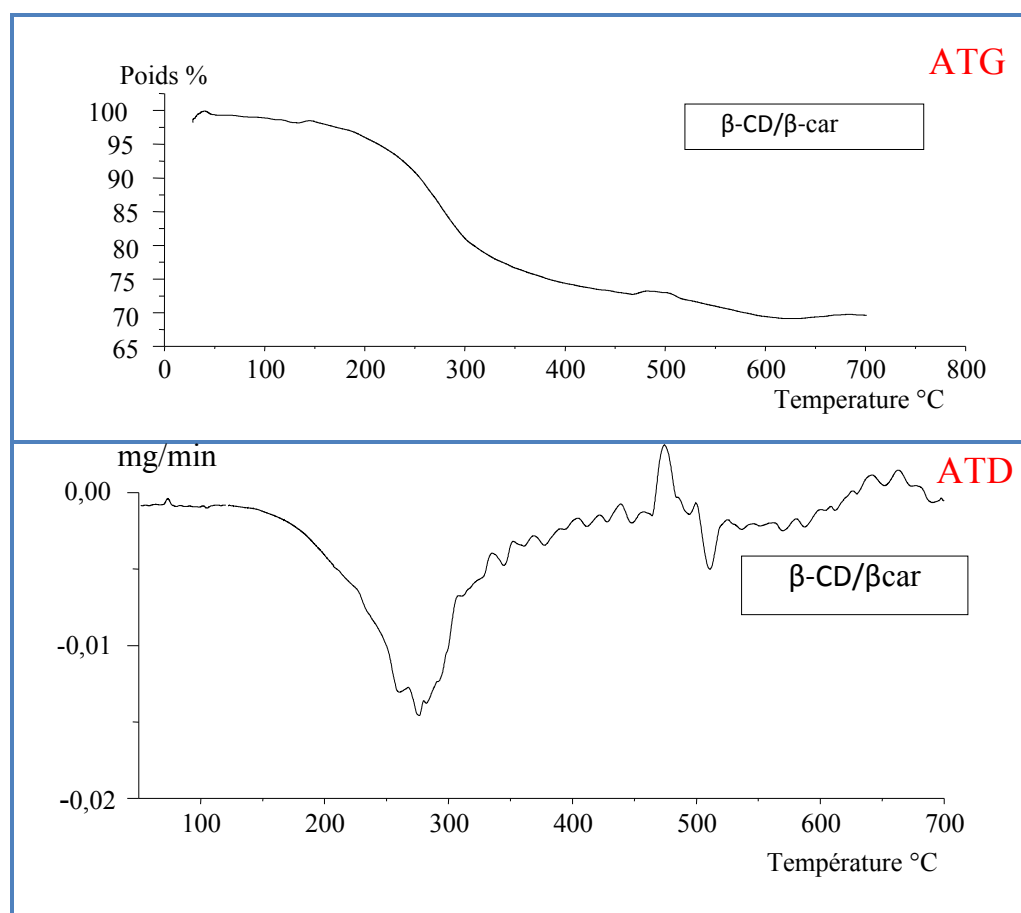
Nous pouvant indiquer ce qui suit :

- Le thermogramme ATD de la β -CD présente deux pics, un pic aux alentours de 100 °C qui correspond à la déshydratation de la β -CD et un pic à 315 °C qui correspond à la dégradation de ce dernier et d'après la courbe de perte de masse, la masse résiduelle est estimée à 7,10 %.
- Dans le cas du β -car, un pic de décomposition est enregistré approximativement à 309°C et une masse résiduelle de l'ordre de 6.51%.

La courbe ATD du complexe montre un pic de décomposition aux alentours de 275°C.

Ces résultats confirment l'inclusion du β -car dans la cavité de la β -CD puisque :

D'une part la masse résiduelle du complexe (69%) est supérieure à celles du β -car (6.51%) et du β -CD (7,10%) seuls et d'autre part sa température de décomposition est inférieure à celle de ces deux derniers.



III.6 Diagramme de solubilité de phase

Pour l'étude du diagramme de solubilité du β -car dans la solution de β -CD, nous avons préparé des solutions de concentrations croissantes de ce dernier dans un mélange éthanol/eau auxquelles nous avons ajouté la même quantité de β -car qui excède sa limite de solubilité et nous avons ensuite calculé la quantité du β -car solubilisé par la β -CD après 48h.

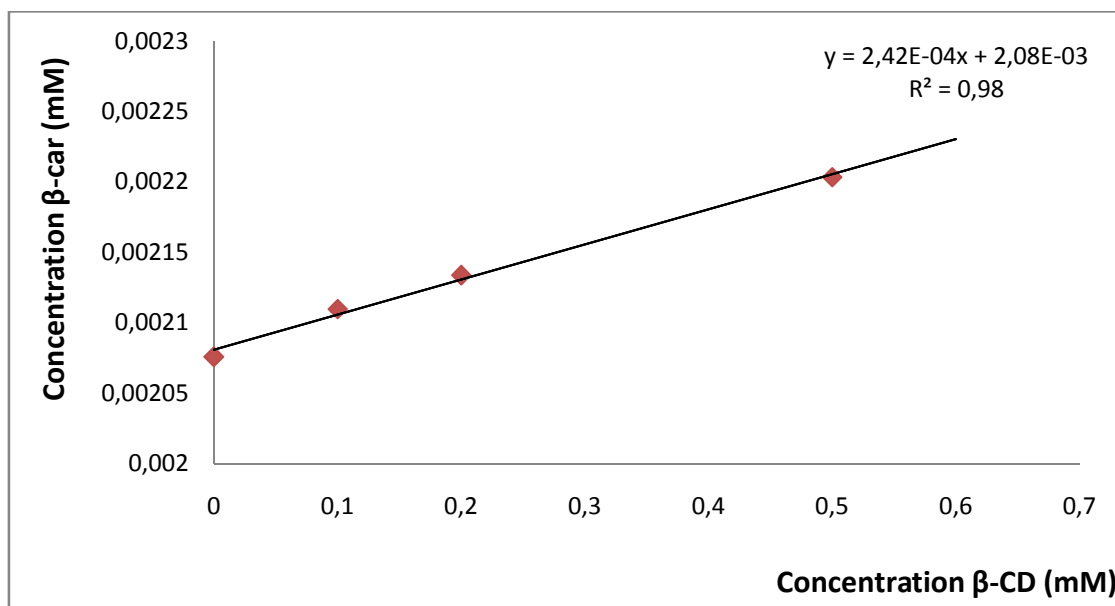


Figure III.15 : Diagramme de solubilité de phase du complexe β -CD/ β -car

Le diagramme de solubilité du complexe β -CD/ β -car est représenté sur la figure III.15. Ce diagramme montre un profil de solubilité de type A_L selon Higuchi-Connors. La solubilité augmente linéairement en fonction de la concentration de β -CD, indiquant ainsi la formation de complexes d'inclusion de stoechiométrie 1:1.

La pente de la droite nous permet de déterminer la constante de stabilité K_s des complexes qui est de l'ordre de $116,37 \text{ M}^{-1}$. Cette constante indique une bonne compatibilité entre les deux molécules et que les interactions entre les deux sont fortes.

III.7 Modélisation du processus de complexation du β -car par la β -CD par les plans d'expériences

Les plans d'expériences sont des techniques qui permettent de quantifier les effets de divers facteurs sur une réponse et de les optimiser dans des domaines expérimentaux bien

déterminés. Nous organisons une suite d'essais consistant à manipuler les facteurs afin de décrire la méthode permettant d'obtenir la réponse optimale (**Fadil et al. 2015**).

Parmi les plans d'expériences, nous avons choisis les plans composites centrés pour notre étude. Ces derniers se prêtent bien au déroulement séquentiel d'une étude. En effet, ces plans nous donnent la possibilité de commencer l'étude avec un nombre minime d'expériences. Ensuite, si le modèle est validé l'étude s'achève le plus souvent sinon, nous avons la possibilité d'ajouter d'autres expériences sans perdre les résultats des essais réalisés précédemment. Les essais supplémentaires permettent d'établir un modèle du second degré.

Les essais supplémentaires sont représentés par des points d'expériences situés sur les axes de coordonnées et par de nouveaux points centraux. Les points situés sur les axes de coordonnées sont appelés les points en étoile. Les plans composites présentent donc trois parties :

- Le plan factoriel : c'est un plan factoriel complet à deux niveaux par facteurs. Les points expérimentaux sont aux sommets du domaine d'étude ;
- Le plan en étoile : les points du plan en étoile sont sur les axes et ils sont, en général, tous situés à la même distance du centre du domaine d'étude ;
- Les points au centre du domaine d'étude. Il faut toujours prévoir des points expérimentaux situés au centre du domaine d'étude, et cela aussi bien pour les plans factoriels que pour les plans en étoile.

III.7.1 Facteurs influents l'encapsulation du β -car par la β -CD

L'étude d'optimisation a été menée sur les trois facteurs jugés les plus influents sur l'encapsulation de β -car par les β -CDs à savoir :

- ✓ La concentration de β -car ;
- ✓ La concentration de β -CD ;
- ✓ pH du milieu.

III.7.2 Domaine d'étude

Le tableau III.1 montre les domaines de variation des trois facteurs qui sont étudiés simultanément afin de quantifier l'effet de chacun d'entre eux sur l'opération de l'encapsulation.

Tableau III.1 : Les domaines expérimentaux des facteurs étudiés dans l'optimisation de l'encapsulation du β -car.

Variables réelles	Variables centrées réduites	Niveaux bas		Point central	Niveaux haut	
		-1,68	-1	0	+1	+1,68
Z1 : [β -CD] mg/L	X1	10	29,2	57,5	85,8	106
Z2 : [β -car] mg/L	X2	5	14	27,5	41	50
Z3 : pH	X3	4	5	6,5	8	9

III.7.3 Réponse étudiée

La réponse étudiée est le rendement de l'encapsulation qui se traduit par :

$$\% \text{Rendement} = \frac{\text{Quantité de } (\beta - \text{car})_{\text{totale}} - \text{Quantité de } (\beta - \text{car})_{\text{libre}}}{\text{Quantité de } (\beta - \text{car})_{\text{totale}}} * 100$$

III.7.4 Elaboration du modèle de 1^{er} degré

Dans un premier temps nous postulons pour un modèle linéaire du premier degré avec interactions. Un plan factoriel complet à 2 niveaux (2^k) est alors choisi.

Le modèle mathématique associé s'écrit dans ce cas sous la forme suivante :

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_3 x_3 + b_{12} x_1 x_2 + b_{13} x_1 x_3 + b_{23} x_2 x_3 + b_{123} x_1 x_2 x_3$$

III.7.4 1 Matrice des essais du plan factoriel et du centre du domaine

La matrice des expériences du plan factoriel (Tableau III.2) est composée de 8 essais (2^3). 9 essais au centre du domaine sont aussi réalisés (Tableau III.3).

Tableau III.2 Matrice des essais du plan factoriel 2^3 et résultats.

N° Essai	Variables codées			Variables réelles			Rendement
	X1	X2	X3	C(β -CD) mg/l	C(β -car) mg/l	pH	y_i
1	-1	-1	-1	29,23	14	5	73,7
2	+1	-1	-1	85,7	14	5	60
3	-1	+1	-1	29,23	41	5	44,05
4	+1	+1	-1	85,7	41	5	55,02
5	-1	-1	1	29,23	14	8	47,26
6	+1	-1	1	85,7	14	8	39,63
7	-1	+1	1	29,23	41	8	59,5
8	+1	+1	1	85,7	41	8	55,94

Tableau III.3 : Matrice des essais au centre du domaine et résultats.

N° Essai	Variables codées			Variables réelles			Rendement
	X1	X2	X3	C(β -CD) mg/l	C(β -car) mg/l	pH	y_{i0}
1	0	0	0	57,5	27,5	6,5	34,09
2	0	0	0	57,5	27,5	6,5	34,45
3	0	0	0	57,5	27,5	6,5	35,15
4	0	0	0	57,5	27,5	6,5	35,39
5	0	0	0	57,5	27,5	6,5	34,41
6	0	0	0	57,5	27,5	6,5	35,03
7	0	0	0	57,5	27,5	6,5	34,18
8	0	0	0	57,5	27,5	6,5	34,9
9	0	0	0	57,5	27,5	6,5	34,5

III.7.4.2 Calcul des coefficients du modèle du 1^{er} degré

Les coefficients du modèle ont été calculés à l'aide de l'équation suivante :

$$\beta = (X^T X)^{-1} X^T Y$$

X : matrice de calcul des effets

X^T : matrice transposée

Y : matrice des réponses expérimentales

$(X^T X)^{-1}$: matrice variance-covariance.

La signification des coefficients a été vérifiée par le test de Student pour un risque $\alpha=5\%$, un degré de liberté $f_1=8$ et $t_{0,05}(8)=2,31$.

Tableau III.4 : Valeurs et signification des coefficients du modèle de premier degré.

B _j		T _j	Signification
b ₀	54,26	300,59	Significatif
b ₁	-1,86	10,33	Significatif
b ₂	-0,88	4,90	Significatif
b ₃	-3,93	21,77	Significatif
b ₁₂	3,46	19,20	Significatif
b ₁₃	-1,18	6,55	Significatif
b ₂₃	7,77	43,05	Significatif
b ₁₂₃	-2,7	14,95	Significatif

Le test de Student révèle que tous les coefficients sont significatifs.

L'équation de régression décrivant la variation du rendement en fonction des différents paramètres significatifs s'écrit :

$$\hat{y} = 54,26 - 1,86 x_1 - 0,88 x_2 - 3,93 x_3 + 3,46 x_1 x_2 - 1,18 x_1 x_3 + 7,77 x_2 x_3 - 2,7 x_1 x_2 x_3$$

La validité du modèle est vérifiée en comparant la valeur prédite par le modèle au centre du domaine \hat{y}_0 à la moyenne des essais au centre car c'est au centre du domaine que nous avons les meilleures chances de déceler les écarts de la linéarité.

Tableau III.5 : Comparaison entre la valeur prédite par le modèle au centre du domaine et la moyenne des essais au centre.

\hat{y}_0	\bar{y}_{0i}	$\hat{y}_0 - \bar{y}_{0i}$
54,26	34,89	19,37

Nous remarquons que l'écart entre la valeur de la réponse prédite par le modèle et celle trouvée expérimentalement est significatifs et supérieur à 5% ce qui nous laisse conclure que le modèle du premier degré n'est pas valide. Nous poursuivons notre étude en postulant pour un modèle du second degré.

III.7.5 Elaboration du modèle du second degré

Nous conservons les huit essais du plan factoriel complet déjà réalisés (Tableau III.2) et les 9 essais effectués au centre du domaine d'étude (Tableau III.3), auxquels nous rajoutons huit essais complémentaires du plan en étoiles afin de respecter les critères d'optimalité à savoir l'isovariance par rotation et l'orthogonalité (Tableau III.6).

Tableau III.6 : Matrice des essais en étoile et résultats.

N° Essai	Variables codées			Variables réelles			Rendement
	X1	X2	X3	C(β - CD) mg/l	C(β -car) mg/l	pH	y_i
1	-1,68	0	0	29,23	14	5	2,97
2	+1,68	0	0	85,7	14	5	12,99
3	0	-1,68	0	29,23	41	5	20
4	0	+1,68	0	85,7	41	5	17,4
5	0	0	-1,68	29,23	14	8	70,62
6	0	0	+1,68	85,7	14	8	67,92

L'équation du modèle de second degré avec interactions pour les trois paramètres étudiés s'écrit :

$$\hat{y} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2$$

Le tableau suivant résume les coefficients du modèle calculés et leurs significations pour un risque $\alpha=5\%$, un degré de liberté $f_1=2,31$ et $t_{0,05}(8)=2,31$.

Tableau III.7: Valeurs et signification des coefficients du modèle second degré.

Bj		tj	Signification
b ₀	34,28	201,61	Significatif
b ₁	0,14	1,01	Non significatif
b ₂	-0,83	6,06	Significatif
b ₃	-2,63	19,07	Significatif
b ₁₂	3,46	19,20	Significatif
b ₁₃	-1,18	6,55	Significatif
b ₂₃	7,77	43,05	Significatif
b ₁₁	-4,82	37,63	Significatif
b ₂₂	1,03	8,03	Significatif
b ₃₃	16,88	131,61	Significatif

Après l'élimination par le test de student du coefficient b₁ le modèle du second degré s'écrit :

$$\hat{y} = 34,28 - 0,83x_2 - 2,63x_3 + 3,46x_1x_2 - 1,18x_1x_3 + 7,77x_2x_3 - 4,82x_1^2 + 1,03x_2^2 + 14,43x_3^2$$

III.7.5.1 Test de validité du modèle de second degré

Les valeurs de la variance de reproductibilité S^2_{rep} estimée au centre du domaine et de la variance résiduelle $S^2_{rés}$ calculée pour $N=23$ et $p=9$ (p étant le nombre de coefficients significatifs et N le nombre totale des essais du plan composite) sont :

$$S^2_{\text{rep}} = 0,26 ; S^2_{\text{rés}} = 126,98$$

Ce qui conduit à une valeur de $F_1 = S^2_{\text{rés}}/S^2_{\text{rep}} = 487,11$

La valeur tabulée du F de Fisher pour le niveau de signification $\alpha = 5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f_1 = (n_0 - 1) = 8$ et $f_2 = (N - p) = 14$ est de 3,28.

Comme la valeur de F_1 calculée est nettement supérieure à la valeur tabulée du test de Fisher, le modèle est donc biaisé ; il n'est pas valide.

En perspective, il serait souhaitable de continuer le travail en postulant par ordre de préférence pour un modèle linéaire ou quadratique après avoir transformé les variables par une fonction appropriée (Log, racine carrée) ou pour un modèle non linéaire.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

Notre travail a pour objectif l'amélioration de la solubilité et de la stabilité du β -carotène dans les milieux aqueux, par son inclusion dans la β -cyclodextrine. La modélisation du processus de complexation est menée en utilisant la méthode des plans d'expériences.

Des tests de dégradation ont été effectués pour évaluer la stabilité du β -carotène, ces tests ont conduit aux résultats suivants :

- Le β -carotène reste stable à température 37°C et à 5°C .
- Une dégradation progressive à 50°C et significative à 80°C .
- Une dégradation dès son exposition à la lumière.
- Sa dégradation à l'abri de la lumière ne commence qu'à partir du troisième jour.

Les complexes d'inclusion ont été préparés par co-précipitation. Les diverses méthodes de caractérisation que nous avons utilisé ont montré la formation du complexe β -CD/ β -car.

Les résultats de la DRX ont révélé la structure cristalline de la β -CD et du β -carotène et une structure amorphe du complexe formé. L'analyse thermique (ATG) a dévoilé la température de décomposition de ce dernier qui est inférieure à celles enregistrées de la β -CD et du β -carotène. Les spectres obtenus par analyse infrarouge ont montré les interactions mises en jeu entre la molécule hôte et la molécule invitée confirmant ainsi la formation de complexes. Il a été également démontré que la complexation par la β -CD augmente la solubilité du β -carotène et que la stœchiométrie des complexes formés est de 1:1. La constante de stabilité des complexes β -CD / β -car déterminée par la méthode d'Higuchi-Connors est de l'ordre de $116,37 \text{ M}^{-1}$. Cette constante indique une bonne compatibilité entre les deux molécules et que les interactions entre les deux sont fortes.

Afin d'étudier les effets et les interactions des trois paramètres retenus pour la modélisation, la concentration en β -CD, la concentration en β -carotène et le pH de la solution, sur le rendement de complexation du β -car par la β -CD, les deux modèles polynomiaux du 1^{er} et du second degré testés successivement se sont avérés non valides dans les domaines d'étude choisis.

Ce travail constitue une grande étape qui ouvre la voie à un grand nombre de perspectives dont nous citerons quelque unes :

- ✓ Tester d'autres facteurs qui influent sur le processus de complexation (température, vitesse d'agitation...).
- ✓ Chercher par ordre de préférence un modèle linéaire ou quadratique après avoir transformé les variables par une fonction appropriée (Log, racine carrée)
- ✓ Chercher un modèle non linéaire.
- ✓ Limiter le domaine de variation des facteurs étudiés.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographique

A

ACH. D., 2006, Microencapsulation par coacervation complexe des protéines du lactosérum et de la gomme d'acacia, Thèse de doctorat, Université de Claude Bernard Lyon 1.

Alves Da Costa Cardoso. L., 2008, Identification de facteurs opératoires influents en vue d'une production microbienne optimale de torularhodine et de sa fonctionnalisation enzymatique, à partir d'études cinétiques, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine.

Amoussa Hounkpatin. W., 2011, Evaluation du potentiel de couverture des besoins en vitamine A des jeunes enfants à partir des sauces accompagnant les aliments de base consommés au Bénin, Thèse de doctorat, Montpellier, Université de Montpellier 2.

B

Babaud. L., 2010, Développement et optimisation d'un procédé de gravure grille polysilicium pour les noeuds technologiques 45 et 32 nm, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Grenoble - INPG.

Bakkour. Y., 2005, Etude par RMN des complexes d'inclusion avec des cyclodextrines natives et polymérisées, Thèse de doctorat, Université des sciences et technologies Lille 1.

Benhadi. S., 2010, Greffage de cyclodextrines modifiées par traitement Corona sur matériaux celluloses, Thèse de doctorat, l'Université Henri Poincaré Nancy 1.

Bile. J., 2015, Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés, Thèse de doctorat, Université de Claude Bernard-Lyon1.

Bonnet. F., 2001, Etude par modélisation moléculaire de dimères de cyclodextrines et de leurs complexes d'inclusion, Thèse de doctorat, Université d'Orléans.

Bouchalta. N., 2017, Les cyclodextrines : Applications en science pharmaceutique, Thèse de doctorat, Université Mohammed V-Rabat, Faculté de médecine et de pharmacie-Rabat.

Bouzitouna. A, 2009, Utilisation des méthodes hybrides (QM/MM) dans l'étude des complexes d'inclusion a base de cyclodextrine, Mémoire de magister, Université BADJI Mokhtar-Annaba.

C

Castagne. D, 2010. Etude des interactions entre les cyclodextrines et les membranes liposomales ou biologiques, Thèse de doctorat, Université de Liège.

Charbonnier. F, 1999, Synthèses, Etudes Structurales et Propriétés de Complexation d'Uréido-Oligosaccharides Supramoléculaires, Thèse de doctorat, Université Henri Poincare Nancy I.

Chekirou. N. L, 2012, Etude des processus associatifs des complexes d'inclusion de la β -cyclodextrine par des méthodes quantochimiques et de Spectroscopie Raman, Thèse de doctorat, Université d'Oran.

Claverie. O, 2014, L'aromatisation des compléments alimentaires : Un enjeu de formulation, Thèse de doctorat, Université Toulouse III PAUL SABATIER.

Cortial A, 2015, Nouvelles applications des nanoparticules organiques : de la vectorisation d'un mélange d'actifs à travers la peau jusqu'au développement d'un test diagnostique in vitro de l'allergie aux parfums, Thèse de doctorat, Université de Claude Bernard Lyon 1 : Ecole doctorale interdisciplinaire SCIENCES – SANTE.

D

Decottignies. A, 2013, Catalyse dans l'eau en présence de cyclodextrine native ou modifiée – Application au couplage croisé de type Suzuki, Thèse de doctorat, Université de Technologie de Compiègne.

Del Valle. E. M. M, 2003, Cyclodextrins and their uses: a review, Process Biochemistry, 03, 00258-9.

Deunf. E, 2010, Préparation, Caractérisation et Activation Electrochimique de Nouveaux Complexes Métallo-Cyclodextrines, Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.

E

Edouard Degrou. A, 2014, Etude de l'impact des procédés de transformation sur la diffusion des caroténoïdes : cas du lycopène de la tomate, Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

F

Fadil. M, Farah. A, B. Ihssane, T. Haloui, S. Rachiq, 2015, Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis L.* par la méthodologie de surface de réponse, *J. Mater. Environ. Sci*, 6 (8), 2346-2357.

Faucher. J, 2006, Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue, Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.

Fleury. G, 2005, Des polyrotaxanes de haute masse moléculaire au réseau topologique : les gels à points de réticulation glissants, Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur – Strasbourg I.

G

Galant. C, 2003, Nouveaux complexes polyélectrolytes impliquant un polymère de β -cyclodextrine, un tensioactif anionique et un polyanion, Université Paris XII-Val De Marne.

Galzerano D, 2015, Electronic properties of carotenoids in natural and artificial photosynthesis, Thèse de doctorat, University Pierre et Marie Curie.

Ghalouni. A, 2011, Approche méthodologique à la modélisation de la croissance sur lait de deux souches de bactéries lactiques, Mémoire de magistère, Université d'Oran.

Goupy. J, 1999, Plans d'expériences pour surfaces de réponses, Edition : DUNOD. Paris.

Goupy. J, 2002, Introduction aux plans d'expériences, Edition : DUNOD. Paris.

H

Hanna. K, 2004, Etude de faisabilité de l'utilisation de molécules "cage" dans la dépollution des sols : Solubilisation et extraction de polluants organiques par les cyclodextrines, Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon

J

Jacquet. R, 2006, Cyclodextrines hydrophiles : caractérisation et étude de leurs propriétés énantiométrique et complexante. Utilisation de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse, Thèse de doctorat, Université d'Orléans.

K

Karam. S, 2004, Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt, Thèse de doctorat, Université de Limoge.

Kerdudo. A, 2014, Optimisation de la conservation des cosmétiques : impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation, Thèse de doctorat, Université Nice Sophia Antipolis : Ecole Doctorale Sciences Fondamentale et Appliquées.

Kfoury. M, 2015, Préparation, caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion à base de cyclodextrines : applications à des principes actifs de type phénylpropanoïdes, Thèse de doctorat, Université du Littoral-Côte d'Opale et Université Libanaise.

Khaoulani. S, 2015, Traitement d'eaux usées par adsorption sur des polymères de cyclodextrine et développement de capteurs chimiques à base de membranes de verres de chalcogénures destinées à la détection des ions Hg^{2+} , Thèse de doctorat, l'Université du Littoral Côte d'Opale.

L

Leclercq. L, 1997, Etude de la capacité d'inclusion de la β -cyclodextrine vis-à-vis de divers polyélectrolytes, Thèse de doctorat, Université des sciences et technologies de Lille.

Lepadatu D, 2006. Optimisation des procédés de mise en forme par approche couplée plans d'expériences, éléments finis et surface de réponse, thèse de doctorat, Université d'Angers.

M

Mandeep. K, Mohit. B, Minni. S, 2016, β -carotene- β -cyclodextrin inclusion complex : towards enhanced aqueous solubility, *Journal of Global Biosciences*, 2, 3665-3675.

Marcopoulos. C, 2011, Insertion des cyclodextrines amphiphiles dans des membranes lipidiques, Thèse de doctorat, Université de Strasbourg.

Mathieu. C, 2012, Le CO₂ supercritique : un fluide prometteur dans la formulation pharmaceutique, Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré-Nancy 1.

Morin-Savy. S, 2012, Biosynthèse de caroténoïdes aromatiques hydroxylés par des bactéries non photosynthétiques : Des carotènes aux xanthophylles, Thèse de doctorat, Université de Bretagne occidentale – Brest.

N

Nikolai. E.P, Tatyana. V. L, Tatyana. A. K, Elli. O. H, Lowell. D. K, 2004, Inclusion complexes of carotenoides with cyclodextrins: ¹H NMR, EPR, and optical studies, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 36, No. 7, 872 – 880.

Nouari. M. E .A, 2017, Etude théorique de l'inclusion d'une molécule thérapeutique dans la béta-cyclodextrine, Thèse de doctorat, Université MUSTAPHA Stambouli-Mascara.

O

Oughlis-Hammache. F, 2018, Matériaux membranaires en cyclodextrines pour le transport sélectif de composés organiques cibles, Thèses de doctorat, Université Béjaia.

Oulmou. F, 2014, Fonctionnalisation sélective de la β -Cyclodextrine en vue de la complexation de l'amlodipine, Mémoire de magister, Université de Béjaia.

P

Partigeon. J, 2010, Elaboration de ligands bidentates supramoléculaires par auto-assemblage de cyclodextrines modifiées et de phosphines hydrosolubles- application à la catalyse en milieu aqueux, Thèse de doctorat, Université d'Artois.

Phan-Thi. H, 2014, Utilisation des caroténoïdes naturels de *Momordica Cochinchinesis* (GAC) comme composé santé. Extraction et bioactivité en fonction de l'origine et du procédé, Thèse de doctorat, Université de Bourgogne AgroSup, Dijon.

R

Rabeau. S, 2009, Etude d'un procédé continu de microencapsulation basé sur un micromélangeur, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine.

S

Safine. H, 2002, Système de délivrance des médicaments peu solubles dans l'eau par voie orale, Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré Nancy I, Faculté de pharmacie.

Santos. D.T, Meireles.M.A.A, 2010. Carotenoid Pigments Encapsulation: Fundamentals, Techniques and Recent Trends, *The Open Chemical Engineering Journal*, 4, 42-50.

Sy. C, 2011, Nouveaux caroténoïdes issus de bactéries marines : étude de leur stabilité, de leur pouvoir antioxydant et de leur biodisponibilité à l'aide de modèles chimiques et biologiques. Comparaison avec les propriétés fonctionnelles de caroténoïdes de référence, Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse.

T

Tinsson. W, 2010, Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques, *Mathématiques et Applications* 67, DOI 10.1007/978-3-642-11472-4 1.

V

Vaysse-Dufaure. J, 2011, Apport de la Résonance Magnétique Nucléaire pour le contrôle et la qualité de médicaments conventionnels, de phytomédicaments et de compléments alimentaires, Thèse de doctorat, Toulouse Université Toulouse III Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier).

Vial. J, Jardy. A, 1998, Utilisation des plans d'expériences pour évaluer la robustesse d'une méthode d'analyse quantitative par Chromatographie en Phase Liquide, 26, 15-24.

W

Weisse. S, 1999, Etude de la complexation de dérivés de la vitamine A dans les cyclodextrines naturelles et modifiées, Thèse de doctorat, Université Paris XI.

Weisse. S, 2002, Complexes cyclodextrines / ester de vitamine A : stabilisation, solubilisation et promotion de l'absorption cutanée, Thèse de doctorat, Université Paris XI.

Willai. S, 2007, Matériaux organosilicés mésoporeux porteurs de β -cyclodextrine et de fonctions amines. Synthèse par voie sol-gel structurente et propriétés, Thèse de doctorat, Université des sciences et technologies de Lille.

Z

Zaibunnis. A. H, Aini Marhanna. M. N. A, Ainun Atirah. M, 2011, Characterisation and solubility study of γ -cyclodextrin and β -carotene complex, International Food Research Journal, 18(3): 1061-1065.

Résumé

Ce travail consiste à étudier l'inclusion du bêta-carotène (β -car), molécule hautement instable et insoluble dans l'eau, dans la bêta-cyclodextrine (β -CD) qui est un polysaccharide cyclique hydrophile possédant une cavité hydrophobe. L'optimisation des paramètres influençant son encapsulation est conduite par la méthode des plans d'expériences. Nous avons démontré que le β -carotène forme des complexes d'inclusion avec la β -CD. Les diverses méthodes de caractérisations que nous avons utilisées (Diffraction des Rayons X, Analyse Thermogravimétrique et la spectroscopie IR) ont confirmé la formation des complexes β -CD/ β -car. La méthode des diagrammes de solubilité de phases d'Higuchi Connor a permis de démontrer l'augmentation de la solubilité du β -car par la cyclodextrine, de déterminer le type du complexe formé qui est de 1 :1 et de la constante d'association qui est de $116,37 \text{ M}^{-1}$. L'optimisation des facteurs influents l'encapsulation du β -car par les cyclodextrines a été menée par un plan composite centré. Les résultats obtenus après la réalisation des essais et l'analyse des résultats ont démontré que l'encapsulation ne peut pas être modélisée par des modèles linéaires.

Mots clés : Bêta-carotène, Bêta-cyclodextrine, complexe d'inclusion, solubilité, encapsulation, rendement, optimisation.