

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université A. Mira de Bejaia



Faculté de Technologie
Département de Génie des procédés
Laboratoire de Génie pharmaceutique

Mémoire

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des Procédés
Spécialité : Génie pharmaceutique

Présenté par

- Bachioua Ahlem
- Djermouni Rima

Thème

*Stratégies d'encapsulation pour améliorer la solubilité
des principes actifs hydrophobes*

Soutenue le 02 / 07/ 2024

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Affiliation	Qualité
Mr F REZGUI	Professeur	Université de Bejaia	Président
Mme N CHIBANI	MCA	Université de Bejaia	Examinatrice
Mme L TAOUZINET	MCB	Université de Bejaia	Encadrant
Mr S FATMI	Professeur	Université de Bejaia	Co- Encadrant

Année Universitaire : 2023/2024

Dédicace

Je dédie ce travail en signe de respect, de reconnaissance et de remerciement :

- ✚ A mes parents : Pour tous les sacrifices que vous avez consentis à mon égard afin que je puisse mener à bien à mes études.*
- ✚ A mes frères et ma sœur pour le courage.*
- ✚ A mon binôme Rima*
- ✚ Mes amies Meriem, Sarah, Lynda.*

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnés durant mon chemins d'étude supérieur.

AHLEM

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*A mes chère parents ; ma mère et mon père pour leur amour, leur
tendresse et leur sacrifices et l'affection dont mon toujours
entourée pour ma réussite et mon bonheur.*

A mes chères sœurs, Lamia, Sana, Samah, Imane, Houda.

A mon cher frère Hicham

A ma famille

*A mon binôme Ahlem, et à tous ceux qui ont collaboré à la
réalisation de ce mémoire.*

*A mes adorable amis, mes camarades, et tous ceux qui ont vécu
avec moi les instants les plus difficiles durant ce travail.*

RIMA

Remerciements

Après cinq ans d'études riches en savoir, en découvertes et en sensations fortes, le voilà le jour où nous avons pu aboutir à l'élaboration et l'achèvement de notre mémoire de fin de cycle qui sera le fruit de tant d'années de travail et de détermination.

*Nous tenons à remercier en premier lieu **ALLAH** le tout puissant de nous avoir accordé santé, force, courage et patience afin d'accomplir ce mémoire qui ne pouvait guère voir le jour sans sa grâce et sa bénédiction.*

*Nous tenons à témoigner notre reconnaissance à nos encadrants du travail **Mr Fatmi Sofiane** et **Mme Taouzinet Lamia** pour tous vos précieux conseils d'avoir partagé leurs expériences et leurs connaissances dans le domaine.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements à **Mlle Lazreg Hayet Ahlem** pour son aimable contribution, son aide et son soutien.*

Nos vifs remerciements vont spécialement au membre de jury pour l'honneur qu'ils ont fait en acceptant de juger ce modeste travail.

Merci à tous les responsables de Laboratoire du génie pharmaceutique, enseignants, ingénieurs et techniciens pour la pertinence de leurs remarques et commentaires.

Enfin nous exprimons notre immense gratitude à nos chères familles sans exception du plus vieux au plus jeune ainsi qu'à tous nos amis et à toute personne qui ont pu nous apporter de l'encouragement ou du réconfort durant notre parcours étudiant.

AHLEM et RIMA

Sommaire

Introduction général1

Chapitre I : Généralités sur l'encapsulation

1. Introduction	3
2. Historique de l'encapsulation	3
3. Définition de l'encapsulation	3
4. Objectifs de l'encapsulation	4
5. Technique et efficacité d'encapsulation	4
6. Procédés d'encapsulation	5
6.1. Procédés mécaniques	7
6.2. Procédés physico-chimique	9
6.3. Procédés chimiques	10
7. Domaine d'application d'encapsulation	12
7.1. Agroalimentaire	12
7.2. Textile	12
7.3. Cosmétique	12
7.4. Biomédical	12
7.5. Pharmaceutique	13
8. Les systèmes d'encapsulation	15
8.1. Cyclodextrine	15
8.2. Les liposomes	17
8.3. Polyéthylène Glycol	18
8.4. Les Alginates de sodium	19
8.4.1. L'extraction d'alginate	20
8.4.2. Propriétés des alginates	21
8.4.2.1. Propriétés physico-chimiques	21
8.4.2.1.1. Comportement en solution	21
8.4.2.1.2. Aptitude à la gélification	22
8.4.2.2. Propriétés biologiques	22
8.4.2.2.1. Biocompatibilité	22
8.4.2.2.2. Agent absorbant	22
9. Le chitosane	22
9.1. Propriété du chitosane	23

9.1.1. Propriétés physico-chimiques	23
9.1.2. Propriétés chimiques	24
9.1.2.1. Caractère acido-basique	24
9.1.2.2. Formation de complexe (agent de chelation)	25
9.1.3. Propriétés biologiques	25
9.2. Domaines d'application	25
10. Définition de la simulation et de la modélisation	26
10.1. Objectifs des modelés mathématiques	26
10.2. Les modèles mathématiques	26
10.2.1. Modèle d'ordre zéro	26
10.2.2. Modèle de premier ordre	27
10.2.3. Modèle de Higuchi	27
10.2.4. Modèle de Korsmeyer Peppas	28
Chapitre II : Composés hydrophobes naturels et synthétiques	
1. Les huiles essentielles	29
1.1. Introduction sur les huiles essentielles	29
1.2. Définition des huiles essentielles	29
1.3. Composition chimique des huiles essentielles	29
1.4. Propriétés physicochimiques	30
1.5. Conservation sur les huiles essentielles	30
2. L'huiles essentielle du romarin	30
2.1. Etymologie	31
2.2. Description de romarin	31
2.3. Composition et utilisation du romarin	32
2.4. Caractéristiques physico-chimiques	35
2.5. Domain d'application de romarin	36
2.5.1. Industrie agro-alimentaire	36
2.5.2. Alimentation	36
2.5.3. Alimentation diététique, Tisanes herbales	36
2.5.4. Industrie cosmétique et parfumerie	36
2.5.5. La thérapie	36
2.6. Toxicité	37
3. La vitamine E	37
3.1. Historique	37

3.2. Qu'est-ce que la vitamine E ?	38
3.3. Propriétés physico-chimiques de la vitamine E	39
3.4. Caractéristiques de la vitamine E	40
3.5. Source de la vitamine E	41
3.5.1. Origine naturelle	41
3.5.2. Origine synthétique	41
3.6. Rôles de la vitamine E	41
3.7. L'effet de la vitamine E sur la cellule spermatique	42
3.8. Mécanisme antioxydant	43
Chapitre III : Matériel et méthodes	
1. Matériels, appareillage et produits chimiques utilisés	44
1.1. Produit chimique	44
1.2. Matériel	44
1.3. Appareillage	45
2. Protocol de préparation des systèmes d'encapsulation	45
2.1. Systèmes d'encapsulation de la Vitamine E	45
2.2. Systèmes d'encapsulation de l'huile essentielle de romarin	46
2.3. Les masses des complexes	49
3. Dosage HPLC	49
3.1. Vitamine E	49
3.1.1. La courbe d'étalonnage de la vitamine E	49
3.1.2. Taux d'encapsulation de la vitamine E	50
3.1.3. Cinétique de libération	51
3.2. Huile essentielle de romarin	52
3.2.1. La courbe d'étalonnage de la α -pinène	52
3.2.2. Taux d'encapsulation d'huile essentielle de romarin	53
3.2.3. Cinétique de libération	54
3.3. Association de la vitamine E et huile essentielle de romarin	54
3.3.1. Cinétique de libération de vitamine E et d'huile essentielle associée	54
4. Analyse par spectroscopie IR	55
5. Test de motilité (test spermatique).....	56
5.1. Matières et produits chimiques utilisés	56
5.2. Matériels	56

5.3. Appareillages	56
5.4. Préparation du TRIS	57
5.5. Préparation des traitements	57
5.6. Récolte du sperme épидидymaire	58
5.7. Réfrigération du sperme	59
Chapitre IV : Résultats et discussions	
1. Analyse par spectroscopie infrarouge FTIR	60
2. Courbe d'étalonnage	62
3. Taux d'encapsulation	63
3.1. Taux d'encapsulation de la vitamine E	63
3.2. Taux d'encapsulation de l'huile essentielle	63
4. Cinétique de libération	64
4.1. Cinétique de libération de la vitamine E	64
4.2. Cinétique de libération de l'huile essentielle	65
4.3. Cinétique de libération de l'association	66
5. Modélisation mathématique	69
5.1. Modélisation mathématique de la vitamine E	69
5.2. Modélisation mathématique de l'huile essentielle de romarin	70
5.3. Modélisation mathématique de l'association (Vit E et HE)	71
6. Test spermatique	72
6.1. Vitamine E seul et vitamine E encapsulé dans les différents systèmes	72
6.2. Huile essentielle seul et huile essentielle encapsulé dans les différents systèmes	74
6.3. Association de la vitamine E et les huiles essentielles de romarin	75
CONCLUSION	78

Listes des figures

Figure 1 : Les procédés d'encapsulation	6
Figure 2 : Mécanisme de formation des microparticules par Polymérisation interrassiale	11
Figure 3 : Structure des cyclodextrines naturelles	17
Figure 4 : Structure d'un liposome	18
Figure 5 : Structure chimique d'alginate de sodium	20
Figure 6 : Structure chimique du chitosane	23
Figure 7 : Plante de romarin (Romarins officinales)	31
Figure 8 : Aspect morphologique de la feuille de romarin.....	32
Figure 9 : Mécanisme antioxydant de la vitamine E	43
Figure 10 : Appareil Rota vapeur	46
Figure 11 : Liposomes (HE ; Vit E).....	47
Figure 12 : Des billes Alginates chitosane chargés d'huile essentielle de romarin	47
Figure 13 : Des billes Alginates/chitosane chargés de la vitamine E	48
Figure 14 : Appareil HPLC	50
Figure 15 : Appareil sonicateur	51
Figure 16 : Vortex	51
Figure 17 : Appareil infrarouge	56
Figure 18 : L'épididyme.....	58
Figure 19 : Appareil de CASA	59
Figure 20 : Les spectres de vitE/CD vitE/Alg vitE/PEG vitE/ Lip vitE de spectroscopie infra rouge à transformé de Fourier	60
Figure 21 : Les spectres de HE/CD HE/Alg HE/PEG HE/ Lip HE de spectroscopie infra rouge à transformé de Fourier	61
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E	62
Figure 23 : Courbe d'étalonnage de l'huile essentielle	62
Figure 24 : Profil de dissolution de la vitamine E encapsulée dans les HP-β-CD, PEG... liposomes et alginate par procédé d'encapsulation classique.....	64
Figure 25 : Profil de dissolution de l'huile essentielle encapsulée dans les HP-β-CD, PEG, liposomes et alginate par procédé d'encapsulation classique.....	65
Figure 26 : Profil de libération de l'association vitamine E encapsulée dans les HP-β-CD, PEG, liposomes et alginate par procédé d'encapsulation classique	66

Figure 27 : Profil de libération de l'association du l'huile essentielle encapsulée dans les HP- β -CD, PEG, liposomes et alginate par procédé d'encapsulation classique	67
Figure 28 : Valeurs moyenne (\pm SEM) pour curviligne vitesse (VCL) de vit E.....	72
Figure 29 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse linéaire droite (VSL) de vit E	73
Figure 30 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse moyenne du trajet (VAP) de vit E	73
Figure 31 : Valeurs moyenne (\pm SEM) pour curviligne vitesse (VCL) d'HE	74
Figure 32 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse linéaire droite (VSL) d'HE	74
Figure 33 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse moyenne du trajet (VAP) d'HE	75
Figure 34 : Valeurs moyenne (\pm SEM) pour curviligne vitesse (VCL) d'association (vit E/HE)	75
Figure 35 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse linéaire droite (VSL) d'association (Vit E/HE)	76
Figure 36 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse moyenne du trajet (VAP) d'association (Vit E/HE)	76

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature de procédé	7
Tableau 2 : Différent domaine d'applications de l'encapsulation	14
Tableau 3 : Les principales propriétés physicochimique des trois cyclodextrines	16
Tableau 4 : Compositions chimiques de l'extrait du romarin	33
Tableau 5 : Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'HE du Romarin	34
Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques du Romarin	35
Tableau 7 : La variation de la structure chimique de l' α -, β -, γ - et δ -vitamine E	39
Tableau 8 : Propriétés physico-chimique de la vitamine E	40
Tableau 9 : Dénomination de différents tocophérols et tocotrienols	41
Tableau 10 : Les masses initiale et finale des complexes	49
Tableau 11 : Préparations des solutions de la courbe d'étalonnage de la vitamine E	49
Tableau 12 : Préparation des solutions pour l'étude de la cinétique de libération de vitamine E	.52
Tableau 13 : Préparations des solutions de la courbe d'étalonnage de α -pinène	53
Tableau 14 : Préparation des solutions pour l'étude de la cinétique de libération d'HE	54
Tableau 15 : Préparation des solutions pour l'étude de la cinétique de libération de l'association (Vit E/HE).....	55
Tableau 16 : Masses des différents systèmes d'encapsulation de l'huile essentielle de romarin	.57
Tableau 17 : Masses des différents systèmes d'encapsulation de vitamine E	57
Tableau 18 : Volumes des différents systèmes d'encapsulation de l'association (Vit E et HE	58
Tableau 19 : Le taux d'encapsulation de la vitamine E	63
Tableau 20 : Le taux d'encapsulation de l'huile essentielle	63
Tableau 21 : Modélisation des données de libération de la vitamine E par procédés d'encapsulation classique	69
Tableau 22 : Modélisation des données de libération de l'huile essentielle de romarin par procédés d'encapsulation classique	70
Tableau 23 : Modélisation des données de libération en associant la vitamine E et l'huile essentielle de romarin par procédés d'encapsulation classique	71

Liste des abréviations

Alg : Alginate.

CD : Cyclodextrine.

DA : Degré d'acétylation.

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformé de fourrier.

HE : Huile essentielle.

HPLC : High-performance liquide chromatography.

Lip : Liposome.

PEG : Polyéthylène glycol.

pH : Potentiel hydrogène.

TF : Température de fusion.

VAP : Vitesse moyen du trajet.

VCL : Vitesse curviligne.

Vit E : Vitamine E.

VSL : Vitesse linéaire droite.

Introduction générale

Introduction générale

L'amélioration de la solubilité des composés bioactifs hydrophobes constitue un défi majeur dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire. La vitamine E et l'huile essentielle de romarin sont deux composés naturels aux propriétés antioxydantes puissantes, largement utilisés pour leurs bénéfices sur la santé. Cependant, leur faible solubilité dans les milieux aqueux limite leur efficacité et leur application [1].

L'encapsulation représente une solution prometteuse pour surmonter ces limitations en améliorant la solubilité, la stabilité et la biodisponibilité des substances hydrophobes. Cette technique consiste à enfermer les composés actifs dans une matrice protectrice, permettant ainsi un contrôle de leur libération et une protection contre les dégradations environnementales [2].

Ce mémoire se propose d'explorer l'amélioration de la solubilité de la vitamine E et de l'huile essentielle de romarin en utilisant différents systèmes d'encapsulation, notamment les liposomes [3], les alginates [4], les cyclodextrines et le polyéthylène glycol (PEG)[5]. Chaque système d'encapsulation offre des avantages uniques en termes de capacité à solubiliser et stabiliser les composés hydrophobes, en fonction de leurs propriétés physico-chimiques spécifiques [3].

Les liposomes, composés de bicouches lipidiques, sont connus pour leur capacité à encapsuler efficacement des substances hydrophobes, facilitant leur incorporation dans des formulations aqueuses. Les alginates, polysaccharides naturels dérivés d'algues, offrent des propriétés gélifiantes et biocompatibles, idéales pour la libération contrôlée de composés actifs. Les cyclodextrines, avec leur structure en cavité, peuvent former des complexes d'inclusion avec des molécules hydrophobes, améliorant ainsi leur solubilité. Enfin, le polyéthylène glycol (PEG) est un polymère hydrophile capable de stabiliser et de solubiliser divers composés bioactifs [5].

Cette étude examine l'effet synergique potentiel entre la vitamine E et l'huile essentielle de romarin lorsqu'ils sont utilisés conjointement. L'effet de synergie se réfère à la situation où l'action combinée de deux substances produit un effet plus important que la somme des effets individuels. Dans le contexte de cette étude, l'association de la vitamine E et de l'huile essentielle de romarin pourrait renforcer leurs propriétés antioxydantes et améliorer leurs effets bénéfiques sur la santé. La synergie entre ces deux molécules pourrait résulter de leurs interactions chimiques et physiques, augmentant ainsi leur stabilité et leur efficacité dans les systèmes biologiques.

Introduction générale

L'objectif de cette recherche consiste à mettre au point un système d'encapsulation et solubilisation d'un principe actif hydrophobe, la vitamine E et l'huile essentielle Romarin. Elles sont portés sur la diversité des molécules solubilisâtes, HP- β -CD, PEG, liposome et alginate.

Le manuscrit s'articule en quatre chapitres :

- ❖ Le premier chapitre est une synthèse bibliographique sur l'encapsulation et les différents systèmes d'encapsulation.
- ❖ Alors que le deuxième chapitre décrit les composés hydrophobes et synthétiques ainsi des généralités sur l'huile essentielle de romarin et la vitamine E.
- ❖ En revanche, le troisième chapitre est consacré pour la partie expérimentale ou on décrit les différents protocoles expérimentaux réalisés.
- ❖ Enfin, le quatrième chapitre exporte les différents résultats obtenus.

Le travail s'achèvera par une conclusion générale.

Chapitre I

Généralités sur l'encapsulation

1. Introduction

Dans ce chapitre, nous avons exploré les différentes méthodes et types d'encapsulation. Nous avons également examiné les diverses applications pour faciliter notre étude. En conséquence, nous proposons de fournir plus de détails sur notre travail dans le chapitre suivant.

2. Historique de l'encapsulation

L'encapsulation est un domaine de recherche très dynamique, démontrant une compétition multidisciplinaire majeure. Aujourd'hui, les capsules doivent être toujours plus sophistiquées et spécifiques [6].

Le premier produit commercialisé généré de l'encapsulation a été le papier autocopiant développé par Green et Schleicher dans les années 1950 [7].

C'est dans les années 50 qu'ont été développés les premiers produits encapsulés, avec la fabrication du papier copie sans carbone, sur lequel était fixé des microcapsules contenant de l'encre. Sous l'effet d'une pression, les capsules s'ouvraient, libérant ainsi les actifs protégés. Aujourd'hui, les applications de l'encapsulation sont nombreuses et touchent des domaines tels que les industries chimiques, agro-alimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques, nutraceutiques, l'agriculture, les textiles ou encore la peinture [8].

3. Définition de l'encapsulation

D'une manière générale, l'encapsulation peut être définie de la façon suivante: piégeage d'un ou plusieurs objets au sein d'un matériau en vue de son immobilisation, sa protection, le contrôle de son transfert, sa structuration et sa fonctionnalisation [9]. Cette définition faite référence aux enjeux de l'encapsulation et englobe un grand nombre de systèmes.

L'encapsulation est un procédé qui a pour but de piéger une substance ou un mélange de substances précis à l'aide de matériaux adaptés. Les substances qui feront l'objet d'une encapsulation peuvent être liquides, solides ou gazeuses. Généralement, ce sont des principes actifs sensibles ou instables à certains facteurs environnementaux et qui ont une action bien ciblée. Il peut aussi s'agir de substances dont on souhaite modifier l'état comme par exemple la transformation d'un liquide en solide [8]. L'encapsulation permet d'immobiliser les composés volatils des huiles essentielles, de stabiliser ces dernières et de les protéger (contre la lumière, l'oxygène et la température).

4. Objectifs de l'encapsulation

Les principaux objectifs de l'encapsulation sont comme suit : [10-13]

- Obtenir une libération prolongée du médicament;
- Améliorer la solubilité du médicament hydrophobe insoluble en réduisant la taille des particules.
- Masquer les propriétés organoleptiques telles que le goût et l'odeur de nombreux médicaments et améliorer ainsi la compliance du patient.
- Convertir les médicaments liquides en des poudres à écoulement libre.
- Protéger les médicaments sensibles à l'humidité, à la lumière et à l'oxygène et à la température.
- Empêcher l'incompatibilité entre les substances actives et les excipients.
- Protéger des médicaments, qui se vaporisent à température ambiante ou qui sont de nature volatile.
- Modifier le site d'absorption pour les médicaments qui présentent une toxicité à pH faible.
- Produire des médicaments amorphes avec des propriétés physiques souhaitables. Elle permet de préparer des cellules immobilisées ou des enzymes;
- Faciliter l'injection grâce à la forme sphérique et de la taille des particules:

5. Technique et efficacité d'encapsulation

Il n'existe pas de système universel d'encapsulation pour une substance active donnée. En effet, lorsque l'actif à protéger est un complexe de molécules, tels que les extraits naturels, les contraintes et les difficultés de développement sont importantes. Les différences entre les composés (hydrophilie/hydrophobicité, différences de masses moléculaires, fonctions chimiques diverses, etc.) vont conduire à des différences d'interaction avec le ou les matériaux de recouvrement, entraînant par exemple des rendements d'encapsulation variables [8]. De nombreuses méthodes d'encapsulation ont été développées afin de s'adapter à divers types de substances actives et matériaux enrobants. Ces différentes méthodes permettent d'obtenir des particules aux caractéristiques variées (taille, épaisseur de la paroi, perméabilité) permettant de moduler la libération de la substance active [14].

L'efficacité de l'encapsulation dépend de plusieurs variables. La rétention de l'agent actif dans l'enveloppe membranaire est régie par des facteurs liés à la nature chimique du noyau,

Chapitre I : Généralités sur l'encapsulation

notamment son poids moléculaire, sa fonctionnalité sa polarité et sa volatilité, les propriétés de matériau de base et la technique d'encapsulation choisie.

Les matériaux de base les plus couramment utilisés dans la coacervation sont les polysaccharides et les sucres (gomme, amidon, cellulose, cyclodextrine); les protéines (gélatine, caséine, protéines de soja); les lipides (cires, paraffine, huiles); et des polymères synthétiques (polymères acryliques, poly vinylpyrrolidone). Dans une moindre mesure, des matériaux inorganiques tels que des silicates, des argiles et des polyphosphates peuvent également être utilisés [15].

6. Procédés d'encapsulation

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour favoriser l'encapsulation des composés bioactifs. Le choix de la méthode d'encapsulation la plus appropriée dépend essentiellement du type de matériau de base et des caractéristiques du produit final où l'encapsulation sera appliquée. De plus le choix de matériau de la paroi de la capsule a une grande influence sur les propriétés de la substance encapsulée, particulièrement sur l'efficacité d'encapsulation, et devrait être considéré soigneusement [16].

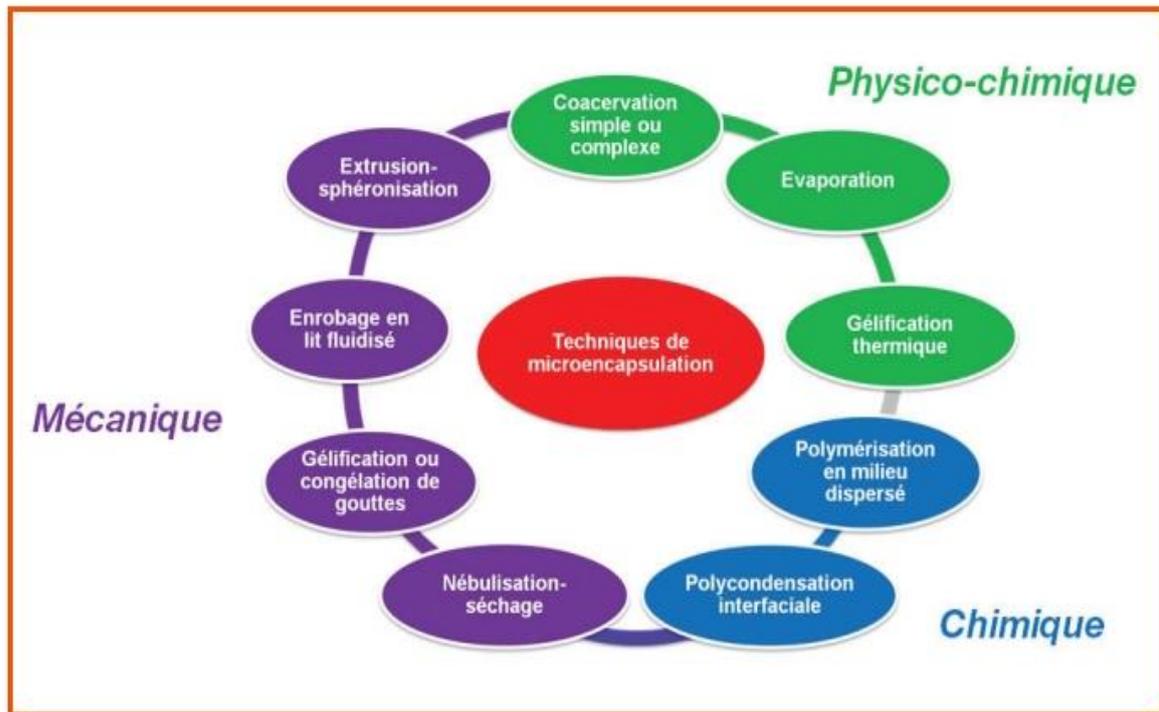


Figure 1 : Les procédés d'encapsulation [16].

Il est, cependant, Impossible d'avoir une technique d'encapsulation qui s'adapte à toutes les molécules car chaque molécule présente des propriétés complètement différentes (consistance (liquide, solide), stabilité, état physique, solubilité, point de fusion...).

Il existe plusieurs manières de classer les procédés industriels d'encapsulation suivant différents critères : [9]

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

Cette dernière manière de classer les procédés industriels est la plus couramment utilisée, donc on distingue 3 groupes de procédés : [15]

- Les procédés mécaniques: sont basés sur le séchage ou la solidification de gouttelettes contenant tous les constituants de la future particule.
- Les procédés chimiques sont caractérisés par un déclenchement simultané de la synthèse de la membrane (ou de la matrice) et de l'encapsulation du principe actif.
- Les procédés chimiques n'utilisent donc pas de matrices enrobantes préformées.

Chapitre I : Généralités sur l'encapsulation

Les procédés physico-chimiques sont dépendants :

- De la solubilité des agents enrobant sous l'effet de variations des conditions physiques (température, pH, ajout d'un non solvant ou d'un polymère incompatible...)
- De changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobant.

Tableau1 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature de procédé [16].

Type de procédé	Mode d'encapsulation	Type de microparticules
Procédés physicochimiques	Séparation de phases ou coacervation (simple ou complexe)	Microcapsules Microsphères
	Evaporation-extraction de solvant	Microsphères
	Gélification thermique d'émulsions (Holt melt)	Microsphères
Procédés chimiques	Polycondensation interfaciale	Microcapsules
	Polymérisation interfaciale	Microcapsules
Procédés mécaniques	Nébulisation/ séchage (spray drying)	Microsphères
	Enrobage en lit fluidisé (spray-coating)	Microcapsules
	Extrusion/ sphronisation	Microsphères

6.1. Procédés mécaniques

➤ Nébulisation/séchage par pulvérisation (spray drying)

- Le procédé de nébulisation/séchage par pulvérisation est un procédé continu en une seule étape qui permet de transformer une formulation liquide initiale en une forme microparticulaires sèche. La formulation liquide initiale peut être constituée [17].
- Soit d'une solution de matière active et de matériau enrobant:
- Soit d'une dispersion de particules solides de matière active dans une solution ou une émulsion de matériau enrobant ;
- Soit encore d'une émulsion de matière active dans une solution de matériau enrobant.

- Le séchage par pulvérisation (atomisation ou nébulisation) est la technique la plus largement mise en œuvre pour la microencapsulation des composés bioactifs. Il s'agit d'un processus simple, rapide et peu coûteux. Les principes de base de cette technique sont l'atomisation de l'alimentation liquide dans la chambre de séchage sous forme de minuscules gouttelettes contenant des composés bioactifs, l'apport d'air chaud dans la chambre de séchage induit à la formation de microcapsules sphériques et la séparation de ces microcapsules par récupération cyclonique [16].
- Les matériaux les plus couramment utilisés dans l'encapsulation par la technique du spray drying sont les protéines, telles que les protéines laitières et les isolats de protéines végétales, et les polysaccharides tels que la gomme arabique, les maltodextrines, l'amidon modifié, l'inuline et la gomme de cajou [14].

➤ **Gélification ou congélation de gouttes**

- Le principe de la technologie du gélification est similaire au principe de nébulisation. Ceci près qu'il ne s'agit pas de séchage sous air chaud mais de refroidissement rapide de gouttelettes constituées d'une cire à haut point de fusion. Le principe est donc basé sur la solidification des cires [18].
- La matrice d'encapsulation doit avoir un point de fusion très supérieur à la température de l'air de refroidissement ainsi qu'un pic de solidification le plus fin possible. L'actif peut être solide ou liquide, hydrophobe ou hydrophile. Les microsphères obtenues ont une granulométrie qui varie de 100 à 400 μm , avec un taux d'encapsulation pouvant atteindre 40 à 60% [6].

➤ **Enrobage en lit fluidisé**

- Le procédé d'enrobage en lit fluidisé est une technologie qui s'applique exclusivement sur des particules solides (granulées, cristaux) par enrobage en couche uniforme [19].
- Egalement, des matières actives liquides peuvent être encapsulées après absorption par des supports particuliers poreux.

Ce procédé comprend une séquence cyclique qui se décompose en 3 temps :

- Fluidisation de la poudre de particules;
- Pulvérisation du matériau d'enrobage sur les particules;
- Séchage de l'enrobage.

➤ Extrusion

- L'encapsulation par extrusion est utilisée quasi exclusivement pour des substances volatiles et instables telles que des arômes dans des matrices d'hydrate de carbone à l'état vitreux [19].
- La méthode d'extrusion consiste à déposer des gouttelettes d'une solution aqueuse de polymère (le plus souvent c'est de l'alginate de sodium) et l'active dans un bain gélifiant (dans le cas de l'alginate, le bain gélifiant est une solution de chlorure de calcium) [20].
- L'extrusion est une technique douce et pratique, qui offre une encapsulation réussie d'une grande variété de composés, y compris des composés hydrophiles ou hydrophobes avec une longue durée de conservation [21].

6.2. Procédés physico-chimique

Les procédés physico-chimiques sont basés sur la maîtrise:

- De variations de solubilité et de conditions de précipitation des agents enrobant. Il s'agit, par exemple, de la précipitation contrôlée d'un polymère en solution, par ajout d'un non-solvant ou d'un polymère incompatible (coacervation simple), ou encore par variation de température et de pH de la solution (coacervation complexe).
- De changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobant (gélification thermique d'émulsions) [14].

➤ Coacervation

Les processus de coacervation s'opèrent dans des conditions douces (pas de solvant agressif, organique,...); par conséquent, ces méthodes sont un bon potentiel pour la micro-encapsulation de cellules vivantes et de molécules labiles, lesquelles ne peuvent pas résister aux conditions dures (chaleur, solvants organiques) qui accompagnent les autres procédés de micro-encapsulation [22].

❖ Coacervation simple

Le procédé de coacervation consiste à abaisser la solubilité d'un polymère (coacervation simple) initialement solubilisé dans un solvant organique ou en milieu aqueux, en variant la température ou par ajout d'un électrolyte, d'un non-solvant ou d'un 2^{me} polymère (agent de coacervation). Il se formera deux phases liquides l'une riche en polymère (coacervat) et l'autre pauvre en polymère [7].

❖ Coacervation complexe

En effet, la structure du coacervat est « complexe » puisqu'elle comprend deux polymères, par opposition à la coacervation simple qui génère des gouttelettes de coacervat constitué d'un seul polymère.

La réticulation des microcapsules obtenues se fait par ajout de glutaraldehyde ou d'acide tannique, ce qui permet de solidifier les particules [25].

➤ Evaporation-extraction de solvant

Cette technique est la plus largement développée sur de nombreux polymères. Elle se base sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase sous forme de Microsphère [9].

➤ Gélification thermique « hot melt »

Ce procédé repose sur la fusion du matériau d'enrobage. La matière active à encapsuler est dissoute ou dispersée dans ce matériau fondu. L'ensemble est émulsionné dans une phase dispersante, dont la température est maintenue supérieure à la température de fusion de l'enrobage (T_f) et pour laquelle la matière active n'a aucune affinité il s'agit d'eau distillée lorsque la substance à encapsuler est lipophile, et d'huile de silicone, par exemple, lorsqu'elle est hydrosoluble. La solidification des globules dispersés est obtenue en refroidissant brutalement le milieu [9].

6.3. Procédés chimiques

Contrairement aux deux autres classes de techniques qui utilisent des agents enrobage préformés tels que des polymères ou des lipides, les procédés d'encapsulation « chimiques » reposent sur la formation in situ du matériau enrobage. Les composés de base sont des Monomères [26].

➤ Polycondensation interfaciale

La polycondensation interfaciale met en jeu 2 monomères ayant des groupes fonctionnels complémentaires (A et B), chacun soluble dans une des phases d'un système diphasique. L'encapsulation de principes actifs peut être réalisée par cette méthode via un protocole en deux étapes. Dans un premier temps une émulsion est préparée, la phase dispersée contenant l'espèce à encapsuler ainsi qu'un monomère. Puis cette émulsion est diluée afin d'apporter le second monomère en phase continue. La réaction démarre alors à l'interface des gouttelettes. On obtient en fin de réaction une membrane à l'interface des gouttelettes qui renferment l'espèce à encapsuler [19].

Chapitre I : Généralités sur l'encapsulation

La taille des microcapsules obtenues par polycondensation interfaciale est comprise entre environ 0,5 μm et 100 μm selon la taille initiale des gouttelettes d'émulsion [9].

➤ Polymérisation interfaciale

Cette technique, combine une émulsion eau dans huile (E/H) ou huile dans eau (H/E) et une réaction chimique entre deux réactifs à l'interface de la phase dispersée. La phase dispersée contient un solvant, un principe actif et le monomère A. Elle peut être soit aqueuse, soit organique. La phase continue est constituée d'un solvant et d'un monomère B. Le déroulement d'une polymérisation interfaciale appliquée à la formation de microparticules est schématisé à la figure 2. Au départ l'émulsion se fait en l'absence du monomère B. Ce dernier n'est introduit qu'à partir du moment où l'émulsion est stabilisée. La réaction de polymérisation peut ensuite débiter [27].

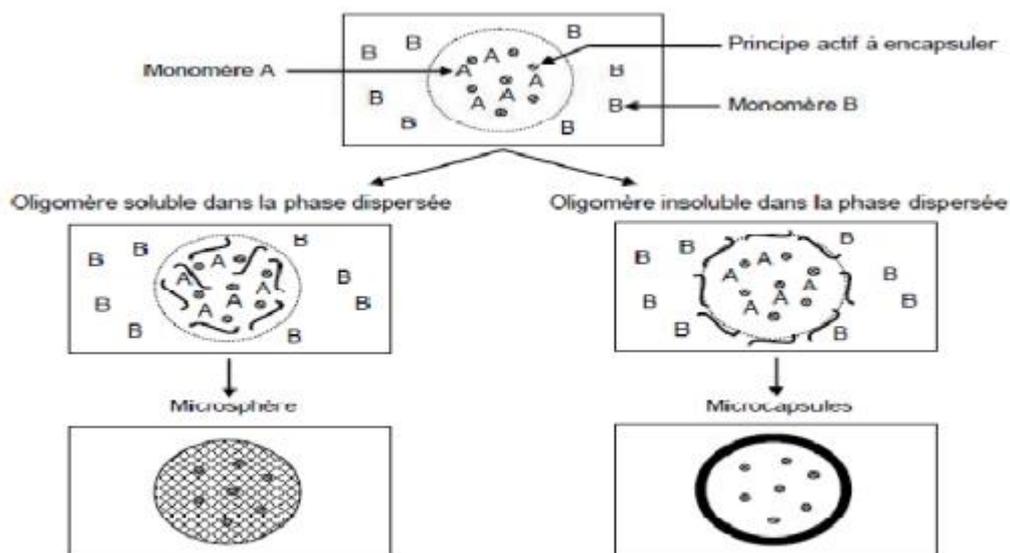


Figure 2 : Mécanisme de formation des microparticules par Polymérisation interfaciale [27].

7. Domaines d'applications d'encapsulation

L'encapsulation étant une méthode de protection de différentes matières actives des facteurs extérieurs, ce concept a été largement utilisé dans divers domaines d'applications et reste en constante évolution, on cite :

7.1. Agroalimentaire

L'encapsulation utilisée principalement pour les additifs alimentaires, est un moyen idéal pour masquer le goût, l'odeur et voir même la couleur de certaines substances, et donc ajuster la saveur alimentaire. Elle permet aussi d'éviter les interactions entre les différents composants d'un complexe alimentaire et de protéger les principes actifs vis-à-vis de l'oxydation (protection des arômes) ou encore de l'humidité (protection du sel et du sucre), et par conséquence prolonger la durée de conservation du produit [28-30].

7.2. Textile

Les microcapsules peuvent rendre des textiles hydratants, désinfectants, parfumés...etc. Récemment, des tissus contenant des microcapsules à base de paraffine permettent d'ajuster automatiquement la température en fonction de la chaleur du corps humain [31].

7.3. Cosmétique

L'encapsulation dans le domaine du cosmétique vise à utiliser des microcapsules comme réservoirs pour diverses cosmétologiquement actives et susceptibles d'être dégradées trop rapidement dans le milieu externe du produit, à titre d'exemple : la vitamine E (action antiradicalaire), la dihydroxyacétone (action bronzante), ou encore la caféine [28]. Dans ce domaine, des microcapsules ont déjà été intégrées dans différentes crèmes, des shampooings, ou des gels, afin de prolonger la stabilité chimique et microbiologique du principe actif [30].

7.4. Biomédical

L'encapsulation dans les hydrogels est l'une des stratégies utilisées dans le domaine médical, essentiellement dans l'immuno-isolation pour séparer les cellules vivantes de leur environnement, en cas de greffe par exemple. Ces hydrogels sont fabriqués à partir de polymères ayant la capacité de former des structures tridimensionnelles sous forme de gel pouvant absorber de grandes quantités de molécules d'eau. Comme certains de ces hydrogels peuvent être constitués jusqu'à 99% d'eau, ils créent une structure compatible avec la survie des cellules encapsulées à l'intérieur du gel tout en étant bien tolérés dans le corps humain. La

formation de ces hydrogels offre un support tridimensionnel aux cellules, tout en les isolants de l'extérieur grâce aux réseaux des chaînes de polymères [28]. Ils permettent une perfusion sélective des nutriments, de l'oxygène et de produits protéiques vers l'intérieur du gel, mais empêche les grandes molécules toxiques [28, 33] et les molécules physiologiques de haut poids moléculaire et les anticorps ainsi que d'autres substances immunologiques de passer [32, 33].

7.5. Pharmaceutique

La micro encapsulation joue un rôle de plus en plus important dans la délivrance des médicaments, les microsphères contenant des médicaments sont utilisées par voie orale ou par injection intramusculaire [8]. Elles sont principalement conçues pour contrôler le taux et la durée de la libération du principe actif, améliorer la biodisponibilité et la stabilité des médicaments et cibler des sites spécifiques du corps [33].

L'encapsulation des vaccins est aussi visée par les chercheurs scientifiques, ces derniers reconnaissent maintenant l'importance de la vaccination par voie orale ou intranasale. La délivrance efficace des vaccins par les voies non parentérales peut être réalisée avec succès, à l'aide de cette technique d'encapsulation en raison de l'excellente propriété mucoadhésive des biopolymères et leur capacité protectrice de l'environnement acide. Des rapports antérieurs indiquent que les microcapsules de l'alginate permettent une libération prolongée du vaccin et aide maintenir son intégrité [33].

Tableau 2 : Différent domaine d'applications de l'encapsulation [34].

Domaine industriel	exemple de composés encapsulés
Pharmacie et médical	Antibiotiques, contraceptifs, enzymes, vaccins, bactéries, vitamines, minéraux, antigènes, anticorps
Cosmétique	Parfums, huiles essentielles, anti transpirants, agents bronzants, crèmes solaires, colorants capillaires, baumes démêlants, mousses à raser
Alimentaire	huiles essentielles, graisses, épices, arômes, vitamines, minéraux, colorants, enzymes, levures, micro-organismes...
Agiculture	Herbicides, insecticides, engrais, répulsifs, hormones végétales...
Biotechnologie	Enzymes immobilisées, microorganismes, cellules vivantes, cellules artificielles, cultures tissulaires, composés nutritionnels...
Chimie	Catalyseurs, enzymes, additifs pour plastiques, eau (plâtre et béton), inhibiteurs de corrosion, retardateurs d'incendie, colorants et pigments, agents UV protecteurs, parfums, huiles essentielles, agents lubrifiants...
Détergent	Adoucissants, antistatiques, agents décolorants, agents moussants, silicones, cires, détachants...
Textile	Colorants, parfums, pigments, bactéricides, fongicides, répulsifs d'insectes, agents antistatiques, retardateurs d'incendie, agents imperméabilisants, adhésifs, composés bioactifs médicaux, composés bioactifs cosmétiques
graphisme et impression	Colorants, pigments, parfums, révélateurs, cristaux liquides, toners, composés photosensibles...
Photographie	Halogénures d'argent, pigments, colorants, composés photopolymérisables, révélateurs pour photographies couleurs, plastifiants ...
Electronique	Cristaux liquides, matériaux semi-conducteurs, adhésifs, agents de séchage, retardateurs de flammes, antistatiques...

8. Les systèmes d'encapsulation

Les systèmes d'encapsulation sont des méthodes utilisées pour envelopper ou enfermer une substance active dans une matrice protectrice. Cela permet de protéger la substance active, de contrôler sa libération et de l'acheminer efficacement vers son lieu d'action.

Parmi les systèmes d'encapsulation : les cyclodextrines, les liposomes, polyéthylène Glycol (PEG).

8.1. Cyclodextrine

Les cyclodextrines (CD) représentent une famille d'oligosaccharides cycliques non toxiques, obtenus par dégradation enzymatique de l'amidon. Ils comportent six, sept ou huit unités glucose reliées par des liaisons -1-4, nommées respectivement α , β , et γ CD. Divers groupes fonctionnels modifiés des CD pourraient être joints aux CD natifs, entraînant une modification de leur solubilité et/ ou de leur stabilité [35, 36]. Ils ont une forme semblable à celle d'un cône ; avec une surface extérieure hydrophile, ce qui rend les CD solubles dans l'eau. Une cavité interne non polaire est formée, permettant la formation de complexes d'inclusion de molécules invitées lipophiles [37]. En raison de leur capacité à modifier les propriétés physicochimiques des médicaments et autres composés, les CD sont généralement indiqués comme excipients pharmaceutiques habilitants. Une ou plusieurs molécules médicamenteuses peuvent former un complexe avec une molécule CD et une ou plusieurs molécules CD peuvent former un complexe avec une molécule médicamenteuse. Habituellement, une molécule médicamenteuse crée un complexe avec une molécule CD [38].

Tableau 3 : Les principales propriétés physicochimiques des trois cyclodextrines [39].

Caractéristiques	α -CD	β -CD	γ -CD
Nombre d'unités	7	8	9
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Masse molaire (g.mol ⁻¹)	972.9	1135	1297.1
Volume de la cavité (Å ³)	174	262	427
Diamètre de la cavité (Å)	5.7	7.8	9.5
Diamètre du périphérique (Å)	13.7	15.3	16.9
Hauteur du cône (Å)	7.8	7.8	7.8
Nombre de molécules d'eau dans la cavité	6-8	11-12	13-17
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/100ml)	14.5	1.85	23.2
Température de fusion (°C)	275	280	275
pka à 25 °C	12.3	12.2	12.1
pouvoir rotatoire à 25° C	+150.5	+162.5	+177.4
hydrolyse enzymatique (α -analyse)	Négligeable	Lente	Rapide

Les cyclodextrines sont des composés cristallins, homogènes et non hygroscopiques. Elles se présentent sous forme d'une poudre blanche. Ces substances sont inodores et ont un goût très faiblement sucré. Le diamètre de la cavité dépend du nombre d'unités glucopyranose alors que la hauteur est la même pour les trois CDs. Ainsi, le diamètre externe et le volume de la cavité augmentent en allant de l' α -CD à la γ -CD. La solubilité aqueuse varie d'une façon moins régulière, la β -CD possédant la plus faible solubilité. Ceci peut s'expliquer par le fait que la proximité des hydroxyles secondaires de la β -CD favorise la formation d'une ceinture complète de liaisons hydrogène qui lui confère une forte stabilisation. Toutefois, la B-CD est la plus intéressante du point de vue complexation et représente au moins 95% de la production de CDs [40].

Nombreux dérivés de CDs ont été synthétisés pour différents objectifs [41] améliorer la capacité de complexation des CDs; augmenter leur solubilité aqueuse; augmenter leur affinité pour une molécule donnée; introduire des groupements spécifiques facilitant la complexation; synthétiser des polymères et diminuer les dégâts provoqués au niveau des membranes cellulaires.

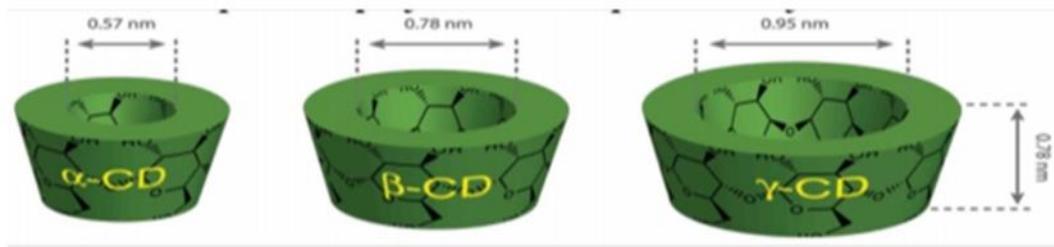


Figure3 : Structure des cyclodextrines naturelles [41].

Les groupements hydroxyles des CD et particulièrement la β -CD peuvent être modifiés par voie chimique ou enzymatique [41]. Les dérivés de cyclodextrines habituellement rencontrés sont de type méthyle, hydroxypropyle [42] et sulfobutyléther [43]. Les dérivés de CD sont caractérisés par le degré de substitution molaire moyen (MS) qui est le nombre moyen de substitution par unité d'a-D-glucopyranose (le MS varie de 0 à 3). Par conséquent, le MS varie d'un dérivé de CD à une autre, et donc les masses molaires varient également [41].

8.2. Les liposomes

Les liposomes sont des vésicules sphériques composées d'une ou plusieurs couches lipidiques le plus souvent de nature phospholipidique. Ils sont capables d'encapsuler une molécule active hydrosoluble, liposoluble ou amphiphile, de la vectoriser et de maîtriser sa libération en fonction des conditions environnementales. Lorsque les molécules encapsulées sont des protéines, on les appelle protéoliposomes [43].

Les liposomes sont composés majoritairement de phospholipides et de cholestérol (permet d'améliorer la fluidité de la bicouche lipidique). La disposition des phospholipides est semblable à celle de la membrane cellulaire mais sous forme de vésicule renfermant un volume aqueux au centre ce qui permet de piéger des molécules hydrophiles. Ceci implique la facilité avec laquelle ces vésicules peuvent transporter et libérer des composés bioactifs dans les cellules humaines d'où le grand intérêt de leur usage dans la délivrance médicamenteuse.

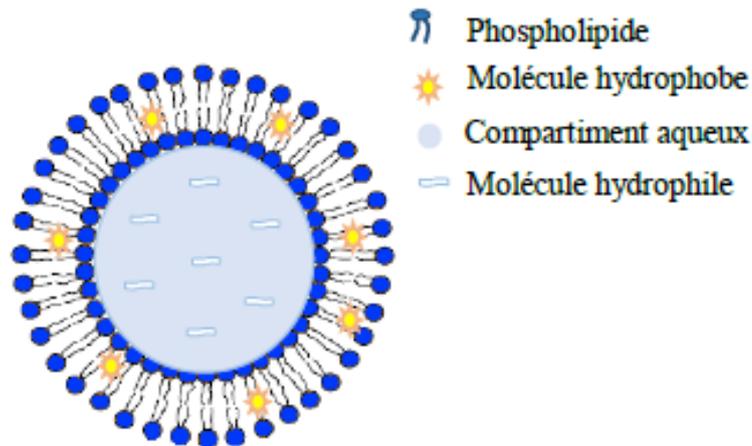


Figure4 : Structure du liposome [43].

L'une des premières applications des liposomes dans les produits alimentaires était dans l'encapsulation des principes actifs hydrophobes.

Les vitamines ont également été encapsulées dans des liposomes pour améliorer leur rétention telle que vitamines A et E, et les carotènes ce qui a permis de prolonger la demi-vie antioxydants piégés et de faciliter leur absorption intracellulaire [44]. Les liposomes ont également été utilisés pour augmenter la qualité nutritionnelle des produits laitiers en piégeant la vitamine D dans la crème et le fromage ce qui a permis de protéger les vitamines de la dégradation [45].

8.3. Polyéthylène Glycol

Le polyéthylène glycol est un polymère neutre non toxique avec la structure $\text{HOH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{CH}_2\text{OH}$ et différents poids moléculaires. Le polyéthylène glycol (PEG) est actuellement l'un des matériaux polymères les plus utilisés pour l'administration de médicaments. De plus, le PEG peut modifier la pharmacocinétique et généralement la toxicité des molécules bioactives. De plus, le PEG peut améliorer la durée de vie de l'ensemble « support de médicament », permettant ainsi l'administration de concentrations plus faibles du composite « support de médicament » et réduisant par conséquent la toxicité. Le PEG couvre une large gamme de propriétés bénéfiques, notamment une solubilité élevée dans les milieux aqueux ainsi que dans les solvants organiques, ce qui facilite la modification des groupes terminaux. Il est également largement utilisé pour la modification des supports utilisés en thérapeutique [46].

8.4. Les Alginates de sodium

L'alginate est une limite collective pour une famille des polysaccharides produits par les algues brunes et bactéries. L'acide alginique a été découvert, extrait, et fait breveter la première fois par Stanford. L'alginate est un des biopolymères les plus polyvalents. Il est utilisé dans le secteur agroalimentaire et l'industrie pharmaceutique car il possède de nombreuses propriétés: épaississant, stabilisant, gélifiant [47]. Ce polysaccharide a été identifié comme composant structural des algues brunes marines, où il constitue jusqu'à 40 % de la matière sèche et se produit principalement dans le mucilage intercellulaire et la cellule d'algues murent comme mélange insoluble de calcium, de magnésium, du potassium, et des sels de sodium [48]. La présence de l'alginate fournit la force et la flexibilité mécaniques de l'algue et, en plus, agit comme la déshydratation d'empêchement de réservoir de l'eau une fois qu'une partie de l'algue a été exposé à l'air.

L'alginate peut être considéré ainsi comme ayant la même chose morphophysiological propriétés en algues brunes en tant que ceux de la cellulose et des pectines aux usines terrestres. Plusieurs bactéries, telles qu'espèces de *vinelandii* et d'*azotobactérie* de nombreuses de *Les pseudomonas*, produisent un matériel polymère exocellulaire qui ressemble à l'alginate [49]. L'acide alginique est un polymère naturel, linéaire, de structure hétérogène, constitué de deux unités monosaccharidiques: l'acide β -D-mannuronique et l'acide α -L-guluronique. Il s'agit donc d'un polyuronide. Ces acides sont liés entre eux par des liaisons glycosidiques du type β -(1-4). Il est important de noter que la proportion en acide mannuronique (Man A) et en acide guluronique (Gul A) varie d'une espèce à l'autre. L'acide alginique comporte une fraction riche en ManA appelée bloc M, une fraction riche en GulA appelée G, et une fraction où les deux unités d'acides uroniques sont liées alternativement entre elles, appelée bloc MG ou GM [50].

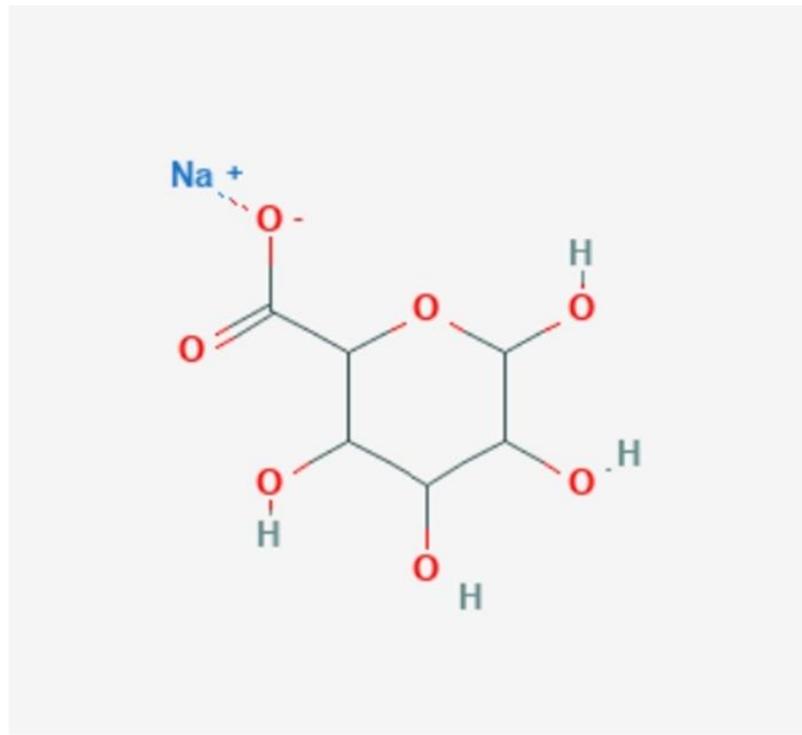


Figure 5 : Structure chimique d'alginate de sodium [50].

L'encapsulation est souvent une méthode relativement efficace pour limiter leur dégradation pendant les procédés de transformation et le stockage du produit. Le procédé d'encapsulation de substances sensibles consiste en deux étapes: la première est la réalisation d'une émulsion composée du couple « lipide-composé » dans une solution dense d'un matériau qui forme la paroi» telle que des polysaccharides ou des protéines. La deuxième est le séchage ou refroidissement de l'émulsion afin de stabiliser la capsule. Ce sont la nature du cœur », la nature de la « paroi », la méthode d'encapsulation, les interactions et les conditions de stockage qui vont affecter la stabilité du composé encapsulé. La taille d'encapsulation peut varier des quelques millimètres à moins d'un micromètre ce qui lui confère le statut de microencapsulation » [47].

8.4.1. L'extraction d'alginate

L'extraction de l'alginate des algues repose sur la solubilité dans l'eau de ce polymère: L'acide alginique est insoluble dans l'eau, mais les sels de cations monovalents tels que le sodium Na ou le potassium K' sont solubles. Ainsi, des changements de pH permettent sa purification et la séparation d'avec les autres composants. Les principales étapes du processus d'extraction de l'alginate sont [51].

- Prétraitement : les algues sont lavées plusieurs fois à l'eau puis rincées à l'eau distillée, de façon à retirer d'éventuelles impuretés. Les algues sont ensuite séchées et broyées finement.

- Purification: la poudre d'algue est traitée avec une solution diluée d'acide, capable de dissoudre les sucres autres que l'alginate.
- Extraction: l'acide alginique est redissous dans une solution légèrement basique de NaHCO_3 sous forme d'alginate de sodium alors que les protéines encore présentes en solution sont hydrolysées.
- Récupération : la solution est alors filtrée et un ajout d'éthanol permet de précipiter spécifiquement l'alginate, celui-ci étant insoluble dans ce solvant contrairement aux acides aminés issus des protéines précédemment hydrolysées [51].

8.4.2. Propriétés des alginates

8.4.2.1. Propriétés physico-chimiques

8.4.2.1.1. Comportement en solution

La solubilité de l'alginate de sodium dans l'eau est influencée par sa force ionique. En effet, quand la force ionique de la solution change, la conformation des chaînes du polymère change et donc la viscosité change également. De plus, une augmentation de la force ionique entraîne une diminution de la solubilisation de l'alginate, ainsi, il est préférable de solubiliser dans un premier temps l'alginate dans l'eau pure avant d'y ajouter une espèce ionique sous agitation [52].

Le pH de la solution joue également un rôle dans la solubilisation de l'alginate. Le pKa de l'acide mannuronique est de 3,38 et celui de l'acide guluronique est de 3,65. Dans le cas où le pH de la solution contenant l'alginate est inférieur aux pKa des deux acides, la formation d'hydrogel est possible [53].

La viscosité est également un paramètre influençant la solubilité des alginates liée à son tour à la conformation des chaînes du polymère. Une chaîne est d'autant plus flexible que sa viscosité diminue. Ce phénomène est facilement observé dans le cas des alginates lors de l'ajout d'un sel, celui-ci va diminuer les répulsions et tend à rapprocher les chaînes entre elles, ce rapprochement des chaînes donne lieu à l'augmentation de la viscosité de la solution [54].

8.4.2.1.2. Aptitude à la gélification

Les alginates sont capables de gélifier suivant deux mécanismes distincts :

- le premier est la gélification de l'acide alginique qui se produit lorsque le pH du milieu est au-dessous du pKa de l'alginate. Dans ce cas, des associations intermoléculaires peuvent se produire par des liaisons hydrogènes et des interactions hydrophobes [53].
- le second mécanisme de gélification est réalisé en présence d'ions multivalents tels que les ions calcium. Dans ce cas, les chaînes d'alginate se lient avec ces ions dans une configuration dite 'boite à œufs' dans laquelle un ion divalent est enfermé dans une coque d'acide guluronique de l'alginate [55].

8.4.2.2. Propriétés biologiques

8.4.2.2.1. Biocompatibilité

Un matériau est considéré comme étant biocompatible lorsqu'il n'engendre pas de réponse inflammatoire pour les tissus et qu'il est bien toléré par les cellules [56].

En effet, l'alginate extrait de sources naturelles peut contenir des impuretés comme des métaux lourds, des endotoxines, des protéines et des composés à base de polyphénols [57].

L'utilisation d'un alginate hautement purifié par de multiples étapes d'extraction n'engendrait pas de réponse inflammatoire [58].

8.4.2.2.2. Agent absorbant

Les alginates sont connus pour être des hydrogels capables absorber plusieurs fois (jusqu'à 300 fois) leur taille en eau [59]. Les mécanismes d'absorptions chez les alginates sont au nombre de deux [60]: une absorption inter-fibres qui correspond à l'absorption du fluide entre les fibres et une absorption intra-fibres qui correspond à l'absorption à l'intérieur de la structure de la fibre.

9. Le chitosane

Le chitosane est un polysaccharide structure linéaire, c'est un biopolymère cationique de glucosamine partiellement acétylé [61].

Le chitosane est un composé de nature non toxique. Il possède d'excellentes propriétés. Il est soluble dans la plupart des solvants organiques (acide lactique, acétique, ...etc.) et se précipite à pH >7. C'est un polymère linéaire de poids moléculaire variant de 50,000 à 2,000,000. Toutefois, son poids moléculaire peut dépendre de la sévérité du traitement alcalin lors de l'étape de désacétylation [62].

Nous appelons chitosane tout copolymère dont le degré d'acétylation (DA) est inférieur à 60 % comme c'est l'usage dans la littérature relative à ce biopolymère. Le DA qui représente

le pourcentage d'unités N-acetyl-D-glucosamine. Il n'existe cependant pas de valeur précise du DA proposant une limite entre les termes chitine et chitosane [63].

Le chitosane dont la formule chimique est $(C_6H_{11}NO_4)_n$ [64], possède généralement, trois types de groupes fonctionnels réactifs : les groupes amines sur le carbone C(2), les groupes hydroxyles primaires et secondaires sur le carbone C(3) et le carbone C(6). La nature chimique du chitosane fournit beaucoup de possibilités alternatives pour des modifications covalentes et ioniques qui permettent l'ajustement étendu des propriétés mécaniques et biologiques [60].

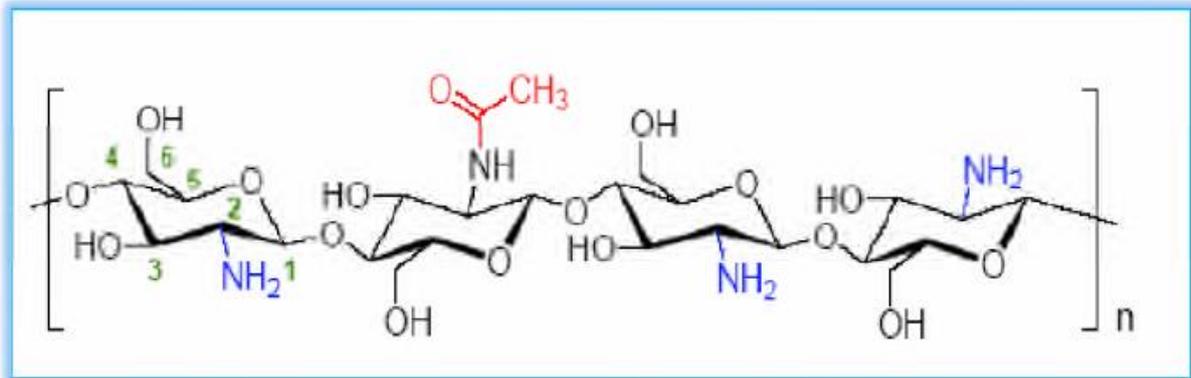


Figure 6 : Structure chimique du chitosane [65].

9.1. Propriétés du chitosane

9.1.1. Propriétés physico-chimiques

La chitine et le chitosane sont principalement caractérisés par leur degré d'acétylation (DA) et par leur masse molaire, dont la détermination nécessite la mise en solution du polymère. De nombreuses méthodes sont proposées afin de déterminer le DA sur des échantillons solides: la spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier [66], l'analyse élémentaire qui a été réalisée par Pelletier [67] et qui montre que le rapport Azote/Carbone (N/C) est considérablement différent dans la chitine et le chitosane, la RMN solide [68] ou sur des échantillons en solution : dosage par la spectroscopie UV-visible [69], titrage potentiométrique [70], l'HPLC (Haute Performance Liquide Chromatographie) [71] et RMN liquide.

La chitine est soluble dans très peu de solvants. Sa masse molaire initiale est de l'ordre de 800 000 à 106g.mol⁻¹ et elle est généralement fortement acétylée. Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de 200 000 g.mol⁻¹ et un DA allant de 2 à 25%. Pour le chitosane, la masse molaire et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne sont dépendantes de la méthode de désacétylation utilisée. De plus, un enchaînement successif de plusieurs motifs N-acétylés confère au polymère un caractère plus hydrophobe, et

donc des propriétés autoassociatives (propriétés épaississantes et gélifiantes) et modifie sa solubilité.

En raison de sa solubilisation en solution acide, le chitosane se comporte comme un polyélectrolyte cationique de forte densité de charge. Ses propriétés dépendent du pH du milieu. Le chitosane est solubilisé et il devient cationique quand le pH est inférieur au pKa intrinsèque de la fonction amine du chitosane soit 6,3 [72]. A un pH supérieur ($>6,4$), les groupements ne sont plus ionisés et le chitosane se précipite. Autour de pH 6, le nombre de fonctions amine libres devient suffisamment élevé pour induire une association des chaînes et la précipitation du polymère. La viscosité du chitosane en solution est influencée par différents facteurs, comme le DA, la masse molaire, la concentration, la force ionique, le pH et la température.

9.1.2. Propriétés chimiques

9.1.2.1. Caractère acido-basique

Le chitosane est soluble dans les acides dilués grâce à la protonation de ses groupements fonctionnels amines. En fait, la solubilité du chitosane dans différentes solutions dépend de sa forme acido-basique. A titre indicatif, les solubilités caractéristiques du chitosane se présentent : sous forme d'amine libre ($R-NH_2$), soluble dans les solutions acides, insoluble à $pH > 6,5$, solubilité limitée dans H_3PO_4 , insoluble dans H_2SO_4 , insoluble dans les solvants organiques, sous forme d'amine cationique ($R-NH_3^+$), soluble à $pH < 6,5$ avec une consistance visqueuse, les solutions forment des gels avec des polyanions, soluble dans des mélanges d'eau- alcool. La constante d'acidité pKa de la forme amine cationique $R-NH_3^+$ dépend du degré de désacétylation et du degré de neutralisation du groupe NH_3^+ correspondant [73].

9.1.2.2. Formation de complexe (agent de chelation)

Le chitosane a une propriété complexant il est complexé avec les ions métalliques. En fait, le chitosane est connu pour posséder de bonnes propriétés chélatantes [74], les groupements amines $-NH_2$ retrouvés sur les chaînes saccharidiques montrent de fortes interactions avec les ions métalliques. La présence de groupements amine libre et de groupements hydroxyle, porteur de doublets libres d'électrons.

9.1.3. Propriétés biologiques

Le chitosane est biodégradable et biocompatible. Il ne représente aucun compartiment antigénique, mais possède un caractère antithrombogénique et hémostatique. Il montre des propriétés cicatrisantes remarquables. En plus de ces propriétés inhibitrices sur la croissance de nombreux parasites et infections, il présente des propriétés immunologiques anti tumorales, antibactériennes et antifongiques [75].

9.2. Domaines d'application

Plusieurs études démontrent que le chitosane est un agent coagulant et flocculant efficace dans le traitement des eaux usées industrielles (production de volailles, d'œufs, de fromage, de viande, de gâteau aux fruits de mer, etc.) [76]. Des réductions de 70 à 98% de la teneur en MES et de 55 à 80% de la demande chimique en oxygène ont été observées pour ces eaux usées [76]. Le chitosane peut être utilisé seul ou en combinaison avec d'autres coagulants, tels les sels métalliques d'aluminium ou de fer. Le procédé de coagulation-floculation par ajout de chitosane est actuellement utilisé dans la moitié des cas de traitement d'eaux usées au Japon, et selon une proportion variable dans certains autres pays Asiatiques [77]. Cependant, en Amérique du Nord, son utilisation est quasi inexistante.

Le grand intérêt à utiliser ce composé d'origine biologique comme agent flocculant provient également du fait qu'il est biodégradable et pratiquement non-toxique. Cette non toxicité a permis d'étendre ces usages à l'industrie chimique, biomédicale, pharmaceutique et agroalimentaire [78].

En tant que bio stimulateur, il favorise la germination et la croissance des plantes, en plus d'augmenter leur rendement. Des travaux de recherche montrent plusieurs autres domaines d'application en agroalimentaire, notamment dans l'enrobage des semences, comme agent fertilisant, comme pellicule protectrice pour les fruits et légumes, comme pellicule antigél et enfin comme stimulateur de la floraison et de la fructification [79]. D'un point de vue environnemental, l'utilisation de ce biopolymère est fort acceptable puisqu'il contribuerait à

réduire l'utilisation de pesticides et de fertilisants chimiques, deux types de substances responsables d'importantes répercussions sur les milieux naturels et sur la santé humaine.

Le chitosane possède également des propriétés lui permettant de se lier à certains métaux: Pd > Au > Pt > Cu > Ni > Zn > Mn > Pb > Co > Cr > Cd > Ag, avec une affinité plus ou moins grande et variable selon le pH, la force ionique et la présence d'autres métaux qui entrent en compétition. Plusieurs technologies exploitent ainsi ces propriétés afin de décontaminer les eaux usées, notamment les membranes en gel, l'ultrafiltration avec complexe métal-chitosane, l'osmose inverse, la nanofiltration et la pervaporation [80].

10. Définition de la simulation et de la modélisation

La simulation est l'un des outils d'aide à la décision les plus efficaces à la disposition des concepteurs et des gestionnaires des systèmes complexes. Elle consiste à construire un modèle d'un système réel et à conduire des expériences sur ce modèle afin de comprendre le comportement de ce système et d'en améliorer les performances.

10.1. Objectifs des modèles mathématiques

- Conception d'un nouveau système d'administration basé sur l'expression générale de libération des médicaments.
- Prédiction du taux de libération et du comportement de diffusion du médicament à travers les polymères afin d'éviter des expériences excessives.
- Optimisation de la cinétique de libération.
- Le mécanisme physique de transport du médicament est déterminé par la comparaison des données de libération avec les modèles mathématiques.
- La prédiction de l'effet des paramètres de conception, à savoir la forme, la taille et la composition sur le taux global de libération de médicaments.
- Prévoir avec précision le profil de libération des médicaments et améliorer l'efficacité thérapeutique

10.2. Les modèles mathématiques

Il existe plusieurs modèles :

10.2.1. Modèle d'ordre zéro

L'ordre zéro décrit le système où le taux de libération du médicament est indépendant de sa concentration. L'équation est :

$$C = C_0 - K_0t$$

Où,

- C = Quantité de médicament libérée ou dissoute (en supposant que la libération se produit rapidement après la dissolution du médicament).
- C_0 = Quantité initiale de médicament en solution (elle est généralement nulle)
- K_0 = Constante de vitesse d'ordre zéro
- t = temps

Pour l'étude de la cinétique de libération, le graphique a tracé se fait avec la relation entre la quantité cumulative de médicaments libérés et le temps.

10.2.2. Modèle de premier ordre

Ce modèle est utilisé pour décrire l'absorption et l'élimination de certains médicaments, bien qu'il soit difficile de comprendre le mécanisme sur la base théorique. La libération du médicament qui suit la cinétique du premier ordre peut être exprimée par l'équation :

$$\text{Log } C = \log C_0 - Kt / 2.303$$

Où.

- C_0 = Concentration initiale du médicament
- K = Constante de premier ordre
- t = temps

Les données obtenues sont tracées sous forme de logarithme du pourcentage cumulé de médicaments en fonction du temps restant, ce qui donne une ligne droite avec une pente = $K/2,303$.

10.2.3. Le Modèle de Higuchi

Higuchi a publié probablement la plus célèbre et la plus souvent utilisée équation mathématique pour décrire la libération des médicaments des systèmes matriciels. Ce modèle est souvent applicable aux différents systèmes géométriques et poreux.

Dans l'environnement de libération, où les conditions parfaites du puits sont maintenues. L'équation de base du modèle d'Higuchi est :

$$C = [D (qt - C_s) Cst]^{1/2}.$$

Chapitre I : Généralités sur l'encapsulation

Où :

- C = quantité totale de médicaments libérés par unité de surface de la matrice [mg/cm^2]
- D = coefficient de diffusion du médicament dans la matrice [cm^2/hr]
- q_t = quantité totale de médicament dans une unité de volume de matrice [mg/cm^3].
- C_s = solubilité dimensionnelle du médicament dans la matrice polymère [mg/cm^3]
- t = temps [hr]

Les données obtenues ont été tracées en pourcentage cumulé de libération de médicaments par rapport à la racine carrée de temps.

10.2.4. Modèle de Korsmeyer Peppas

Une relation simple qui décrit la libération d'un médicament à partir d'un système polymérique. Pour illustrer le mécanisme de la libération de médicaments, les premiers 60% des données de libération de médicaments ont été ajustés dans le modèle de Korsmeyer-Peppas .

$$C_t / C_\infty = kt^n$$

Où,

- C_t / C_∞ = fraction de la libération de drogue au moment "t".
- K = la constante de vitesse.

Chapitre II :
Composes hydrophobes naturels et synthétiques

1. Les huiles essentielles

1.1. Introduction sue les huiles essentielles

Huile essentielle est défini selon la pharmacopée européenne comme un «produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche soit par un procédé mécanique appropriée sans chauffage» [81].

1.2. Définition des huiles essentielles

Huile essentielle est un produit résultant de la distillation à la vapeur d'eau (hydrodistillation) de l'essence végétale, sécrétion naturelle synthétisée par les plantes dites aromatiques, excrétée dans des organes spécifiques (poches à essence), et responsable de l'odeur de la partie de plante concernée [82].

Les huiles essentielles appelées aussi essences, sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles [83].

Il s'agit de mélanges de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés (poches, canaux, poils). Extraites de la plantes grâce à des procédés physiques, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante [84].

Cette définition a été reprise à peu de choses près par AFNOR et ISO : « l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [85, 86].

1.3. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des HEs est complexe, puisqu'elle est constituée d'un mélange de composés qui appartiennent aux différentes classes de la chimie organique, telle que les phénols, les hydrocarbures, les alcools, les aldéhydes, les cétones, etc..... En outre, la composition d'une même espèce peut varier en fonction de différents facteurs, selon la localisation géographique, les conditions climatiques, la période de récolte, la partie de la plante utilisée. Les propriétés peuvent varier également, d'où la nécessité de travailler dans les mêmes conditions, pour avoir la reproductibilité des résultats à l'étape d'analyse et d'identification des molécules que contient une huile [87].

L'étude de l'identification des produits constituant ces HEs est généralement effectuée par plusieurs techniques à savoir la chromatographie en phase gazeuse et couplée à la spectrométrie de masse [88] ainsi que la résonance magnétique nucléaire [89].

1.4. Propriétés physicochimiques

D'une façon générale, les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles sont variables selon beaucoup de facteurs (lieu de provenance, climat et ses diverses modifications, période de grandes pluies ou de sécheresses prolongées, époque et moyens de récolte, procédés d'extraction, etc.). Ceci explique la marge, souvent assez grande, laissée dans les constantes et pourcentage des composantes [90].

Ce sont généralement des liquides à la température ordinaire.

- Elles sont volatiles contrairement aux huiles fixes.
- Elles sont généralement incolores.
- Leur densité est inférieure à 1, sauf pour trois huiles : la cannelle, le girofle et le sassafras.
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et un pouvoir rotatoire.
- Elles sont peu solubles dans l'eau, sont solubles dans les alcools, les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques [91].

1.5. Conservation des huiles essentielles

L'instabilité moléculaire des HE peut être réduite en utilisant des bouteilles en aluminium, en acier inoxydable ou en verre ambré, entièrement remplis et fermés de façon étanche, et stockées à basse température, ou conservés sous atmosphère d'azote [92].

2. L'huile essentielle du romarin

Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au Sud, jusqu'aux confins sahariens [93].

Le romarin vient du latin *rosmarinus officinalis* « Rosée de la mer », c'est un arbrisseau aromatique, peut atteindre jusqu'à 1,5 mètre de hauteur, il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus. La floraison commence dès le mois de février (ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'au avril – mai [94].



Figure 7 : Plante de romarin (*Rosmarinus officinalis*) [94].

2.1. Etymologie

Le Romarin (*Rosmarinus officinalis*), le nom latin *Rosmarinus* est habituellement interprété comme "ros" dérivé de la rosée et "marinus" de la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer [95]. La définition d'étymologie traditionnelle, mais probablement le nom d'original est dérivé du grec "rhops" arbuste et "myron" baume [95].

2.2. Description de romarin

Le romarin est un arbuste de la famille des Lamiacée [96], très odorant et qui pousse à l'état sauvage ou cultivé. Il est xérophyte, toujours vert, fortement rameux [97] et très feuillu, sa taille peut varier de 60 cm à 2 m [98]. Il a une odeur aromatique forte, agréable et faiblement camphrée, il évoque le pin [99].

a- La racine

La racine du romarin est pivotante, ligneuse et fibreuse [99].

b- La tige

La tige du romarin est ligneuse, généralement érigée, pouvant atteindre jusqu'à 2 m de haut. [99].

c - La feuille

Les feuilles sont opposées et sessiles ; elles sont persistantes, coriaces, entières et de forme linéaire, étroitement lancéolées, faisant 2 à 3 cm de long sur 1 à 2 mm de large ; elles sont gaufrées et leurs bords sont reliés en dessous (feuilles enroulées sur les bords, dites « à marge révolutée » ; leur face supérieure est chagrinée et elles sont de couleur vert foncé, et leur face inférieure est de couleur blanchâtre [98]. Elles sont vert et chagrinées au-dessus, blanchâtres et cotonneuses en dessous, roulées en dessous par les bords [100], Elles mesurent 2 à 3,5 cm de long sur 1 à 3 mm de large [101].

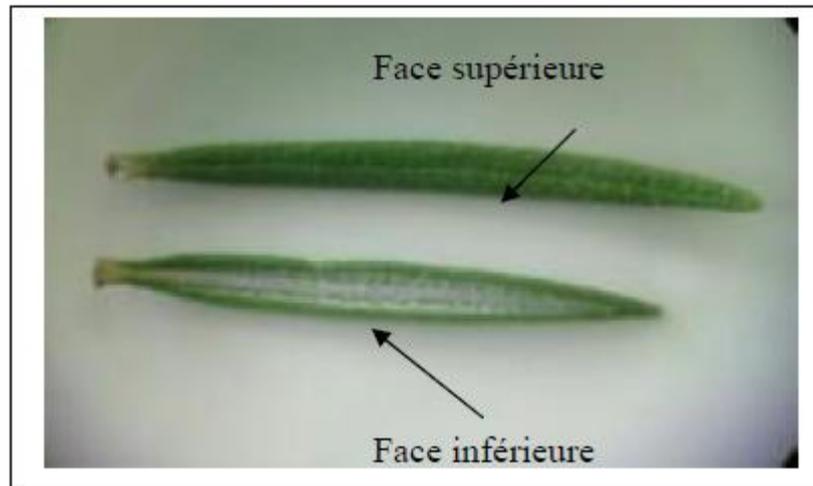


Figure 8 : Aspect morphologique de la feuille de romarin [101].

d- la fleur

Les fleurs sont regroupées en petites grappes axillaires terminales, disposées à l'aisselle des feuilles. Ils sont de couleur bleu mauve, sous forme de grappes symétriques, avec un petit calice en de cloche à trois dents ; la corolle est longue et carénée [102].

e- Le fruit

Le fruit est un tétramère lisse et globuleux, brun foncé et de 2,3 mm de long [97, 103].

2.3. Composition et utilisation du romarin

1. Parties utilisées

Les parties utilisées sont les sommités fleuries et les feuilles, ces dernières sont récoltées à la floraison puis séchées. Les feuilles persistantes peuvent être récoltées à tout moment de l'année, une fois mondées, elles sont simplement mises à sécher. Le romarin est utilisé en infusion ou sous forme d'huile essentielle [104].

2. Principaux constituants du romarin [105, 106]

Les principaux constituants du romarin sont présentés dans le tableau 4 :

Tableau 4 : Compositions chimiques de l'extrait du romarin [105, 106].

HE : 1 à 2.5 %	Les sommités fleuries de romarin fournissent 10 à 25ml/kg d'une HE dont les constituants principaux sont : le camphre (15 à 25%), le cinéole (15 à 25%) et le boméol libre et estérifié
Di terpènes phénoliques tricycliques	Acide camosolique : 0.35 %, rosmadial, camosol (picrosalvine), l'épirosmanol et le rosmanol sont en fait des artéfacts d'oxydation lors de l'extraction de la drogue.
Tanins des labiatiées	Acides phénoliques : environ 3% de l'acide caféique avec l'acide rosmarinique notamment.
Flavones méthylées	Genkwanine, lutéoline, diosmétine, et leurs hétérosides
Tri terpènes et stéroïdes	Environ 10% d'acide oléanolique et 5% de dérivés de l'acide ursolique accompagnées d'alpha et bêta-amyrines.
Cuticule cireuse des jeunes feuilles	N-alcanes (97%), isoalkanes et alkènes.
Constituants divers	Polysaccharides acides (environ 6%) ; traces de salicylates.

3. Composition chimique de l'HE du Rosmarinus Officinalis

Les constituants majeurs de l'HE du Rosmarinus Officinalis sont 1,8-cinéole (15-30%), camphre (15-25%), α -pinène (jusque 25%), autres mono terpènes : bornéol libre (10-15%) et estérifié (5-10%), limonène, camphène (5-10%), α -terpinéol (12-24%), β -pinène, β -caryophyllène, myrcène, etc. La composition chimique de l'HE peut varier selon la phase de développement et l'origine de la plante [107].

Les feuilles du Rosmarinus Officinalis contiennent une essence spéciale 1,50% à odeur aromatique, saveur chaude et camphrée, composée d'acétate [109] et de valérianate de bornyle [108]. Le composé majoritaire de l'HE du Romarin varie d'une région à l'autre (voir le tableau 5) On trouve le 1-8 cinéole, le camphre, le pinène, le linalool et le limonène

Tableau 5 : Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'HE du Romarin [112, 113].

Composé majoritaire	%massique	Origine
α -pinène	23,1	ALGERIE
Camphre	14,5	
β -pinène	12,2	
α -pinène	14,9	IRAN
Linalool	14,9	
Pipéritone	23,7	
α -pinène	10,2	TURQUIE
1,8-cinéole	61,4	
α -pinène	11,4	MAROC
1,8-cinéole	50,2	
Camphre	9,1	
α -pinène	13,5	SERBIE
Limonène	21,7	
Camphre	21,6	

2.4. Caractéristiques physico-chimiques

Au niveau des caractéristiques physico-chimiques, nous distinguons aussi deux grands types de romarin. Toutefois ces propriétés sont assez proches, excepté au niveau de la miscibilité à l'éthanol à 80 %.

Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques du Romarin [112].

Caractérisation physico-chimiques	Types Maroc et Tunisie	Type Espagne
Aspect	Liquide, mobile, limpide, incolore à jaune pâle, odeur caractéristique, agreste, cinéolée, plus ou moins camphrée	
Densité	min = 0,907 max = 0,920	min = 0,895 max = 0,905
Indice de réfraction à 20° C	min = 1,464 0 max = 1,470 0	min = 1,467 0 max = 1,473 0
Pouvoir rotatoire à 20° C	entre -2° et +5°	entre -5° et +5°
Miscibilité à l'éthanol à 80% (V/V) à 20°C	Pas plus de 2 volumes d'éthanol à 80° avec 1 volume d'HE. Pour obtenir une solution limpide.	20 volume, avec parfois une opalescence
Indice d'acide	maximum = 1	
Indice d'estre	minimum = 2 maximum = 15	
Indice d'ester après Acétylation	min = 30 max = 72	min = 30 max = 55

2.5. Domain d'application de romarin

2.5.1. Industrie agro-alimentaire

Les extraits végétaux de Romarin présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques [113, 114], ces propriétés sont dues aux acides polyphénolique (rosmarinique, caféique) [114, 115].

2.5.2 Alimentation

L'épice et l'huile sont largement utilisées en alimentation, l'épice est utilisé dans les boissons alcoolisées, les aliments cuits, viande et produits de viande, condiment et assaisonnement, les aliments industriels, casse-croute, sauces et autres, avec le niveau maximum utilise est d'environ 0,41% (4,098 ppm) dans les aliments cuits. L'huile est utilisée dans les boissons alcoolisées et non, les desserts glaces, confiseries, aliments cuits, gélamines et pouding, viande et produits de viande, condiment et assaisonnement, entre autres, avec le niveau maximum utilise est d'environ 0,003% (26,2 ppm) [115].

2.5.3 Alimentation diététique (Tisanes herbales)

Des infusions, des poudres, extrait sec ou autres préparations galéniques pour usage interne et externe, principalement contre les douleurs d'estomac [113, 116].

2.5.4 Industrie cosmétique et parfumerie

Au 19^{ème} siècle l'essence de Romarin servait à la préparation de la très célèbre eau de Cologne de la reine de Hongrie. Aujourd'hui elle rentre dans la composition, de savonnerie, détergents, crèmes et la plupart des eaux de Cologne ; le taux d'utilisation maximum est rapporté à 1% dans la dernière catégorie [113].

2.5.5 La thérapie

- ❖ Le romarin était déjà cité en médecine arabe classique (Leclerc 1877) pour ses propriétés hépatoprotectrice, diurétique et emménagogue qui sont dues à la présence des flavonoïdes à savoir des glucosides de la lutoline, de l'apigénone, et peut être de méthyle-4-genkwanine en synergie avec les acides phénoliques [115, 116].
- ❖ Les feuilles de Romarin sont utilisées dans la phytothérapie européenne pour brûlures d'estomac et thérapie d'appui, des maladies rhumatismales ; en usage externe pour les problèmes de circulation ; en bains ; l'herbe est utilisée comme stimulant externe pour l'accroissement sanguin fourni à la peau [113], c'est aussi un bon excitant de cuir chevelu [115].

- ❖ On sait de longue temps que le Romarin est cholagogue et cholérétique, ces effets semblent en relation avec la présence de nombreux acides phénoliques signalés dans beaucoup de labiées (Lit- Vinenko, voir bugle, marrube), et qui sont ici les acides : caféique, chlorogénique, néochlorogénique, rosmarinique, ce dernier, de saveur astringente, consistant en un depside caféique et dihydrocaféique [113, 116, 117].
- ❖ Les Di terpènes phénoliques présentant dans le romarin tel que l'acide carnosique et le carnosol ont des effets d'inhibitions contre des virus de HIV-1 [118] et certains cancers et d'autres entrants dans cette fraction ont un effet carcinologique [113, 117, 119].

2.6. Toxicité

- Les huiles essentielles peuvent aussi être toxiques à des doses élevées. Ainsi, celle du romarin est cholérétique, diurétique et provoque une action spasmodique due principalement au bornéol [120].
- Aucune toxicité aiguë ou chronique n'a été signalée pour l'emploi des huiles essentielles du romarin (jusqu'à 20 gouttes par jour) [99].
- l'huile essentielle du romarin contient des cétones (risque neurotoxique et abortif). Elle ne doit être pas utilisée en cas de grossesse, pour les sujets épileptiques, les femmes allaitantes et les bébés [121].

3. La vitamine E

La vitamine E est un terme générique qui fait référence à une famille de huit composés naturels, et est divisée en deux sous-groupes appelés tocophérols et tocotriénols [122].

Il a été démontré que la vitamine E est l'antioxydant principal du piégeage des radicaux libres. L' α -tocophérol est le principal composant de la vitamine E, en raison de ses propriétés lipophiles et anti-oxydantes, 2R, 4R, 8R- α -tocophérol naturels jouent un rôle essentiel dans la protection des membranes biologiques [123].

3.1. Historique

En 1922, l'embryologiste Herbert Evans et son assistante Katherine Bishop, de l'université de Californie à Berkeley, constatèrent que chez des rats soumis à un régime essentiellement lacté, les femelles peuvent former un fœtus, sauf que ce dernier ne se développe pas. Cependant, les grossesses arrivent à terme quand le régime est supplémenté avec des feuilles de laitue ou du germe de blé [124, 125].

Les deux scientifiques soupçonnèrent l'existence d'un composé lipophile, qu'ils nommèrent facteur X, indispensable au développement du fœtus. En 1924, indépendamment des recherches de H. Evans et K. Bishop, Bennett Sure, de l'Université de l'Arkansas, montrèrent qu'un composé retiré d'un régime alimentaire induit la stérilité chez les rats mâles. Bennett surnomma ce composé vitamine E. Elle reçoit aussi le nom de tocophérol, du grec tokos qui signifie progéniture et pherein: porter. Il désigne l'alcool [126, 127]. Les premières préparations de vitamine E furent réalisées à partir de l'huile de germe de blé par EVANS et Oliver Emerson en 1936 [128] et Erhard Fernholz en détermine la structure en 1938. La même année, le Prix Nobel de chimie Paul Karrer réalise la synthèse de l'alpha- tocophérol en mélange racémique [127, 129].

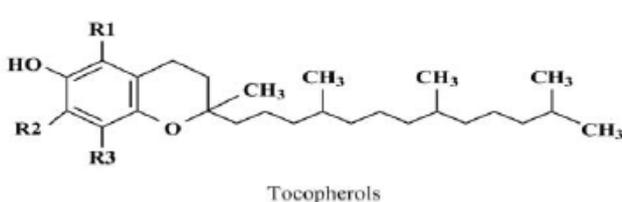
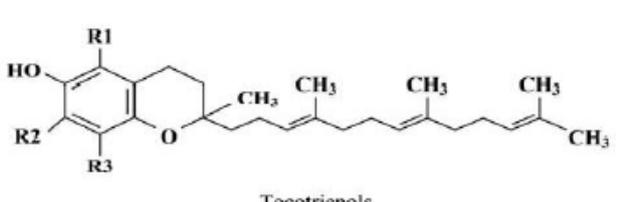
Les propriétés antioxydantes de la vitamine E sont découvertes plus tard et sont à l'origine d'un grand nombre de travaux. Elle est reconnue comme constituant essentiel dans la nutrition de l'homme en 1968 [129, 130].

3.2. Qu'est-ce que la vitamine E ?

La vitamine E est une substance liposoluble qui comprend 8 composés naturels :

- Les tocotriénols (α , β , γ et δ) ;
- Les tocophérols (α , β , γ et δ). Les tocophérols sont composés d'un cycle chromanol mono-, di-, ou tri-méthyle auquel une chaîne carbonée latérale (chaîne phytyle) saturée de 16 carbones est attachée.
- Les tocophérols diffèrent entre eux par le nombre et l'emplacement des groupes méthyles autour du cycle benzène du noyau chromanol.
- La structure chimique des tocotriénols se compose aussi d'un cycle chromanol mono-, di- ou tri-méthyle avec une chaîne carbonée latérale qui contient 3 doubles liaisons en position 3, 7 et 11 [131].

Tableau 7: La variation de la structure chimique de l' α -, β -, γ - et δ -vitamine [131].

Composant	R1	R2	R3	Structure chimique
α -tocophérol	CH ₃	CH ₃	CH ₃	 <p style="text-align: center;">Tocopherols</p>
β -tocophérol	CH ₃	H ₃	CH ₃	
γ -tocophérol	H ₃	CH ₃	CH ₃	
δ -tocophérol	H ₃	H ₃	CH ₃	
α -tocotrienol	CH ₃	CH ₃	CH ₃	 <p style="text-align: center;">Tocotrienols</p>
β -tocotrienol	CH ₃	H ₃	CH ₃	
γ -tocotrienol	H ₃	CH ₃	CH ₃	
δ -tocotrienol	H ₃	H ₃	CH ₃	

3.3. Propriétés physico-chimiques de la vitamine E

- Les tocophérols sont des liquides visqueux, huileux et de couleur jaune pâle à la température ambiante [132].
- Ils sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les graisses, huiles et les solvants organiques (éther, acétone, chloroforme, alcool éthylique et méthylique) [132].
- La vitamine E est oxydable surtout en milieu basique, à la lumière et à la température élevée.
- La vitamine E est stable en l'absence d'oxygène et en milieu acide [133].
- Elle est sensible aux rayons UV [133].
- Ils ont une stabilité élevée en milieu alcalin

Le tableau suivant récapitule les paramètres physico-chimiques de la vitamine E.

Tableau 8 : Propriétés physico-chimique de la vitamine E [134].

Formule brute	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
Masse molaire	430 ,69 g/mol
Température de fusion	3°C
Température d'ébullition	253°C
Solubilité	Soluble dans l'acétone, éthanol, éther et les huiles végétales. Insoluble dans l'eau.
Masse volumique	0,947-0,951 g/cm
Point d'éclair	240°C

3.4. Caractéristiques de la vitamine E

La vitamine E ou tocophérol est une vitamine lipophile, elle regroupe deux grandes familles des tocophérols qui comprend 4 substances: l' α -tocophérol, qui est la vitamine E proprement dite, le β tocophérol, le γ -tocophérol et le δ -tocophérol [135-137]. Ces composés ont, par ailleurs, beaucoup de similitudes structurelles avec 4 autres molécules appartenant à la famille des tocotriénols : l' α -tocotriénol, le β -tocotriénol, le γ - tocotriénol et le δ -tocotriénol. [138, 139].

La structure chimique des tocophérols est constituée d'un noyau hydroxychromane qui réduira les radicaux libres par la donation d'un atome d'hydrogène et d'une chaîne phytyle entièrement saturée, cette dernière est hydrophobe de sorte que les molécules puissent pénétrer dans les membranes biologiques. Les différentes formes de tocophérols (α , β , γ et δ) se distinguent entre elles par le nombre et la position des groupements méthyles fixés sur le noyau chromanol (tableau 9) [140].

Les tocotriénols sont différents des tocophérols par leurs chaînes carbonées qui contiennent 3 doubles liaisons en position 3', 7' et 11' [141].

Tableau 9 : Dénomination de différents tocophérols et tocotrienols [134-135]

R ₁	R ₂	R ₃	Nom	
CH ₃	CH ₃	CH ₃	α -tocotriénol	α -tocotriénol
CH ₃	H	CH ₃	β -tocotriénol	β -tocotriénol
H	CH ₃	CH ₃	γ -tocotriénol	γ -tocotriénol
H	H	CH ₃	δ -tocotriénol	δ -tocotriénol

En revanche, les tocophérols contiennent également une queue de triméthyltridécyloxy et possèdent trois centres chiraux en positions 2, 4, 8 qui se produisent naturellement dans la configuration R, R, R. [143].

Chaque tocophérol existe sous huit (08) stéréo-isomères différents, le seul stéréo-isomère de l' α -tocophérol retrouvé dans la nature est le RRR- α -tocophérol [142].

3.5. Source de la vitamine E

3.5.1. Origine naturelle

On trouve la vitamine E dans les aliments d'origine animale et végétale :

- Origine animale : elle est présente dans les viandes, les œufs, le foie, le lait et ces dérivés.
- Origine végétale : elle est présente en abondance dans les huiles d'origine végétale ainsi que dans les fruits secs tels que les noisettes, arachides et amandes [145-147].

3.5.2. Origine synthétique

Les vitamines de synthèse sont des vitamines chimiques produites par des laboratoires. La vitamine E se présente généralement soit sous la forme de RRR- α -tocophérol, un stéréo-isomère naturel, soit sous une forme synthétique, appelée all-racémique- α -tocophérol ou allrac- α -tocophérol, qui est un mélange en quantités à peu près égales des huit (08) stéréo-isomères de l' α -tocophérol [146].

3.6. Rôles de la vitamine E

La vitamine E est naturellement un antioxydant. Grâce à cette fonction, elle assure la protection des structures membranaires des cellules et prévient leur durcissement. Son rôle physiologique d'antioxydant permet de lutter contre les radicaux libres (les dérivés réactifs de l'oxygène), qui sont la cause d'agression des cellules appelé «stress oxydatif» [148].

La vitamine E est caractérisée par d'autres rôles :

- ❖ Elle protège contre les maladies cardio-vasculaires, en diminuant le taux du mauvais cholestérol (LDL).
- ❖ Elle renforce les défenses immunitaires, par son action d'anti-infectieuse.
- ❖ Elle participe à ralentir l'oxydation des acides gras insaturés.
- ❖ Elle prévient en retardant l'apparition de certains cancers.
- ❖ Elle est indispensable dans le développement des cellules sexuelles, et nécessaire durant la grossesse en développant convenablement les tissus générateur du sang chez le fœtus.
- ❖ La fertilité et la fécondité sont stimulées par le tocophérol [149].

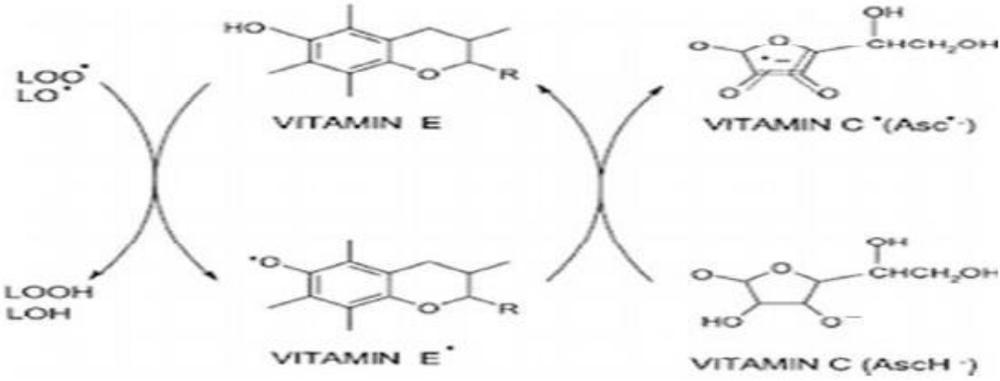
3.7. L'effet de la vitamine E sur la cellule spermatique

La vitamine E ou α -tocophérol agit sur la membrane du spermatozoïde par neutralisation de H_2O_2 et prévient dans la dégradation des radicaux libres. La qualité de l'ADN des spermatozoïdes peut subir une altération provoquée par la carence en vitamine E.

De nombreuses études ont été effectuées chez l'animal et chez l'homme infertile, montrent que la supplémentation en vitamine E a un effet bénéfique sur la qualité des spermatozoïdes : diminution de la quantité des marqueurs de la peroxydation des lipides TBARS et amélioration de la motilité des spermatozoïdes [149].

3.8. Mécanisme antioxydant

In vivo, la vitamine E prévient dans la protection des structures sensibles à l'oxydation : les lipides, les bases nucléotidiques des brins d'ADN et des protéines. Dans ce mécanisme, la vitamine E (α -tocophérol) est oxydée par les molécules préalablement oxydées (radicaux libres), sous la forme régénérable (chrome-6-oxyle α -tocophérol*). Pour sa régénération, ce dernier entre dans plusieurs réactions de l'organisme, qui nécessite la présence d'une autre vitamine (la vitamine C) [150].



Figures 9 : Mécanisme antioxydant de la vitamine E [150].

Chapitre III :
Méthodes et matériels

1. Matériels, appareillage et produits chimiques utilisés

1.1. Produit chimique

- Huile essentielle de romarin ;
- Alginates de sodium ;
- Chitosane ;
- Chlorure de calcium ;
- Acide acétique ;
- Phospholipides ;
- Acide acétique ;
- Cholestérol ;
- Eau distillée ;
- Vitamine E ;
- Méthanol grade Hplc ;
- Acétonitrile ;
- Tris ;
- Polyéthylène glycol ;
- Éthanol ;
- Cyclo dextrines.

1.2. Matériel

- Becher ;
- Entonnoir ;
- Cristallisateur ;
- Fiole ;
- Seringues ;
- Spatule ;
- Barreaux magnétique ;
- Papier filtre ;
- Pipette ;
- Micro pipette ;
- Filtre seringue ;
- Viales ;
- Eprouvette graduée.

1.3. Appareillage

- Balance analytique ;
- Plaque multiposte agitatrice ;
- Plaque chauffante agitatrice ;
- Appareil Hplc ;
- Rota vapeur ;
- Étuve ;
- Centrifugeuse ;
- Sonicateur ;
- Thermomètre ;
- Vortex.

2. Protocole de préparation des systèmes d'encapsulation

2.1. Systèmes d'encapsulation de la vitamine E

➤ **Complexe PEG/vit E**

- Peser 0.2g de vit E et 1.8g de PEG6000 ;
- Dissoudre dans 50 ml d'éthanol et laisser sous agitation pendant 24h ;
- Passer dans le Rota vapeur (à 50°C).

➤ **Complexe HP- β -CD/vit E**

- Peser 0.2 g de vit E et 0.62g de cyclodextrine ;
- Dissoudre dans 50 ml d'éthanol et laisser sous agitation 24h ;
- Passer dans un Rota vapeur (à 50°C).

➤ **Préparation des liposomes/vit E**

- Peser une masse équivalente à 0.162g de phospholipides, 0.0255g de cholestérol et 0.08g de vit E ;
- Dissoudre les masses dans 15 ml d'éthanol et laisser sous agitation pendant 30 min (à 47°C) ;
- Injecter la phase organique résultante dans 40 ml de solution tampon ;
- Passer dans le Rota vapeur (à 50°C).

- **Préparation des billes Alginates/chitosane chargés de la vitamine E**
 - **Préparation de la solution chitosane**
 - Préparer une solution de 100 ml d'eau distillé, 1 ml d'acide acétique et 4g de CaCl_2 ;
 - Agiter pendant 10 min ;
 - Prélever 25 ml de cette solution ;
 - Ajouter 0.265g de chitosane ;
 - Agiter pendant 1h à 300 tr/min.
 - **Préparation de la solution Alginate/vit E**
 - Dissoudre 0.5g d'Alginate dans 25 ml d'eau distillé ;
 - Ajouter 0.05g de vitamine E ;
 - Agiter pendant 30 min à 500 tr/min.
- **Injection**
 - À l'aide d'une seringue injecter la solution Alginates/HE dans la solution chitosane ;
 - Laisser durcir 30 min puis filtrer ;
 - Réaliser des cycles de rinçage.

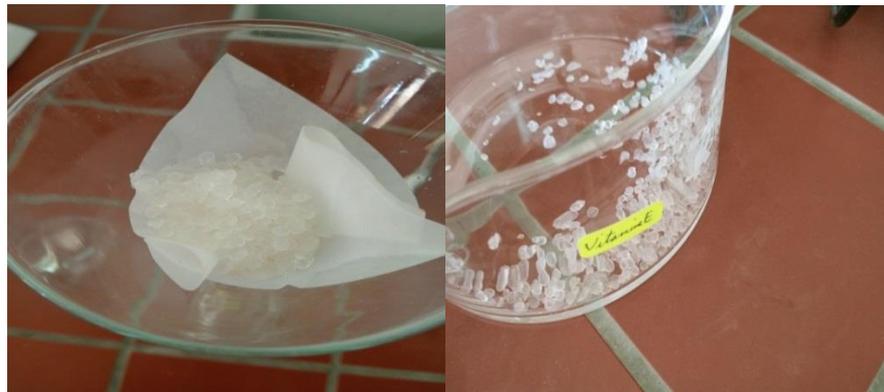


Figure 10 : Des billes Alginates/chitosane chargés de la vitamine E

2.2. Systèmes d'encapsulation de l'huile essentielle de romarin

- **Complexe PEG/HE**
 - Peser 0.05 g d'huile essentielle de romarin et 0.45 g de PEG 6000 ;
 - Dissoudre dans 50 ml d'éthanol et laisser sous agitation pendant 24h ;
 - Passer dans le Rota vapeur (à 30°C).

➤ **Complexe HP- β -CD / HE**

- Peser 0.05g d'huile et 0.05 g de cyclodextrine ;
- Dissoudre dans 50 ml d'éthanol et laisser sous agitation pendant 24h ;
- Passer dans un Rota vapeur (à 30°C).



Figure 11 : Appareil Rota vapeur

➤ **Préparation des liposomes/HE**

- Peser une masse équivalente à 0.162g de phospholipide et 0.0255g de cholestérol
- Dissoudre les masses dans 15ml d'éthanol et laisser sous agitation pendant 30 min (à 47°C) ;
- Ajouter 32 μ l d'huile essentielle de romarin :
- Injecter la phase organique résultante dans 40 ml de la solution tampon ;
- Passer dans le Rota vapeur (à 30°C).



Figure 12 : Liposomes (HE ; Vit E)

Préparation de la solution tampon à un pH=7.4

Préparer deux solutions :

- Solution1 : solubiliser 1g de NaOH dans 250 ml d'eau distillé ;
- Solution2 : solubiliser 6.8043g de KH_2PO_4 dans 250ml d'eau distillé ;

Prélever 39.34 ml de la solution 1 et 25 ml de la solution 2 puis ajusté au 100 ml avec de l'eau distillé.

➤ Préparation des billes Alginates /chitosane chargés de huile essentielle de romarin

• Préparation de la solution chitosane

- Préparer une solution de 100 ml d'eau distillé, 1 ml d'acide acétique et 4g de CaCl_2 ;
- Agiter pendant 10 min ;
- Prélever 25 ml de cette solution ;
- Ajouter 0.265g de chitosane ;
- Agiter pendant 1h à 300 tr/min.

• Préparation de la solution Alginate/huile essentielle de romarin

- Dissoudre 0.5g d'Alginate dans 25 ml d'eau distillé ;
- Ajouter 20 μl d'huile essentielle de romarin ;
- Agiter pendant 30 min à 500 tr/min.

➤ Injection

- À l'aide d'une seringue injecter la solution Alginates/HE dans la solution chitosane ;
- Laisser durcir 30 min puis filtrer ;
- Réaliser des cycles de rinçage.



Figure 13 : Des billes Alginates chitosane chargés de l'huile essentielle de romarin

2.3. Les masses des complexes

Tableau 10 : Les masses initiale et finale des complexes

	PEG/ Vit E	PEG/HE	HP- β -CD/Vit E	HP- β -CD/HE	Alginate/Vit E	Alginate/HE
Masse théorique (g)	2	0,5	0,82	0,1	0,55	0,54
Masse expérimental(g)	1,59	0,26	0,4	0,1	0,28	0,21

3. Dosage HPLC

3.1. Vitamine E

3.1.1. La courbe d'étalonnage de la vitamine E

Préparation de sept (7) concentrations différentes de vitamine E, qu'on retrouve ci-dessous :

Tableau 11 : Préparations des solutions de la courbe d'étalonnage de la vitamine E

Solution	Concentration (mg/ml)
C1	0.04
C2	0.08
C3	0.12
C4	0.16
C5	0.20
C6	0.24
C7	0.32

- Agitation 10 min ;
- Filtration ;
- Analyse par HPLC.

Les conditions opératoires HPLC :

- **Mode** : isocratique ;
- **Phase mobile** : 68% méthanol, 28% acétonitrile, 4% eau pure ;
- **Colonne** : C18 ;
- **Longueur d'onde** : 204 nm ;
- **Volume d'injection** : 20 μ l ;
- **Temps de rétention** : 9.5 min ;

- **Débit** : 1 ml/min ;
- **Température** : 36°C.



Figure 14 : Appareil HPLC

3.1.2. Taux d'encapsulation de la vitamine E

- **PEG/vit E et HP- β -CD/vit E**
 - Peser 0,01g de chaque complexe (PEG/vit E) et (HP- β -CD/vit E) ;
 - Ajouter ensuite 5 ml de méthanol et agite légèrement ;
 - Filtrer la solution en utilisant des filtres seringue ;
 - Remplir les vials avec la solution filtrée ;
 - Dosage par HPLC.
- **Billes alginates/chitosane/vit E**
 - Peser 0.01g des billes Alginate/chitosane/vitamine E ;
 - Ajouter 5 ml de méthanol ;
 - Homogénéiser la solution en utilisant une tige sonicateur ;
 - Filtrer à l'aide des filtres seringues ;
 - Remplir les vials ;
 - Dosage par HPLC.



Figure 15 : Appareil sonicateur

- **Liposome/vit E**

- Deux eppendorf tubes avec 2 ml de la solution liposome/vit E ;
- Placer les eppendorf tubes dans la centrifugeuse ;
- Faire tourner la centrifugeuse pendant 30 min ;
- Après avoir obtenu le surnageant de la centrifugation, transfère-le dans un bécher propre ;
- Utiliser un filtre adapté pour éliminer les particules indésirables présentes dans le Surnageant ;
- Après avoir obtenu le culot de la centrifugation, ajouter 1 ml de méthanol ;
- Utiliser le vortex pour mélanger le culot et le méthanol de manière homogène ;
- Assurer que le mélange est bien agité en utilisant le vortex pendant quelques minutes ;
- Filtrer en utilisant des filtres seringues ;
- Remplir les vials ;
- Dosage par HPLC



Figure 16 : Vortex

3.1.3. Cinétique de libération

Préparation des solutions différentes pour l'étude de la cinétique de libération, qu'on retrouver ci-dessous :

Tableau 12: Préparation des solutions pour l'étude de la cinétique de libération de vitamine E

Solution	Masse/Volume
CD/Vit E	0,13 g
PEG/Vit E	0,17 g
Alginate/Vit E	0,13 g
Liposome/Vit E	10 ml
Vit E	0,02 g

- 100 ml de la solution tampon ;
- Agitation 2h ;
- Prélèvement à chaque instant (0 min, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 40min, 50 min, 60min et 120 min) ;
- Filtration ;
- Dosage par HPLC.

Préparation de la solution tampon à un pH=7.4

Préparer deux solutions :

- Solution1 : solubiliser 2g de NaOH dans 500 ml d'eau distillé ;
- Solution2 : solubiliser 6.8043g de KH_2PO_4 dans 250 ml d'eau distillé ;

Prélever 393.4 ml de la solution 1 et 250 ml de la solution 2 puis ajuster au 1000 ml avec de l'eau distillé.

3.2. Huile essentielle de romarin

3.2.1. La courbe d'étalonnage de la α -pinène

- **Préparation de la solution mère**
 - Prélever 23,83 μ l de α -pinène ;
 - Dissoudre dans 15ml de méthanol.
- **La dilution**

Préparation de cinq (5) concentrations différentes, qu'on retrouve ci-dessous :

Tableau 13 : Préparations des solutions de la courbe d'étalonnage de α -pinène

Solution	Concentration (μl/ml)
C1	1,32
C2	0,66
C3	0,32
C4	0,13
C5	1 ,58

- Filtration ;
- Analyse HPLC.

3.2.2. Taux d'encapsulation d'huile essentielle de romarin

- **PEG/HE et HP- β -CD/HE**
 - Peser 0,01g de chaque complexe (PEG/HE) et (HP- β -CD/HE) ;
 - Ajouter 5 ml de méthanol ;
 - Filtration ;
 - Dosage par HPLC.
- **Billes alginates/chitosane/HE**
 - Peser 0.01g des billes Alginate/chitosane/HE ;
 - Ajouter 5 ml de méthanol
 - Homogénéiser la solution en utilisant une tige sonicateur
 - Filtrer à l'aide des filtres seringues ;
 - Dosage par HPLC.

- **Liposome/HE**
 - Deux eppendorf avec 2 ml de la solution liposome/HE ;
 - Placer les eppendorf dans la centrifugeuse ;
 - Faire tourner la centrifugeuse pendant 30 min ;
 - Après avoir obtenu le surnageant de la centrifugation, transfère-le dans un bécher propre ;
 - Utiliser un filtre adapté pour éliminer les particules indésirables présentes dans le Surnageant ;
 - Après avoir obtenu le culot de la centrifugation, ajouter 1 ml de méthanol ;
 - Utiliser le vortex pour mélanger le culot et le méthanol de manière homogène ;
 - Assurer que le mélange est bien agité en utilisant le vortex pendant quelque minutes ;
 - Une fois le mélange terminé, filtré en utilisant des filtres seringues ;
 - Remplir les vials ;
 - Dosage par HPLC.

3.2.3. Cinétique de libération

Préparation des solutions différentes pour l'étude de la cinétique de libération, qu'on retrouver ci-dessous :

Tableau 14 : Préparation des solutions pour l'étude de la cinétique de libération d'HE

Solution	Masse/ Volume
HP- β -CD/HE	0,01g
PEG/HE	0,01g
Alginate/HE	0,01g
Liposome/HE	10 ml
HE	0,2 ml

- 100 ml de la solution tampon ;
- Agitation 2h;
- Prélèvement à chaque instant (0min, 5min, 10min, 20min, 30min, 40min, 50 min, 60min et 120 min) ;
- Filtration ;
- Dosage par HPLC.

➤ Préparation de la solution tampon à un pH=7.4

Préparer deux solutions :

- Solution1 : solubiliser 2g de NaOH dans 500 ml d'eau distillé ;
- Solution2 : solubiliser 6.8043g de KH_2PO_4 dans 250 ml d'eau distillé ;

Prélever 393.4 ml de la solution 1 et un volume de 250 ml de la solution 2 puis ajuster au 1000 ml avec de l'eau distillé.

3.3. Association de vitamine E et huile essentielle de romarin

3.1. Cinétique de libération de vitamine E et d'huile essentielle associée

Préparation des solutions différentes pour l'étude de la cinétique de libération, qu'on retrouve ci-dessous :

Tableau 15 : Préparation des solutions pour l'étude de la cinétique de libération d'association (Vit E/HE)

Solution (les complexes)		Masse/volume
HP-β-CD	Vit E	0,13 g
	HE	0,01 g
PEG	Vit E	0,17 g
	HE	0,01 g
Alginate	Vit E	0,13 g
	HE	0,01 g
Liposome	Vit E	10 ml
	HE	10 ml
Vit E/HE	Vit E	0,02 g
	HE	0.2 ml

- 100 ml de la solution tampon ;
- Agitation 2h ;
- Prélèvement à chaque instant (0 min, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 40min, 50 min, 60min et 120 min) ;
- Filtration ;
- Dosage par HPLC.

4. Analyse par spectroscopie IR

- **Matières premières**

- Vitamine E
- Complexe (PEG/Vit E)
- Complexe (HP- β -CD/Vit E)
- Complexe (Alginate/Vit E)
- Complexe (Liposome/Vit E)
- Huile essentielle
- Complexe (PEG/HE)
- Complexe (HP- β -CD /HE)
- Complexe (Alginate/HE)
- Complexe (Liposome/HE)

a). Pour les solides

- Peser une masse de 0.08 du KBR ;
- Ajouter la masse de l'échantillon ;
- Mélanger les deux masses (échantillon + KBR) sous pression de 70 K newton, (à $t=2\text{min}$), à l'aide d'une presse ;
- Eliminer de l'air avec une pompe ;
- Les pastilles de KBR préparées sont analysées à l'aide d'un spectrophotomètre

IR dans la page de 4000-400 cm.

b). Pour les liquides

- Etaler sur des verres de KBR le liquide à traiter, qu'on a désinfecté précédemment ;
- Mettre échantillon dans l'appareil de l'infrarouge.



Figure 17 : Appareil infra rouge

5. Test de motilité (test spermatique)

5.1. Matières et produits chimiques utilisés

Tris, fructose, aide acétique, pénicilline, vitamine E, huile essentielle, PEG, HP- β -CD, alginate, liposome, gonades.

5.2. Matériels

- Micropipette (5 à 10% μl) ;
- Eppendorf ;

- Chambre Makler.

5.3. Appareillages

- Balance analytique ;
- Réfrigérateur biologique ;
- Microscope CASA (MiKoneclipse E200).

5.4. Préparation du TRIS

- Peser 1208,3mg de tris, 694,4mg d'acide citrique, 55,5mg de pénicilline et 500mg de fructose,
- Dissoudre dans 50 ml de l'eau distillée.

5.5. Préparation des traitements

➤ Préparation des traitements des complexes (Vit E et HE)

Tableau 16 : Masses des différents systèmes d'encapsulation de l'huile essentielle.

Solution (complexes)	Masse / Volume
HP- β -CD/HE	0,02 g
PEG/HE	0,09 g
Alginate/HE	0,11 g
Liposome/HE	0,9 ml
HE	0,004 ml

Tableau 17 : Masses des différents systèmes d'encapsulation de vitamine E.

Solution (complexes)	Masse / Volume
HP- β -CD/Vit E	0,06 g
PEG/Vit E	0,08 g
Alginate/Vit E	0,06 g
Liposome/Vit E	0,9 ml
Vit E	0.01 g

- Ajouter 5ml de tampon Tris à chaque traitement ;
- Agitation.

➤ Préparation des traitements de l'association (Vit E et HE)

A partir des solutions de vit E et HE préparées prélevé les volumes ci-dessous :

Tableau 18 : Volumes des différents systèmes d'encapsulation de l'association (Vit E et HE).

Solution (les complexes)		Volume ml
HP-β-CD	Vit E	0.5
	HE	0,5
PEG	Vit E	0,5
	HE	0,5
Alginate	Vit E	0,5
	HE	0,5
Liposome	Vit E	0.5
	HE	0.5
Vit E/HE	Vit E	0.5
	HE	0.5

5.6. Récolte du sperme épидидymaire

- Après abattage, les gonades sont transportées dans une glacière au laboratoire dans les plus courts délais ;
- Après nettoyage de la matrice, on commence par isoler l'épididyme et le canal déférent du testicule ;
- Le tissu conjonctif est soigneusement séparé de l'épididyme ;
- Récupération du sperme par la méthode de pression à l'aide d'une seringue introduite dans le canal déférent et qui va pousser le sperme vers la sortie (incision) déjà faite au niveau de la queue de l'épididyme ;
- Les spermatozoïdes récupérés seront placés dans un eppendorf, en essayant de ne pas avoir de pertes.



Figure 18 : Epididyme.

5.7. Réfrigération du sperme

- On dilue 100 μ l de sperme dans 900 μ l de traitement (contrôle) ;
- L'analyse s'effectue à l'aide de CASA, à des temps différents, 2 heures, 4 heures et à 24 heures, 48 heures.



Figure 19 : Appareil de CASA

Chapitre VI :

Résultats et discussions

1. Analyse par spectroscopie infrarouge FTIR

Pour identifier les groupements fonctionnels des composés bruts et des systèmes encapsulés ainsi que pour confirmer la formation de ces systèmes, une analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier a été réalisée. Les résultats sont présentés dans les figures suivantes :

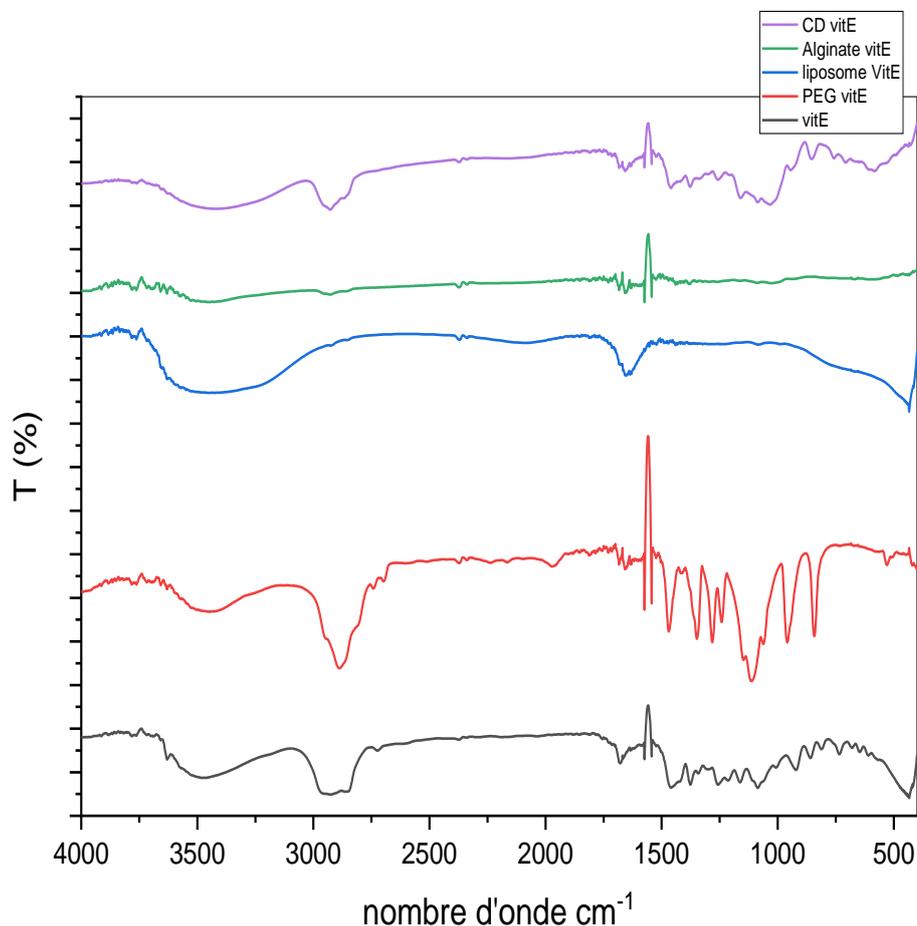


Figure 20 : Les spectres de vitE/CD, vitE/Alg, vitE/PEG, vitE/ Lip et vitE de spectroscopie infra rouge à transformé de Fourier.

Observation :

Les spectres du vitE, PEG vitE, Liposome vitE, CD vitE et Alg/vit E ont montré des pics caractéristiques autour 3500 cm pour l'étirement $-OH$. L'apparition des pics dans la plage des nombres d'onde de 2800 à 3000 cm est attribuable au groupement $C_{\text{al}}-H$. L'étirement $-C=C$ présent dans la vitamine E brute et dans les complexe CD vitE, PEG vitE.

Interprétation

Les spectres obtenus pour les différents systèmes CD vitE, PEG vitE, Lip vitE et alg/vit E montrent une différence significative par rapport à celui de la vitamine E brute utilisée. De ce fait nous concluons qu'il y'a une interaction chimique entre les constituants des complexes.

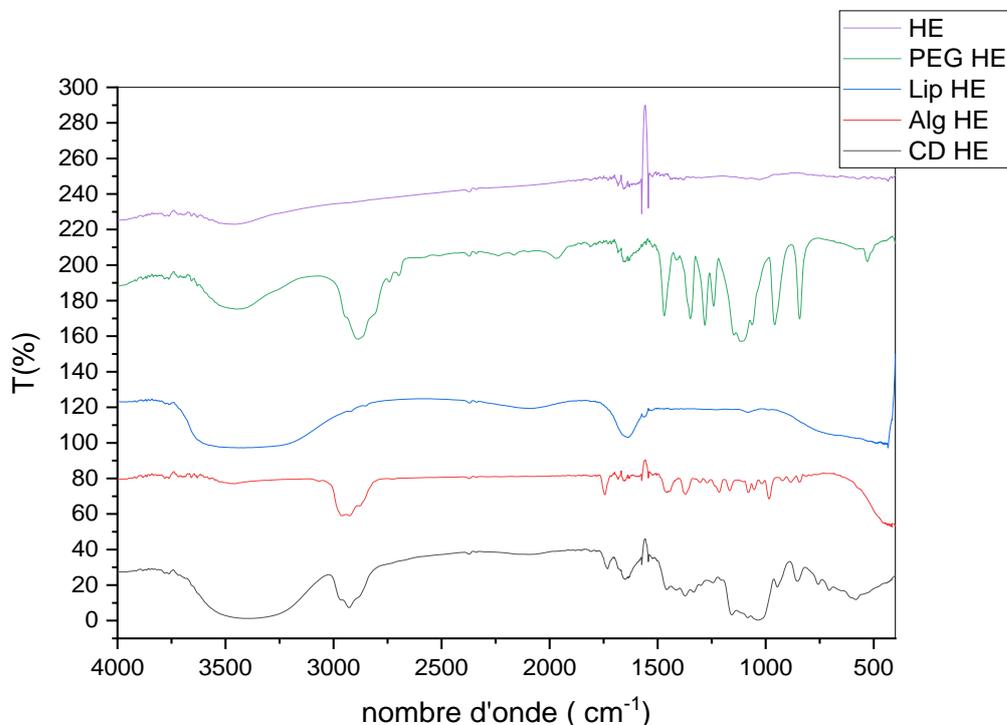


Figure 21 : Les spectres de HE/CD, HE/Alg , HE/PEG, HE/ Lip et HE de spectroscopie infra rouge à transformé de Fourier.

Observation :

Les spectres du PEG/HE, Liposome/HE, CD/HE et Alg/vit E ont montré des pics caractéristiques autour 3500 cm pour l'étirement -OH. L'apparition des pics dans la plage des nombres d'onde de 2800 à 3000 cm est attribuable au groupement C_{alé}-H. L'étirement -C=C présent chaque complexe.

Interprétation

Les spectres obtenus pour les différents systèmes CD HE, PEG HE, Lip HE et Alg/vit E montrent une différence significative par rapport à celui de l'huile essentielle de romarin brute utilisée. De ce fait nous concluons qu'il y'a une interaction chimique entre les constituants des complexes.

2. Courbe d'étalonnage

Résultats

Les courbes d'étalonnages obtenues de la vitamine E et de l'huile essentielle sont présentées respectivement dans les figures ci-dessous :

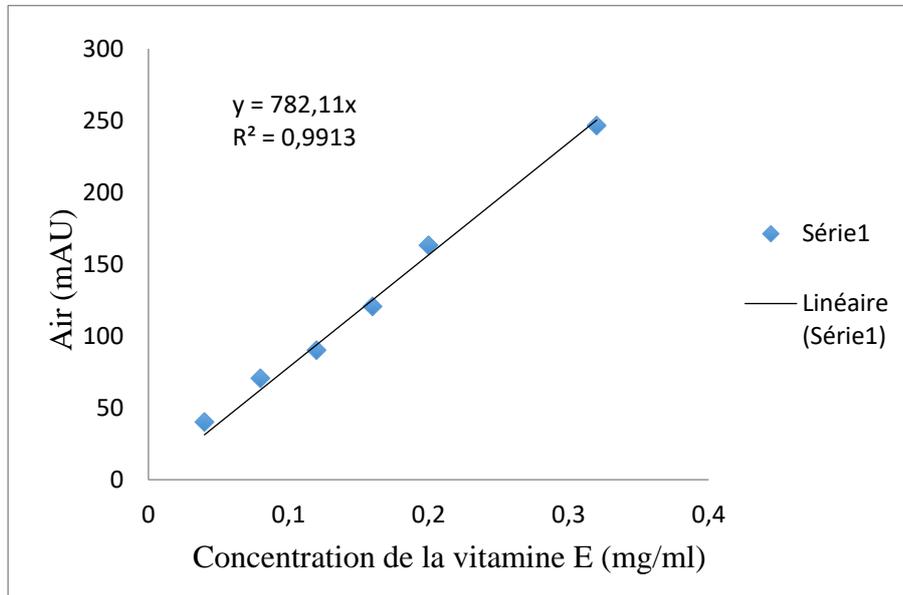


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E

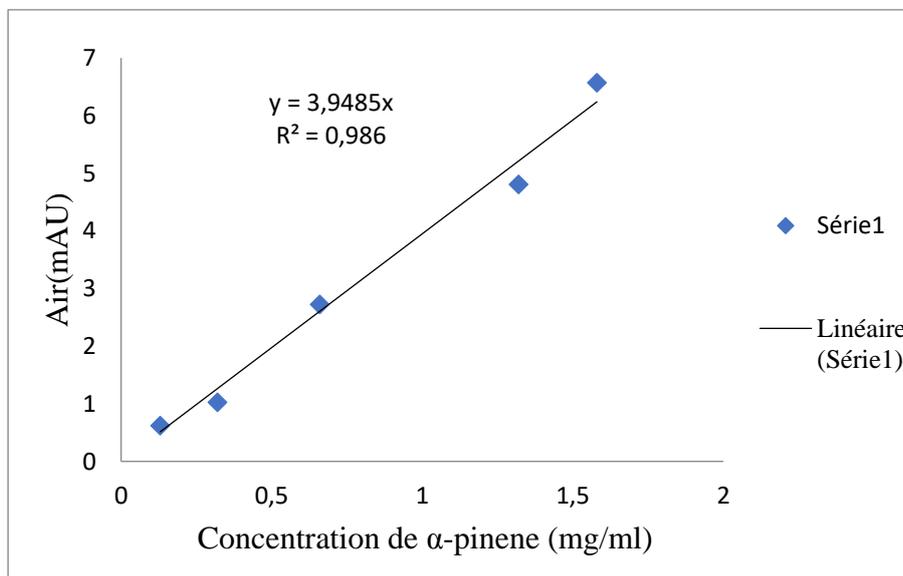


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de l'huile essentielle

Observation

Nous remarquons que les deux droites d'étalonnage, passent par l'origine, celles-ci nous fournissent des droites dont l'équation est du type $y=a*x$; avec y =Air du pic, a =pente, x =concentration de l'élément actif.

Tel que : Y (vit E)=782,11x ;

Y (HE)=3,94x.

Interprétation

La courbe $air=f(t)$ montre qu'il y a une relation directement proportionnelle entre les airs des pics et les concentrations de la Vit E et du α -pinène. Ceci est justifié par le coefficient de corrélation R^2 qui est proche de 1, R^2 (vitE)=0,99 et R^2 (HE)=0,98). Ainsi la linéarité est vérifiée.

3. Taux d'encapsulation

Le taux d'encapsulation est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Taux d'encapsulation (\%)} = (C_t / C_i) * 100$$

3.1. Taux d'encapsulation de la vitamine E

Tableau 19 : Le taux d'encapsulation de la vitamine E

Les complexes	Taux d'encapsulation
HP- β -CD/Vit E	30,141924
PEG/Vit E	97,032879
Liposome/Vit E	51,463349
Alginate/Vit E	96,680774

3.2. Taux d'encapsulation de l'huile essentielle

Tableau 20 : Le taux d'encapsulation de l'huile essentielle

Les complexes	Taux d'encapsulation (%)
HP- β -CD/ HE	73,195876
PEG/HE	53,846154
Liposome/HE	57,8125
Alginate/HE	95

Observation

Selon les résultats obtenus par HPLC, les alginates et le PEG présentent un meilleur taux d'encapsulation avec la vitamine E. En revanche, le HP- β -CD et les liposomes montrent un taux d'encapsulation supérieur avec l'huile essentielle de romarin.

Interprétation

Les résultats d'encapsulation s'expliquent par les interactions chimiques et physiques entre les substances et les matrices. La vitamine E, étant lipophile, forme des complexes stables avec les alginates et le PEG, facilitant son encapsulation grâce à leur compatibilité chimique et physicochimique. En revanche, l'HP- β -CD, avec sa structure en cavité, encapsule efficacement les composés hydrophobes de l'huile essentielle de romarin. Les liposomes, composés de bicouches lipidiques, s'adaptent bien à l'encapsulation de substances hydrophobes ou amphiphiles comme l'huile essentielle de romarin, améliorant ainsi leur taux d'encapsulation. La solubilité et le polymorphisme influencent également ces interactions.

4. Cinétique de libération

4.1. Cinétique de libération de la vitamine E

Les profils de libération des complexes de la vitamine E sont présentés dans la figure ci-dessous :

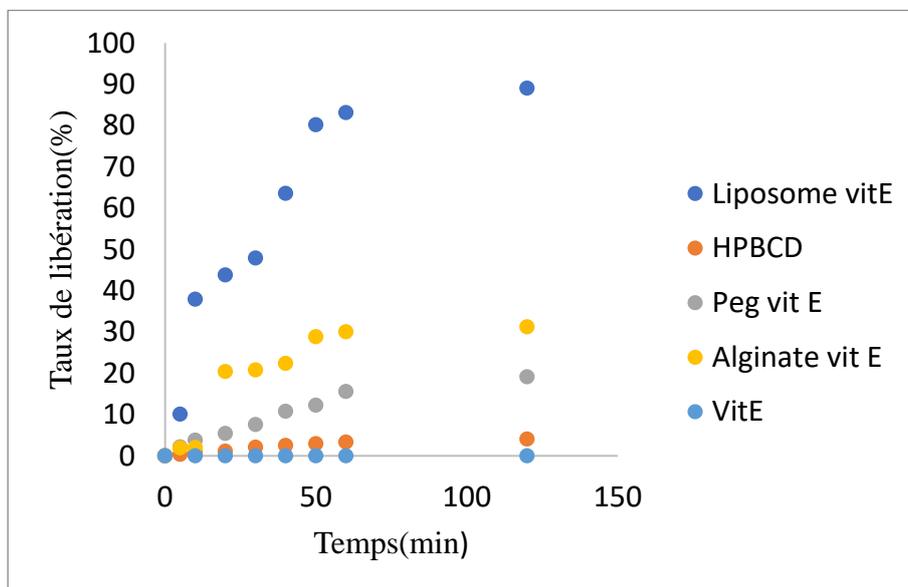


Figure 24 : Profil de libération de la vitamine E encapsulée dans les HP- β -CD, PEG, liposomes et alginate par procédé d'encapsulation classique.

Observation

Les profils de libération de la vitamine E seule et encapsulée dans des liposomes, alginates, HP- β -CD et PEG sont présentés dans la figure 24. La vitamine E seule montre une dissolution limitée (absence de solubilité dans le milieu). En revanche, l'échantillon encapsulé dans des liposomes présente une libération rapide de la vitamine E, atteignant environ 90% en 120 minutes. Les autres systèmes d'encapsulation montrent des libérations plus faibles : pour l'alginate, environ 30% en 120 minutes ; pour le PEG, environ 20% en 120 minutes ; et pour l'HP- β -CD, une très faible libération d'environ 5% en 120 minutes.

4.2. Cinétique de libération de l'huile essentielle

Les profils de libération des complexes de l'huile essentielle sont présentés dans la figure ci-dessous :

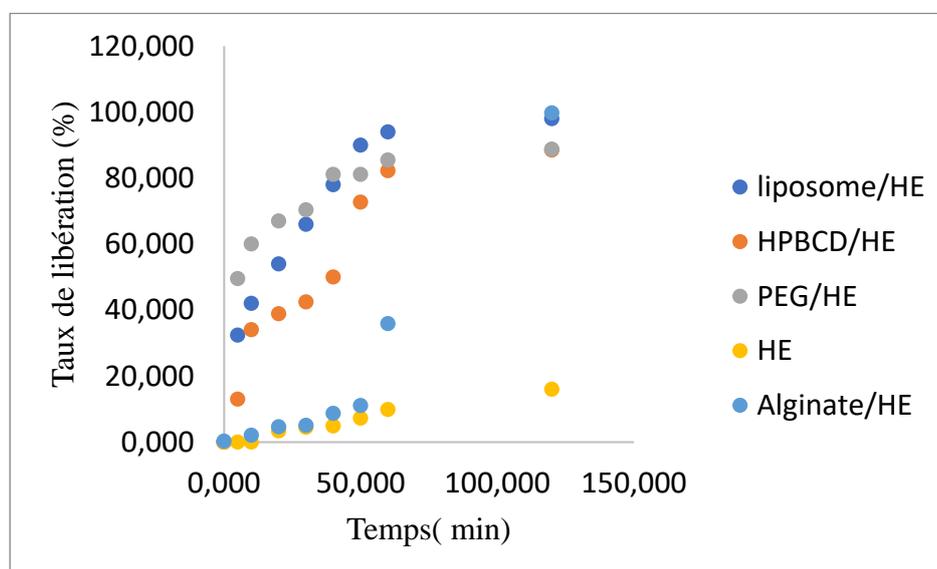


Figure 25 : Profil de dissolution de l'huile essentielle encapsulée dans les HP- β -CD, PEG, liposomes et alginate par procédé d'encapsulation classique.

Observation

Les profils de libération de l'huile essentielle de romarin seule et encapsulée dans des liposomes, alginates, HP- β -CD et PEG sont présentés dans la figure 25. L'huile essentielle de romarin seule présente une très faible dissolution, se stabilisant à environ 20%. Pour les systèmes d'encapsulation (liposomes, alginates, HP- β -CD et PEG), il y a une libération rapide de l'huile essentielle de romarin. Cette libération se stabilise à environ 100% pour les liposomes et alginates, et à environ 90% pour le HP- β -CD et le PEG en 120 minutes.

4.3. Cinétique de libération de l'association

➤ Cinétique de libération de l'association vitamine E

Les profils de libération des complexes de l'association vitamine E sont présentés dans la figure ci-dessous :

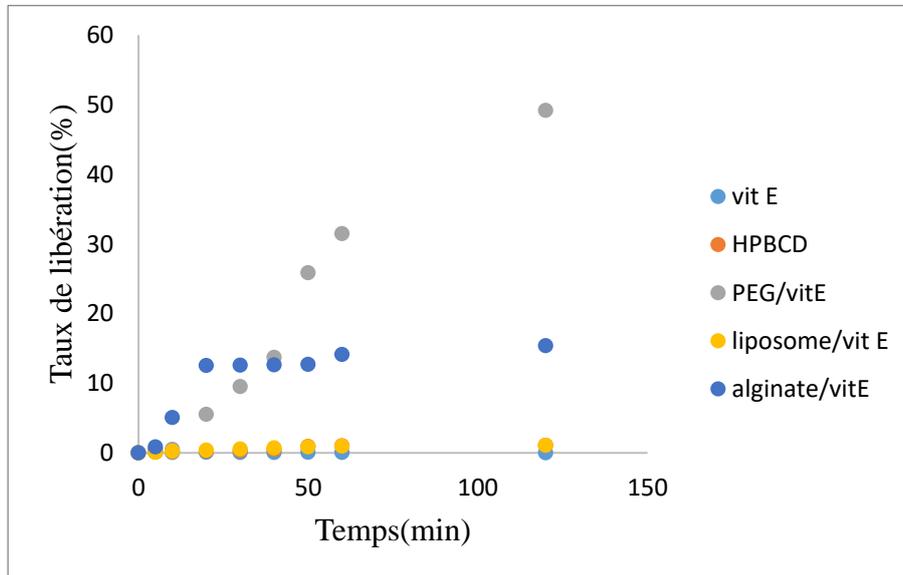


Figure 26 : Profil de libération de l'association vitamine E encapsulée dans les HP-β-CD, PEG, liposomes et alginate par procédé d'encapsulation classique

➤ Cinétique de libération de l'association de l'huile essentielle

Les profils de libération des complexes de l'association du l'huile essentielle sont présentés dans la figure ci-dessous :

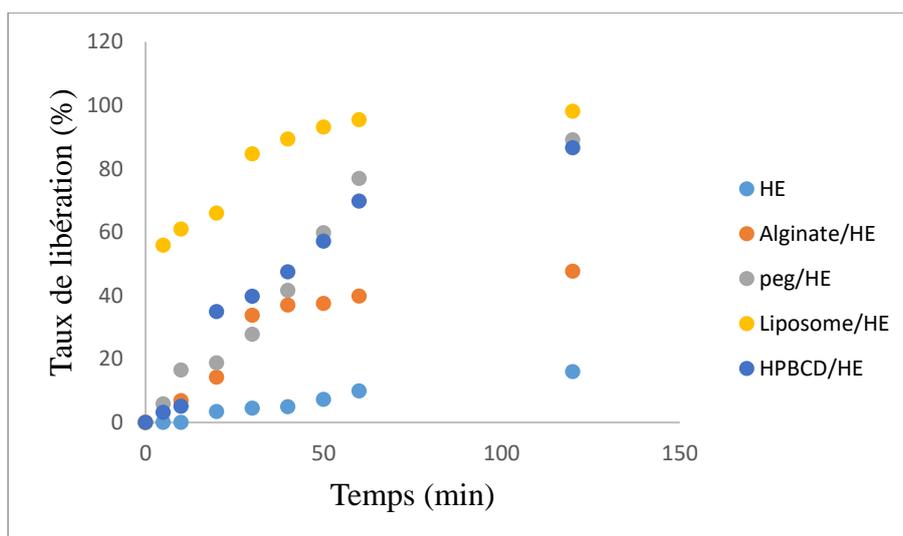


Figure 27 : Profil de libération de l'association de l'huile essentielle encapsulée dans les HP- β -CD, PEG, liposomes et alginate par procédé d'encapsulation classique.

Observation

Les profils de libération de la vitamine E seule et de l'huile essentielle de romarin seule, ainsi que celles encapsulées dans des liposomes, alginates, HP- β -CD et PEG, sont présentés dans les figures 26 et 27. La vitamine E seule montre une dissolution limitée dans le cas de l'association de la vitamine E et de l'huile essentielle. Pour les systèmes d'encapsulation, il y a une libération rapide de la vitamine E, se stabilisant à environ 50% en 120 minutes pour le PEG. Pour les alginates, la libération est faible, stabilisée à environ 15% en 120 minutes, et pour l'HP- β -CD et les liposomes, la libération de la vitamine E est très faible.

En revanche, dans l'association, il y a une libération rapide de l'huile essentielle, se stabilisant à environ 100% en 120 minutes pour les liposomes. Pour le PEG et la HP- β -CD, la libération se stabilise à environ 80% en 120 minutes, tandis que pour l'alginate, elle est faible, stabilisée à environ 40%. L'huile essentielle seule montre une très faible libération, se stabilisant à 15%. Les systèmes d'encapsulation (PEG, HP- β -CD, liposomes et alginates) libèrent l'huile essentielle de romarin mieux que la vitamine E.

Interprétation

La présence simultanée de la vitamine E et de l'huile essentielle de romarin dans le milieu peut modifier le profil de libération de la vitamine E en raison de plusieurs facteurs :

Effet Synergique ou Antagoniste : L'interaction entre les molécules hydrophobes de la vitamine E et de l'huile de romarin peut soit faciliter soit inhiber la libération de la vitamine E.

Dans ce cas, il semble que la présence de l'huile de romarin interfère avec la libération optimale de la vitamine E [151].

Modification de la Solubilité : La présence de l'huile de romarin peut altérer la solubilité de la vitamine E dans le milieu aqueux, influençant ainsi la cinétique de libération. Les composés de l'huile de romarin peuvent modifier la polarité du milieu, affectant la solubilité de la vitamine E [152].

Profil de Libération Modifié pour les Systèmes d'Encapsulation :

- **PEG :** La libération de la vitamine E atteint 50% en 120 minutes, suggérant que l'huile de romarin améliore la compatibilité de la vitamine E avec le PEG, probablement en modifiant la solubilité globale du système [153].
- **Alginate :** La libération de la vitamine E est encore plus faible (15%) en présence de l'huile de romarin, indiquant une interaction défavorable entre les composants et la matrice d'alginate [154].
- **HP- β -CD et Liposomes :** La libération de la vitamine E est très faible, suggérant que l'huile de romarin interfère significativement avec le mécanisme de libération de ces systèmes, possiblement en saturant ou en compétant pour les sites d'encapsulation [152, 155].

La co-présence de la vitamine E, également hydrophobe, pourrait stabiliser davantage les liposomes, améliorant ainsi la libération de l'huile essentielle de romarin [153]. Indiquent que la stabilisation des liposomes par des composés hydrophobes peut améliorer la libération des substances encapsulées.

L'encapsulation améliore significativement la libération de l'huile essentielle de romarin en raison de l'augmentation de la solubilité et de la stabilisation des composés hydrophobes par les systèmes d'encapsulation [151, 154, 156]. La présence simultanée de la vitamine E influence la cinétique de libération en modifiant les interactions entre les composés et les matrices d'encapsulation, mettant en évidence l'importance de la formulation dans le développement de systèmes de libération efficaces.

5. Modélisation mathématique

Il existe de nombreux modèles différents pour décrire la libération d'un médicament. Certains modèles, comme korsmeyer-Peppas et Higuchi peuvent être appliqués à des micros formulations. [157, 158]. Dans notre cas, quatre modèles mathématique différents ont été évalués : le modèle cinétique de premier ordre et l'ordre zéro, le modèle Higuchi et le modèle korsmeyer-Peppas.

5.1. Modélisation mathématique de la vitamine E

Afin de déterminée le model de diffusion ainsi que les phénomènes mis en jeu qui représente la dissolution de la vitamine E et de l'huile essentielle de romarin à travers les différentes matrices (forme galénique). Les résultats obtenus sont résumés des les tableaux suivant :

Tableau 21 : Modélisation des données de libération de la vitamine E par procédés d'encapsulation classique

Modèle mathématique		Cyclodextrine	Polyéthylène glycol	Liposomes	Alginates de sodium
0 ordre	K	0.0004	0.002	0.0106	0.0038
	R ²	0.9226	0.9404	0.8531	0.8373
1st ordre	K	0.9996	0.9978	0.9777	0.9955
	R ²	0.9245	0.9493	0.9402	0.8506
Higuchi	K	0.0038	0.0169	0.0952	0.0339
	R ²	0.9681	0.9805	0.9574	0.9474
Korsmeyer Peppas	K	0.4	0.49	0.5	0.1049
	R ²	0.9722	0.9836	0.9754	0.8364
	n	0.4	0.49	0.5	0.2

5.2. Modélisation mathématique de l'huile essentielle de romarin

Tableau 22 : Modélisation des données de libération de l'huile essentielle de romarin par procédés d'encapsulation classique.

Modèle mathématique		Cyclodextrine	Polyéthylène glycol	Liposomes	Alginates de sodium
0 ordre	K	0.0072	0.0051	0.0073	0.0082
	R ²	0.787	0.4817	0.6807	0.8866
1st ordre	K	0.0071	0.0051	0.0073	0.0082
	R ²	0.787	0.4817	0.6807	0.8866
Higuchi	K	0,0891	0.0744	0.0962	0.0797
	R ²	0.9288	0.7792	0.9188	0.6447
Korsmeyer Peppas	K	9.6301	39.412	20.8749	0.0099
	R ²	0.9643	0.9927	0.9797	0.9900
	n	0.48	0.18	0.34	0.5

5.3. Modélisation mathématique de l'association (Vit E et HE)

Tableau 23 : Modélisation des données de libération en associant la vitamine E et l'huile essentielle de romarin par procédés d'encapsulation classique.

Modèle mathématique		Cyclodextrine		Polyéthylène glycol		Liposomes		Alginates de sodium	
		Vit E	HE	Vit E	HE	Vit E	HE	Vit E	HE
0 ordre	K	0.0001	0.0087	0.0045	0.008	0.0061	0.0059	0.0012	0.0039
	R ²	0.8078	0.9421	0.9584	0.8819	0.8072	0.4978	0.5641	0.7116
1st ordre	K	0.9999	0.9913	0.9955	0.9913	0.9941	0.9941	0.9988	0.9961
	R ²	0.8078	0.932	0.9584	0.8819	0,8072	0.4978	0,5641	0.7116
Higuchi	K	0.0012	0,1445	0.0488	0,0926	0.0012	0.085	0.0162	0,0502
	R ²	0.8607	0,9182	0.8663	0,9074	0.9409	0,7932	0.8004	0,8779
Korsmeyer Peppas	K	0.5	30.18	0.3837	14.02	0.1	12,276	2.9101	4.9604
	R ²	0.9431	0.9734	0.9783	0.905	0.9435	0.8906	0.9134	0.9371
	n	0.5	0.33	0.38	0.34	0.2	0.5	0.37	0.49

Interprétation :

A partir des valeurs R² présentés dans les trois tableaux, on peut déduire que le modèle korsmeyer-Peppas est le plus précis (le modèle qui reflète notre études). Ce modèle a été déjà utilisé pour décrire la cinétique des nanoparticules [159-161]. De plus, les paramètres correspondant à ce modèle notamment la constante de vitesse de libération (K) et l'exposant de libération (n). Les valeurs de n obtenues correspondaient à un comportement de diffusion

Fickien. Ce résultat affirme que la libération de la vitamine E et l'huile essentielle de romarin suit une libération par diffusion contrôlée par le gradient de concentration.

Le modèle korsmeyer-Peppas décrit la libération du médicaments comme un processus de diffusion basé sur la loi Fick, et peut donc être utilisé pour décrire la dissolution de médicaments à partir de divers posologies et formes pharmaceutiques à libération prolongée, comme dans le cas de certains systèmes matriciels contenant des médicaments hydrosolubles.

Par ailleurs, les constantes de vitesse du modèle korsmeyer-Peppas, indiquent clairement que lorsqu'on utilise une base hydrophile, la diffusion est accélérée.

6. Test spermatique

Les figures ci-dessous regroupent les vitesses linéaires VCL (curviligne vitesse), VSL (vitesse linéaires droite) et VAP (vitesse moyenne du trajet) des spermatozoïdes ovins traités en fonction du temps (Réfrigération).

6.1. Vitamine E seul et vitamine E encapsulé dans les différents systèmes

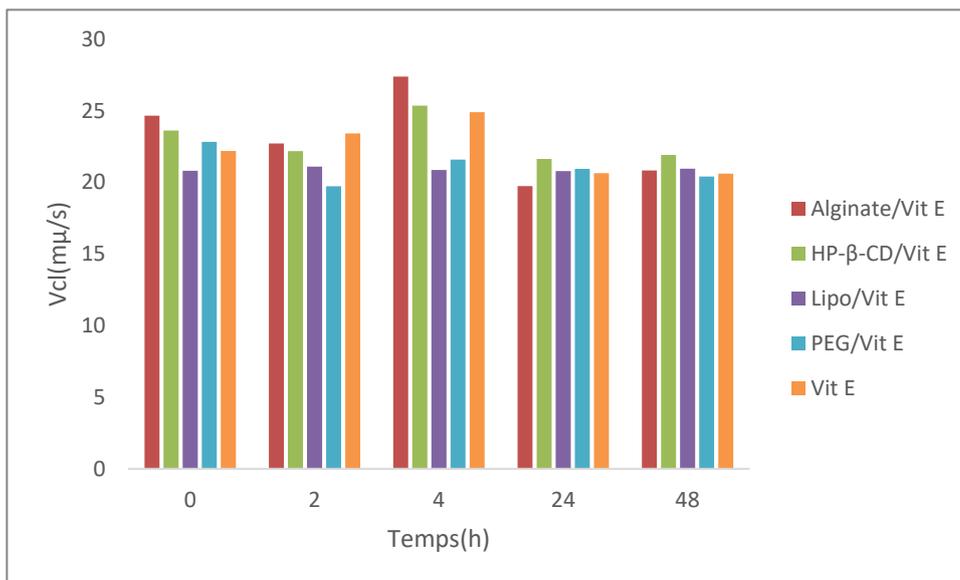


Figure 28 : Valeurs moyenne (\pm SEM) pour curviligne vitesse (VCL) de vit E

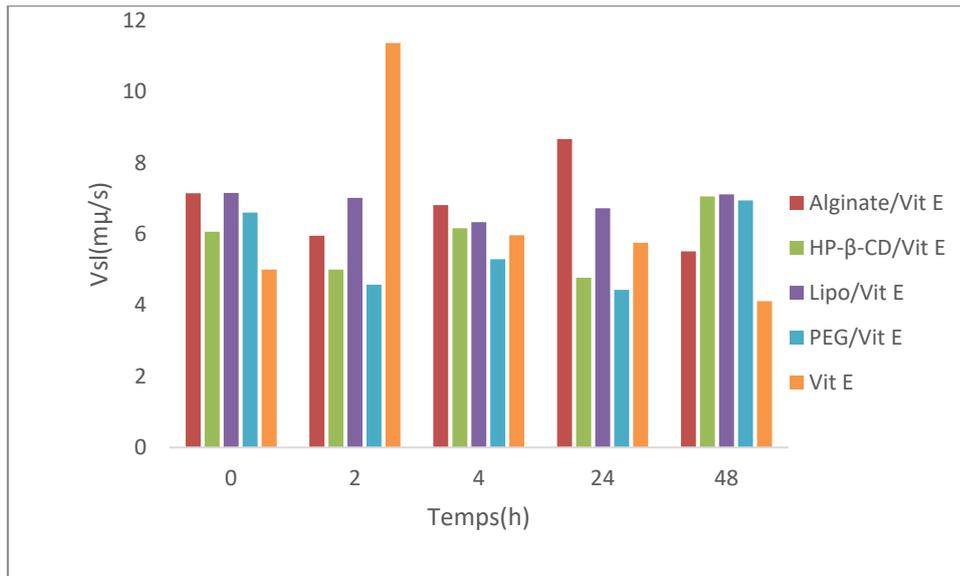


Figure 29 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse linéaire droite (VSL) de vit E

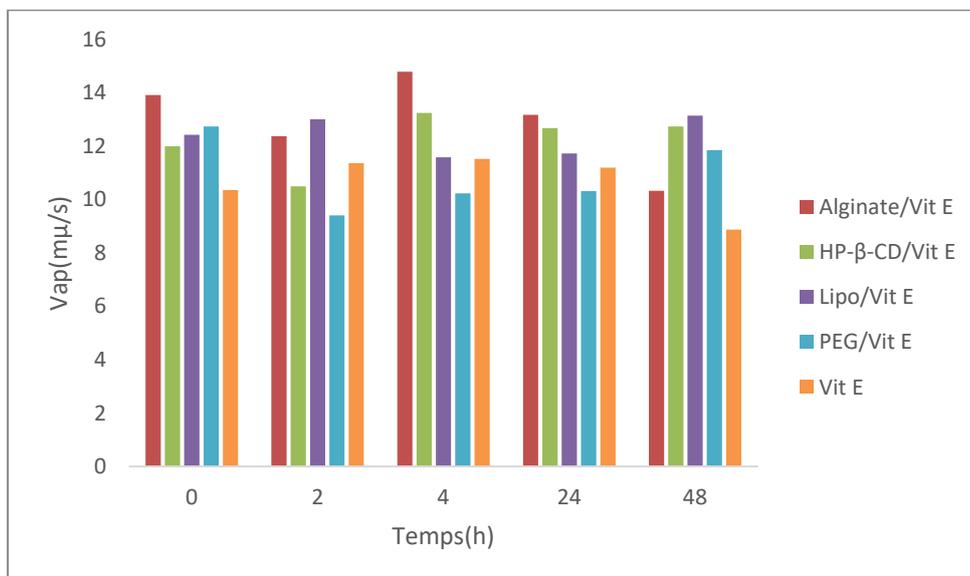


Figure 30: Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse moyenne du trajet (VAP) de vit E

Observation

La vitamine E encapsulée dans les différents systèmes (HP-β-CD, PEG, alginate et liposome) montre une meilleure influence sur les paramètres VCL, VSL et VAP comparée à la vitamine E non encapsulée.

6.2. Huile essentielle seul et huile essentielle encapsulé dans les différents systèmes

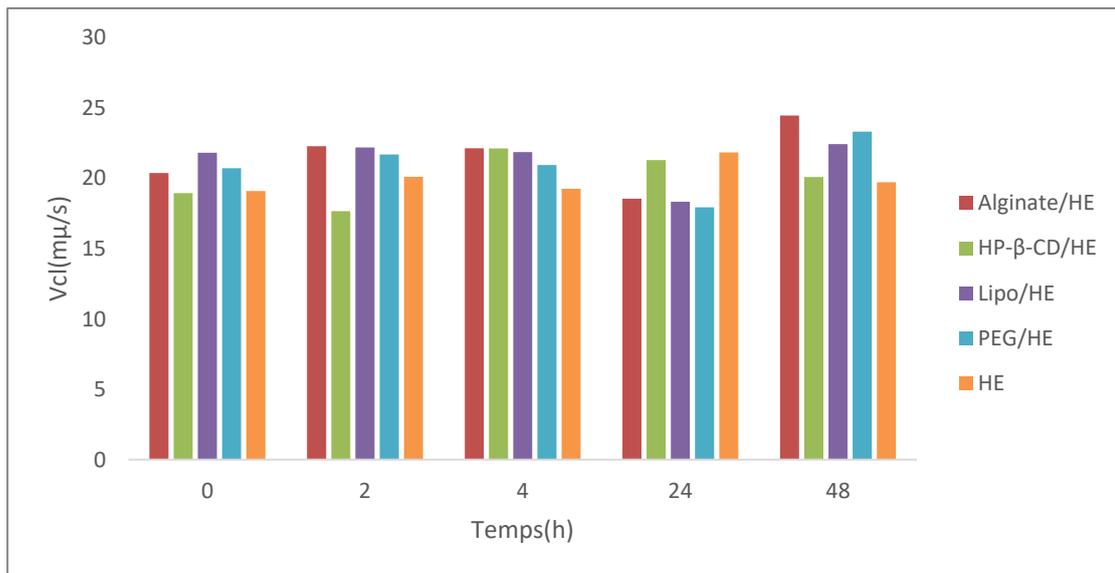


Figure 31 : Valeurs moyenne (\pm SEM) pour curviligne vitesse (VCL) d'HE

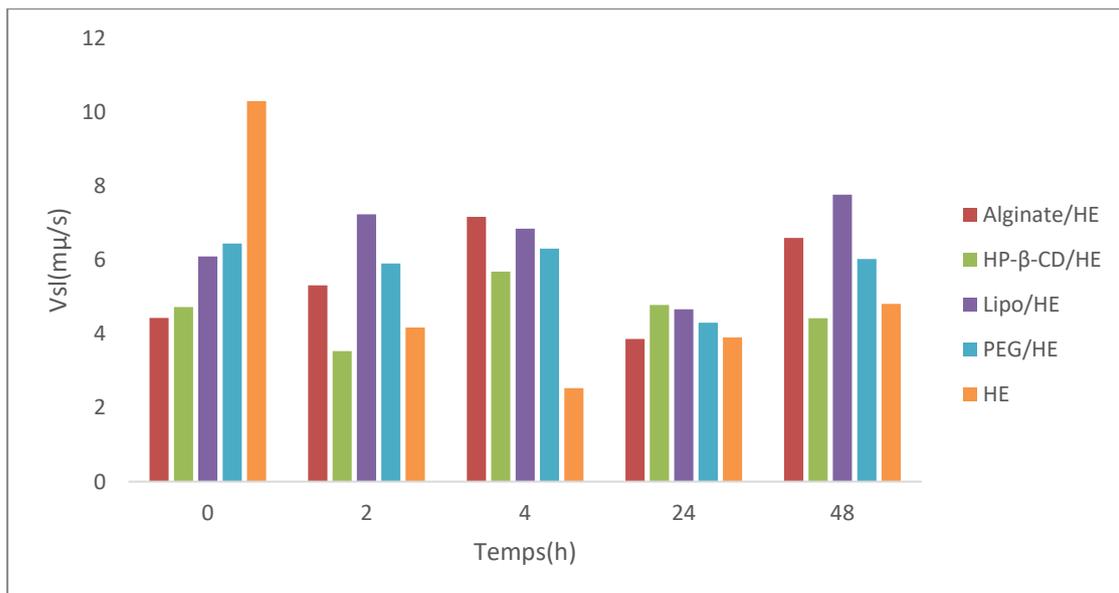


Figure 32 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse linéaire droite (VSL) d'HE

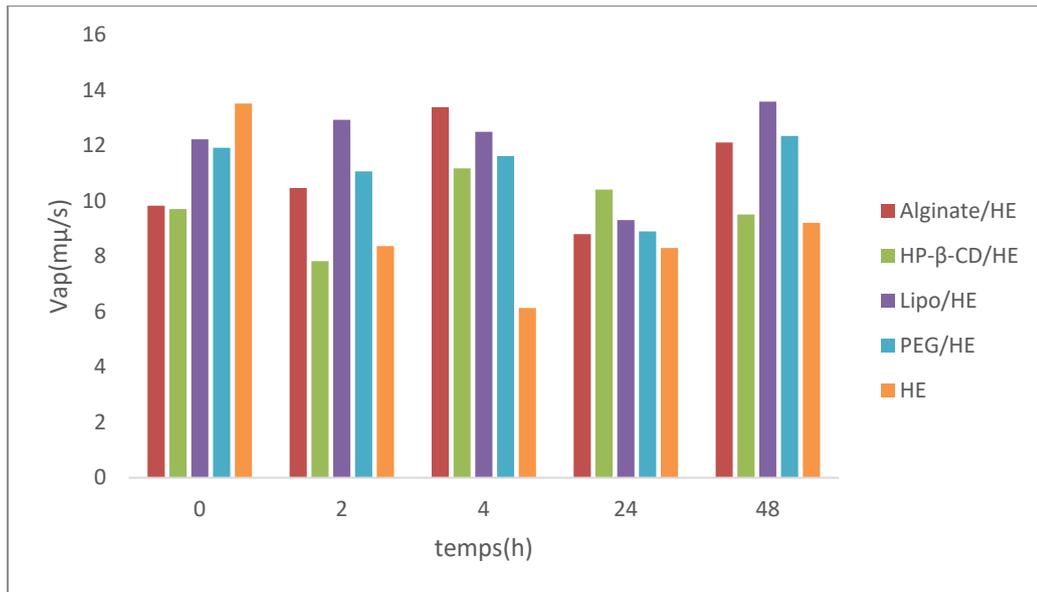


Figure 33 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse moyenne du trajet (VAP) d'HE

Observation

L'huile essentielle de romarin encapsulée dans divers systèmes d'encapsulation (HP-β-CD, PEG, alginate et liposome) montre un effet supérieur sur les paramètres VCL, VSL et VAP par rapport à l'huile essentielle non encapsulée. L'huile essentielle de romarin encapsulée dans les liposomes et les alginates présente le meilleur effet après 48 heures de réfrigération à 4°C des spermatozoïdes.

6.3. Association de la vitamine E et le huile essentielle de romarin

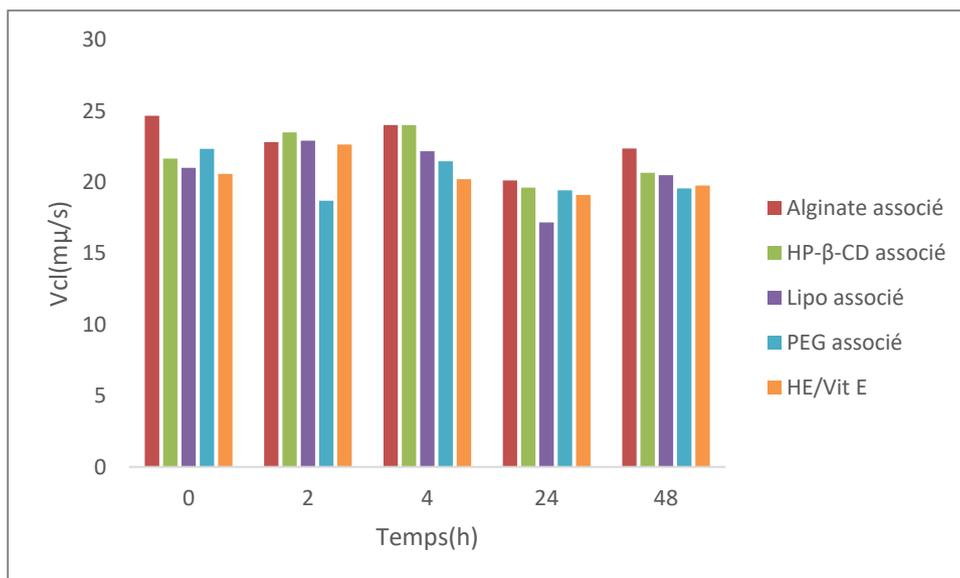


Figure 34: Valeurs moyenne (\pm SEM) pour curviligne vitesse (VCL) d'association (vit E/HE)

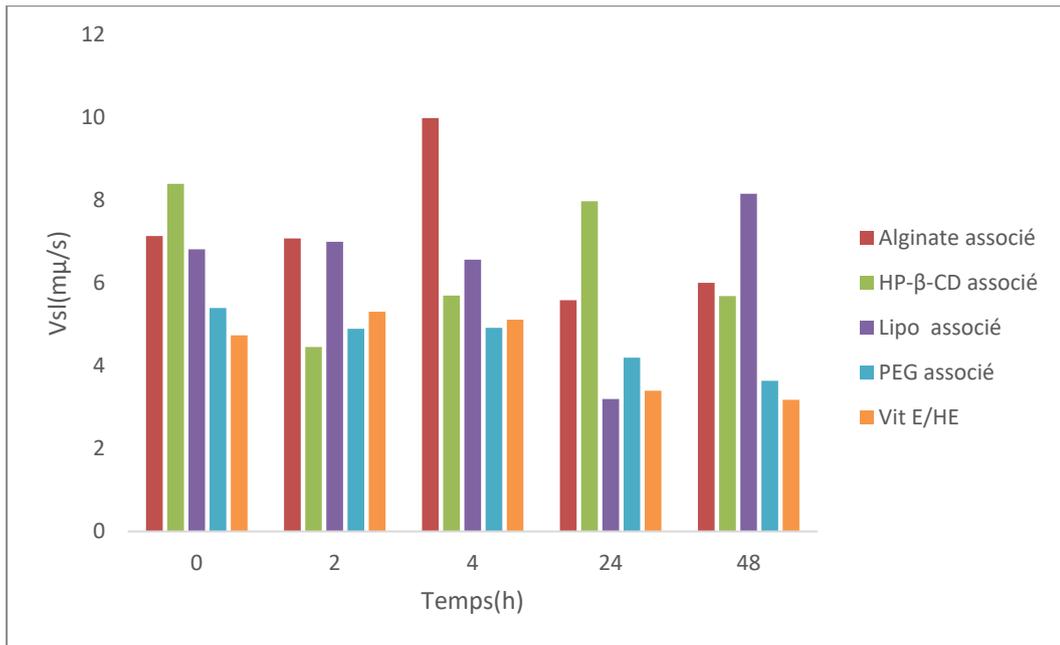


Figure 35 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse linéaire droite (VSL) d'association (Vit E/HE)

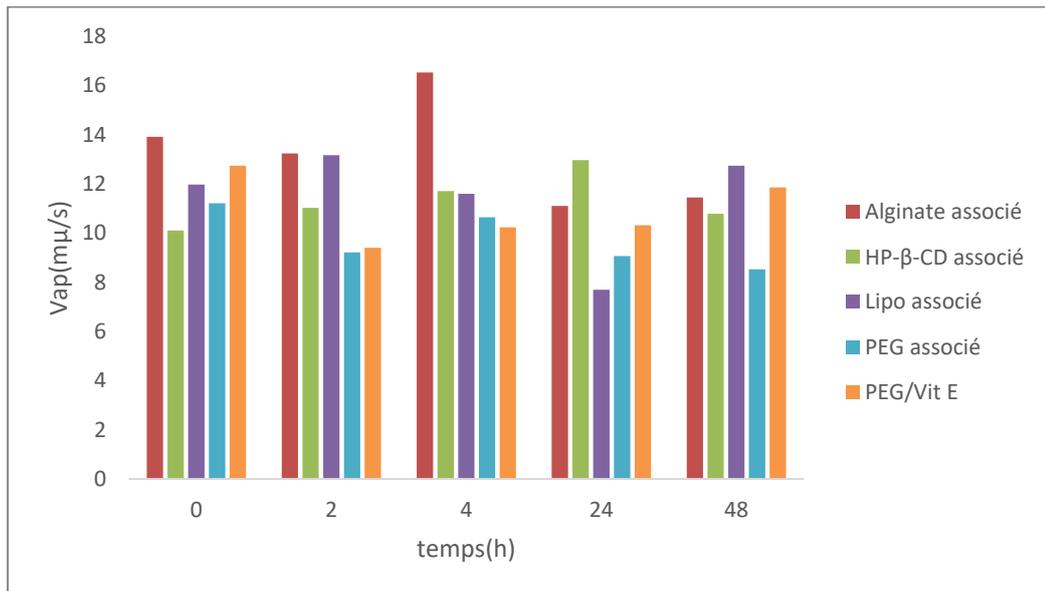


Figure 36 : Valeurs moyenne (\pm SEM) vitesse moyenne du trajet (VAP) d'association (Vit E/HE)

Observation

L'association de la vitamine E et le huile essentielle de romarin ont un meilleur effet sur la VCL, VSL et VAP et cela avec ou sans encapsulation.

Interprétation

Les systèmes d'encapsulation peuvent améliorer la biodisponibilité et la stabilité des antioxydants comme la vitamine E, augmentant leur efficacité biologique [162].

L'encapsulation dans des matrices comme les liposomes et les alginates peut protéger les composés bioactifs contre la dégradation et améliorer leur libération contrôlée [163].

L'association de la vitamine E et de l'huile essentielle de romarin, avec ou sans encapsulation, montre un effet synergique améliorant les paramètres VCL, VSL et VAP. Cette synergie peut être attribuée aux propriétés antioxydantes complémentaires des deux substances, renforçant leur efficacité globale. Les synergies entre différents antioxydants peuvent amplifier leurs effets protecteurs sur les cellules, notamment en améliorant la motilité et la viabilité des spermatozoïdes [164].

Conclusion et Perspectives

Conclusion

L'objectif de cette recherche était de développer un système d'encapsulation et de solubilisation pour deux principes actifs hydrophobes, la vitamine E et l'huile essentielle de romarin. En examinant divers systèmes d'encapsulation, notamment la cyclodextrine HP- β -CD, le polyéthylène glycol (PEG), les liposomes et les alginates, nous avons pu évaluer leur efficacité à améliorer la solubilité et la stabilité de ces composés.

Les résultats ont démontré que l'encapsulation peut significativement augmenter la solubilité et la libération contrôlée de la vitamine E et de l'huile essentielle de romarin, surmontant ainsi les limitations inhérentes à leur nature hydrophobe. Chaque système d'encapsulation a présenté des avantages spécifiques :

- Les liposomes ont montré une capacité élevée à encapsuler et libérer rapidement les composés, atteignant près de 90% de libération pour la vitamine E en 120 minutes.
- Les alginates ont offert une libération plus contrôlée, avec des propriétés gélifiantes et biocompatibles idéales pour certaines applications.
- La cyclodextrine HP- β -CD, avec sa structure en cavité, a amélioré la solubilité en formant des complexes d'inclusion.
- Le PEG a stabilisé les composés bioactifs tout en offrant une libération modérée.

Lors de la modélisation mathématique, il s'est avéré que la diffusion de la vitamine E et de l'huile essentielle de romarin, qu'ils soient seuls ou encapsulés, suit un mécanisme de diffusion de type Fickien dans le milieu aqueux. Les modèles de Higuchi et de Korsmeyer-Peppas ont montré les meilleurs ajustements avec des coefficients de détermination (R^2) les plus élevés et des coefficients de diffusion inférieurs à 0,5.

De plus, l'étude a révélé un effet synergique potentiel entre la vitamine E et l'huile essentielle de romarin lorsqu'ils sont utilisés conjointement lors de la conservation spermatique, améliorant davantage leurs propriétés antioxydantes et bénéfiques pour la santé. Cette synergie pourrait être exploitée dans divers domaines, notamment pharmaceutique, cosmétique et alimentaire, pour développer des formulations plus efficaces et stables.

En conclusion, l'encapsulation des principes actifs hydrophobes comme la vitamine E et l'huile essentielle de romarin dans des matrices appropriées peut considérablement améliorer leur solubilité et leur efficacité. Ce travail ouvre la voie à de nouvelles recherches sur

Conclusion et perspectives

l'optimisation des systèmes d'encapsulation pour d'autres composés hydrophobes et leurs applications potentielles dans différents secteurs industriels.

Les références bibliographiques

Les références bibliographiques

- [1] L Taouzinet, S Fatmi, A khellouf, M Lahiani-Skiba, M Skiba,...CryoLettres 43 (1), 50-57, 2022 – ingentaconnect.
- [2] L Taouzinet, O Djaoudene, S Fatmi, C Bouiche...-Processes, 2023 – mdpi.com.
- [3] Bangham, A.D. ; Standich, M.M. ; Watkins,J.C. Diffusion of Swollen Phospholipids. J. Mol.Biol. 1965, 13, 238-252, IN26-IN27.
- [4] Priyanka, K.R. ; Rajaram, R. ; Sivakumar, S.R.A Critical Reviem on Pharmacological Propertien of Marine Macroalgae. Biomass Conv. Bioref.2022, 1-25.
- [5] Taouzinet L et all, Alpha Tocophenol Loaded in Liposome : Préparation, Optimisation, Caractérisations sperm motility motility protection. Drug Delivery Letters, 2020.
- [6] Marion Baillot, (2016). Capsules hybrides à libération provoquée. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux, 16 décembre.
- [7] Abdellaoui Rachid, (2018). La microencaosulation des huiles meilleur approche pour la valorisation des produits alimentaires ?, Thèse de doctorat, Université de Mohamed V de Rabat.
- [8] Kerdudo, A., (2014). «Optimisation de la conservation des cosmétiques: impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation ». Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'université de Nice Sophia Antipolis CHIMIE, 232p.
- [9] Richard, J., Benoit JP. (2000). Microencapsulation. Tech. Ing. J 2210: 1-20.
- [10] Agnihotri N., Mishra R., Goda C., Arora M., 2012. Microencapsulation a novel approach in drug delivery: a review», Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences, 2(1):1-20.
- [11] Garg A., chhipa K., Kumar L., (2018). Microencapsulation techniques in pharmaceutical formulation», European Journal of Pharmaceutical and Medical Research, 5(3):199-206.
- [12] Madhav N. S., Kala S., (2011). «Review on microparticulate drug delivery system», International Journal of Pharm Tech Research, 3(3):1242-1254.
- [13] Subedi G., Shretha A. K., Shakya S., (2016). Study of effect of different factors in formulation of micro and nanosphères with solvent evaporation technique, Open Pharmaceutical Science Journal, 3(1):182-195.
- [14] Martins, C., Oliveira, T. and Popovic, A. (2014). Understanding the Internet Banking Adoption: A Unified Theory of Acceptance and Use of Technology and Perceived Risk Application. International Journal of Information Management, 34, 1-13.
- [15] Mata, T.M., Martins, A.A. and Caetano, N.S. (2010). Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14, 217-232.

Références bibliographiques

- [16] Dias, D R., Botrel, DA., De Barros, FRV et Borges, SV (2017). Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional food, *Current Opinion in Food Science* 13: 31-37
- [17] Bile, J (2015). Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés. Thèse de doctorat en Chimie théorique et/ou physique. Université Claude Bernard - Lyon 1, 243.
- [18] Nesterenko A., Françoise S., Vanessa D., (2012). Etude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en micro encapsulation», Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, 20-21.
- [19] Boukhouya, I (2019). Elaboration de microparticules chargées d'Amoxicilline et de Théophylline à partir de polymères biodégradables; Etude cinétique de leur libération. Thèse de doctorat en Chimie. Université Djillali Liabes de Sidi Bel-Abbes, 212p.
- [20] De Vos, P., Faas, MM., Spasojevic, M et Sikkema, J (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal* 20: 292-302,
- [21] Gouin, S, (2004). Micro-encapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food & Technology* 15: 330-347,
- [22] Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., Bugarski, B (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science* 1: 1806-1815
- [23] Shishir, MRI, Xie, L., Sun, C., Zheng, X., Chen, W (2018). Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters, *Trends in Food Science and Technology* 78: 34-60
- [24] M. Perino, (2009). Energy conservation in building and community systems programme, international Energy Agency.
- [25] J.P.Benoît, S.Briançon, E.Fattal, H.Fessi, P. Legrand, C.Passirani, Sphéroïdes et formes vectorisées. P 13, 23.
- [26] T. Félicie, (2009). Conception et mise en Œuvre d'un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale, Mémoire de Doctorat, Université de Toulouse (France).
- [27] S.Giraud (2002). Microencapsulation d'un dicyanate et d'un phosphate d'ammonium application élaboration d'un système polyuréthane monocomposant à propriété retardatrice de flamme pour l'enduction textile, Mémoire de Doctorat, Université des sciences et technologies de Lille.

Références bibliographiques

- [28] Benyahia S; Abdallah Bouamrane. A. (2017). Encapsulation de la doxycycline et de l'aspirine: étude de l'effet des paramètres physicochimiques de préparation sur la stabilité des microcapsules d'alginate. [Mémoire]. Khemis Miliana: Université Djilali Bounaâma.
- [29] Ben Messaoud G, 2015. Structuration et contrôle de l'architecture de capsules à cœur liquide à base d'hydrogel d'alginate par association de biopolymères. [Thèse]. Université de Lorraine.
- [30] Guendouzen H. Bousnan M. 2017. Formulation et caractérisation des microparticules à base de biopolymères [Mémoire]. Bejaia: Université Abderrahmane Mira.
- [31] Arrouj.C B.Hanane, 2016. Etude d'un procédé de microencapsulation par émulsification d'un principe actif anti-inflammatoire et caractérisation biopharmaceutique. [Mémoire]. Université A. Mira. Bejaïa.
- [32] Dussault J. 2009. Biocompatibilité des Microcapsules d'Alginate: Purification d'Alginate, Réaction Immunitaire de l'Hôte et Protection du Receveur [Thèse]. University de Montel;
- [33] D. Dhamecha, et al. Applications of alginate microspheres in therapeutics delivery and Cell culture: Past, present and future. *International Journal of Pharmaceutics* 569 (2019) 118-627.
- [34] Finch et Bodmeier (2005), Madene et al. Vandamme et al. (2007).
- [35] Gharib R, Greige-Gerges H, Fourmentin S, Charcosset C & Auezova L 2015 *Carbohydrate polymers* 129, 175-1
- [36] Szejtli J (1998) *Chem. Rev.* 98(5), 1743- 1754.
- [37] Pereva S. Nikolova V, Sarafska T, Angelova S, Spassov T & Dudev T (2020) *Journal of Molecular Structure* 1205, 127575.
- [38] Patel MR, Lamprou DA & Vavia PR (2020) *AAPS PharmSciTech* 21, 11.
- [39] Bender, M. & Komiyama, M., 1978. *Reactivity et Structure Concepts in Organic Chemistry. Cyclodextrin Chemistry.* Springer-Verlag New York.
- [40] Connors, K.A., (1997). The stability of cyclodextrin complexes in solution. *Chemical reviews.*97, 1325-1358,
- [41] Szente, L. & Szejtli, J., (1999). Highly soluble cyclodextrin derivatives: chemistry, properties, et trends in development. *Advanced drug delivery reviews*, 36, 17-28,
- [42] Duchêne, D., Vaution, C. & Glomot, F., (1986). Cyclodextrins, their value in pharmaceutical technology. *Drug development et industrial pharmacy*, 12, 2193-2215,
- [43] Gulati M, Grover M, Singh S & Singh M (1998) Lipophilic drug derivatives in liposomes. *International Journal of Pharmaceutics* 165(2):129-168.

Références bibliographiques

- [44] Tesoriere L, Bongiorno A, Pintaudi AM, D'Anna R, D'Arpa D & Livrea MA, 1996. Synergistic interactions between vitamin A and vitamin E against lipid peroxidation in phosphatidylcholine liposomes. *Archives of biochemistry and biophysics* 326(1):57-63.
- [45] Banville C, Vuillernard J & Lacroix C , (2000) Comparison of different methods for fortifying Cheddar cheese with vitamin D. *International Dairy Journal* 10(5-6):375-382,
- [46] Taouzinet, Lamia, Fatmi Sofiane, Mouhamed Skiba, Mokrane Iguer Ouada, (2021)."Encapsulation Nanotechnology in Sperm Cryopreservation: Systems Preparation Methods and Antioxidants Enhanced Delivery." *Cryolotter* 42 (1), 1-12.
- [47] A. Hambleton., (2010). Etude des transferts des petites molécules au travers des films comestibles encapsulant des substances actives (arôme), Thèse de Doctorat, Université de Bourgogne.
- [48] A. Steinbuchel, B. H. A. Rehm., (2009). *Alginates: biology and applications*, Springer: 13 5.
- [49] V. Rocher, A. Bee, J-M. Siaugue, V. Cabuil, (2010). - Dye removal from aqueous solution by magnetic alginate beads crosslinked with epichlorohydrin, *Journal of Hazardous Materials*, 178: 434-439.
- [50] A. Ely., (2010).- Synthèse et propriétés de biosorbants à base d'argiles encapsulées dans de alginates: Application aux traitements des eaux, Thèse de Doctorat, Université de Limoges, pp 11-19
- [51] Rocher, V. (2008). Synthèse et caractérisation de billes d'alginate magnétiques pour l'élimination de polluants organiques dans les effluents par séparation magnétique. Thèse de doctorat, Université de Pierre et Marie Curie.
- [52] Haug, A. Fractionation of alginic acid. *Acta Chem Scand*, 1959,13. p.601-603,
- [53] Haug, A., Larsen, B., Smidsrod, O. (1967). Alkaline degradation of alginates. *Acta Chem Scand*, 21:2859-70,
- [54] Smisrod, O & haug, A. 1971.Estimation of the relative stiffness of the molecular Chain in polyelectrolytes from measurements of viscosity at different ionic strengths. *Biopolymers*, 10, 1213-1227,
- [55] Palluault, V(2010). Nouveaux traitements de surface respectueux de l'environnement par des gels polymères réticulables: Application à la préparation des surfaces d'usage dans le secteur aéronautique. 177p. Thèse de doctorat: polymères Bordeaux, Université de Bordeaux 1.
- [56] Williams, D.F. On the mechanisms of biocompatibilité. *Biomaterials*, (2008), vol. 29, p.2941-2953.

Références bibliographiques

- [57] Lee, B., P., Chan. E. Size and Shape of Calcium Alginate Beads Produced by Extrusion Dripping. Chemical engineering technology, July, 2013, vol.36, n°10, p.1-14.
- [58] Orive, G., Ponce, S., Hernandez, R.M., Gascon, A.R., Igartua, M., Pedraz, J.L. 2002, biocompatibility of microcapsules for cell immobilization elaborated with different type of alginates. Biomaterials, 23 :3825-31.
- [59] Venkatesan, J., Lowe, B., Anil, S., Manivasagan, P., Kheraif F, A., Kang, K-H. Seaweed polysaccharides and their potential biomedical applications. Starch Stärke, 2015, vol.67, p.381-390.
- [60] Qin, Y. Absorption characteristics of alginate wound dressings. Journal of Applied Polymer Science, (2004), vol.91, p.953-957,
- [61] Keddou M.,2008, Elaboration et caractérisation de membranes polymères à base de chitosane, mémoire de magister de l'université de Boumerdes,.
- [62] A. Malek, (1991). « Caractérisation des films de chitosane par la perméabilité à la vapeur d'eau et aux gaz (CO₂, O₂) », Université Laval.
- [63] A. Venault de Bourleuf, 2010. « Elaboration d'hydrogels composites chitosane/charbon actif avisée cicatrisante par procédés d'inversion de phase», Thèse de doctorat, Université Montpellier II.
- [64] Codex oenologique international Chitosane COEI-1-CHITOS, (2009).
- [65] M. Keddou, (2008) « Elaboration, caractérisation et application de membranes polymères à base de chitosane», Mémoire magistrale, Université M'Hamed Bouguera Boumerdes
- [66] Fernandez C.M, Heinamaki J, Rasanen M, Maunu S.L, Karjalainen M, Nieto Acosta O.M, Iraizoz Colarte A and Yliruusi J. (2004). Solid-state characterization of chitosans derived from, lobster chitin. Carbohydrate Polymers 58, pp. 401-408,
- [67] Pelletier A, Lemire I, Sygusch J, Chornet E and Overend R.P. (1990). Chitin Chitosan Transformation by Thermomechanicochemical Treatment Including Characterization by Enzymatic Depolymerization. Biotechnology and Bioengineering, 36(3). pp. 310-315.
- [68] Tao W and Svetlana Z. (2008). Determination of the degree of acetylation (DA) of chitin and chitosan by improved first derivative UV method, Carbohydrate polymers 73, pp. 248-253, 2.
- [69] Jiang X, Chen L and Zhong W. A (2003) new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan. Carbohydrate Polymers 54, pp. 457-463,
- [70] Krisana S, Sarintorn L. Werasak U and Suwalee C (1999) The relation ship between crystallinity and degree of acetylation of chitin from crab shell Journal of metals, materials and minerals, Vol 9. N°1, pp. 33-40.

Références bibliographiques

- [71] Peter M.G. (1995) Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. *J.M.S.-Pure Appl. Chem*, A32, pp.629-640.
- [72] Tolaimate A, J. Desbrieres M, Rhazi and Alagui A. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties *Polym* 44, pp. 7939-7952, 2003.
- [73] Lafleur C, (2008) «Evaluation d'un procédé de coagulation-floculation au chitosane pour l'enlèvement du phosphore dans les effluents piscicoles», Ecole de technologie supérieure Université du Québec, SODIM.
- [74] Mignotte O et al, (2012): «Dépolluer une eau avec des carapaces de crevettes ? Pas si complexe...», article, vol 106, Union des professeurs de physique et de chimie.
- [75] Ararem F., (2010). Synthèse et caractérisation de biopolymères. Application au piégeage de colorants, mémoire de magister de l'université d'Oran.
- [76] S. Wibowo... G Velazquez, V. Savant ET J.A. (2005). Torres Surimi washes water treatment for proteinrecovery, effect of chitosan-alginate complex concentration and treatment time on protein, adsorption *Biores, Techno.* 96 (6): 665-671.
- [77] M. Biotech. (2005). Utilisation du chitosane pour une réduction du phosphate à l'effluent d'entreprises aquacoles, 6 p.
- [78] B. Krajewska, (2005).Membrane-based processes performed with use of chitin/chitosan materials. *Separation and Purification Tech*, 41 (3): 305-312.
- [79] J. Du., Gemma. H. and Iwahori. S. (1997) Effect of Chitosan Coating on the Storage of Peach, Japanese Pear, and Kiwi fruit *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 66, 15-22,.
- [80] Y.P. Yang, Xu X- H., H.F. Chen.2004. Treatment of chitin-producing wastewater, by microelectrolysis-contact oxidization, *Journal of Zhejiang University Science.* 5 (4): 436-440
- [81] Copyrigh© 2000-2013 www.labo-hevea.com.
- [82] Rodriguez, C., Silva, G., Djair, V., (2003). Bases para el manejo racional de insecticidas : Insecticidas de origen vegetal. Facultad de Agronomia, Chile. Regnault-Roger, C., Staff, V., Philogène, B., Terron, P., Vincent, C., 2004. Biopesticidas d'origen vegetal. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- [83] Edqm, 2017, Huiles essentielles-Aetherolea, Pharmacopée Européenne,, 9ème éd
- [84] valnet Jean. (1964), Aromathérapie. Ed. Malouine. Parie. et nombreuses éditions ultérieures.
- [85] Catier O., Roux D. (2007), cahier du préparateur en pharmacie « botanique, pharmacognosie phytochimie plantes médicinales, 2e édition, technique documentation, parie p 406-410.

Références bibliographiques

- [86] Teuscheur E., Anton R., Lobstein A. (2005) : plantes aromatique : épices, aromates, condiments et huiles essentielles, tec et doc, parie, 522p.
- [87] D. Benmessaoud Left, M. Zertoubi, A. Irhzo, M. Azzi, revue, J. Mater. Environ. (2013), Sci. 4 (6) 855-866.
- [88] A. F. Gualdrón, E. N. Becerra, D. Y. Peña, J. C. Gutiérrez, H. Q. Becerra, J. Mater. (2013), Environ. Sci. 4 (1) 143-158.
- [89] G. Cristofari, M. Znini, L. Majidi, A. Bouyanzer 3, S. Al-deyab, J. Paolini, B. Hammouti ; J. Costa, Int. J. Electrochem. Sci., 6 (2011) 6699 - 6717.
- [90] Valnet, J. (1984), « Aromathérapie : traitement des maladies par les essences des plantes », Ed. Maloine. S.A, n°10.
- [91] Paris, M. and Hurabielle, M. (1981). Abrégé de matière végétale pharmacognosie. Tome 1. Généralités monographiques. Ed. Masson.
- [92] Bruneton J., (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. (Techniques et Documentation), Lavoisier (paris). 623p.
- [93] Boullard, B., (2001). Dictionnaire : plantes médicinales du monde. Réalité et Croyance. Ed. Estem. 636 p.
- [94] jean brineton. (1991), Pharmacognosie, phytochimie-plante médicinale, 3éme édition.
- [95] Zoubeidi, 2004. María Dolores Hernández¹ et all Chapitre 77 Huiles de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.)
- [96] Cecchini, T., Tieli, B., (2008). Les plantes médicinales. Reconnaître les plantes, faire des recettes, décoctions, onguents pour soigner et soulager les douleurs du quotidien. Ed. Devenchi. 351 p.
- [97] Teuscher, E., Anton, R., Lobstien, A., (2005). Plantes aromatique (épices, aromates, condiments et huiles essentielles).E d. Lavoisier ISBN. 522 P.
- [98] Ait Youssef, M., (2006). Plantes médicinales de Kabylie. Ed. Ibis press. 349 P.
- [99] Anton, R. et Lobstein, A., (2005). Plantes aromatiques (épices, aromates, condiments et huiles essentielles). Ed. Lavoisier ISBN. 522 P.
- [100] Boullard, B., 1988. Dictionnaire de botanique. E d. Marketing. 398 p.
- [101] Bossard, R., Cuisance, P., (1984). Arbustes d'ornement. Ed. Techniques et documentations. Lavoisier. 600 p.
- [102] Koubissi H., (1998). Encyclopidie des plantes médicinales. Ed. Dar el Beirut, pp.1-565.
- [103] Spichiger, R., Vincent. , Muriellefigrt, S., Jeanmonod, D., (2004). Botanique et systématique des plantes à fleurs. 3éme éd. P. P. U. R. 413 P.
- [104] collectif d'auteur, (2003) : la santé par les plantes p198.

Références bibliographiques

- [105] Bruneton, (1999) : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition,
- [106] Pharmacopée française, (1998), Xème édition 10(2) DAC : Rosmarin blatter.
- [107] Wichtl et Anton, (2003): Planes thérapeutiques. Edition Tec & Doc Lavoisier, Paris. P : 364, 523,538.
- [108] Beloued, (2005) : Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires, Alger. P : 184, 196, 206.
- [109] Gilly G. (2005) : Les plantes aromatiques et HE à grasse : botanique, culture, chimie, production et marché .Paris : L'Harmatta.
- [110] AtikBekkara et al, (2007) : Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. J Biologie& Santé vol. 7, n° 1,
- [111] Bozin et al. (2007): Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (Rosmarinus officinalis L. and Salvia officinalis L., Lamiaceae) essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007 ; 55 ; 7879-85.
- [112] Normes AFNOR, (1992), (105) Recueil des normes françaises. Huiles essentielles. AFNOR, Paris. Reetz, S. A. Quaiser, A. Chem. Int. (1995), Ed. 34 2240.
- [113] M. T. Reetz, W. Helbig , J. Am. Chem. Soc. (1994), 116, 7401.
- [114] M. T. Reetz , S. A. Quaiser, A . Chem . Int. (1995), Ed . 34 2240.
- [115] C.C Berry, S. Charles, S. Wells, M.J. Dalby and AS.G. Curtis, (2004), International Journal of Pharmaceutics. 269 225.
- [116] C.C Berry, S. Wells, S. Charles, G. Aitchison, G. and A.S.C. Curtis, Biomaterials.24 (2003), 4557.
- [117] J.R. Gur r, A.S.S. Wang, C. H, Chen and K.Y. Jan. Toxicology. 213 (2005) 66.
- [118] S.R. Kanel, J.M. Greneche and H. Choi, Environ. Sci. Technol. 40(2006) 2050.
- [119] S. Yean, L. Cong, C.T. Yavuz, J.T. Mayo, W.W. Yu, A.T. Kan, V. L. Colvin and M.B Tomson, J. Matter. Res.20 (2005)3264.
- [120] Bruneton J (1999). Pharmacognosie. Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème éd. Lavoisier. 1120p.
- [121] Roger, R., Philogene, JR., VIincent, C., (2002). Biopesticides d'origine végétale.Ed. Lavoisier. 337 p.
- [122] Lindberg A.E. Vitamin E: Nutrition, Side Effects, and Suppléments. . (2011). Nutrition and Diet Research Progress. Nova Science Publishers, Inc. New York. P 2.

Références bibliographiques

- [123] Perly B. Smith I.C.P. Hughes L. Burton G.W. & Ingold K.U. (1985), Estimation of the location of natural α -tocopherol in lipid bilayers by ^{13}C -NMR spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. VI 819, (September). P 131-135.
- [124] A. Bjorneboe, G.E. Bjorneboe, C.A. Drevon, 1989, Transport and Distribution of Vitamin E. Critical Review. *Journal of nutrition*. National Institute of Forensic Toxicology and institute for Nutrition Research, University of Oslo. Norway,
- [125] K. Pehr, MD. R. Roy Forsey: 1993. Why don't we use vitamin E in dermatology, E pdf.
- [126] E. Der Würde Eines, (2008), Diastereoselective synthesis of α -tocopherol, These de Doctorat, Université Basel,
- [127] J. Texier, (1989), Les vitamines, Editions JIBENA, pages 99 à 106.
- [128] M-C. KIBANGADI, (1998), Beta-carotène et vitamines A et E chez l'enfant, Thèse de Doctorat. Université Pierre et Marie Curie,
- [129] Unlimited DSM, Vitamine E.
- [130] C. Gagnon, (2005), la vitamine E : fertilité et combativité,
- [131] Daoud L. & Ouyahia, (2016). E.D. Préparation, optimisation et caractérisation des liposomes de vitamine E. Mémoire de master. Université A. Mira-Bejaia.
- [132] C.Cuvelier, O. Dotreppe et L. Istass : Sources alimentaires et dosage de la vitamine Claude Fernand Bourgeois : les vitamines dans l'industrie agroalimentaires. ISSN: 0243-5624. ISBN: 2-7430-0524-6. Editions Tec-Doc (2003).
- [133] Daoud L. & Ouyahia, (2016). E.D. Préparation, optimisation et caractérisation des liposomes de vitamine E. Mémoire de master. Université A. Mira-Bejaia.
- [134] Chafia Mammasse et Sara Matoube : (2013), Etude de l'impact des cyclodextrines sur la solubilité de la vitamine E et du cholestérol
- [135] M. E. Escuderos, A A. Sayago, B M. T. Morales and R. Aparicio (2009), Evaluation of α -tocopherol in virgin olive oil by a luminiscent method. *GRASAS Y ACEITES*, 60 (4), 336-342. ISSN: 0017-3495, DOI: 10.3989/gya.108308. Juillet- September.
- [136] Balasulojini Karunanandaa, Qungang Qia, Ming Hao, Susan R. Baszis, Pamela K. Jensen, Yun-Hua H. Wong, Jian Jiang, Mylavarapu Venkatramesh, Kenneth J. Gruys, Farhad Moshiri, Dusty Post-Beittenmiller, James D. Weissa, Henry E. Valentin, 2005, Metabolically engineered oilseed crops with enhanced seed tocopherol. Article du press. Science direct. *Metabolic Engineering*. 30 janvier.
- [137] Cristina M. Sabliov C. Fronczek C. E. Astete M. Khachatryan L. Khachatryan C. Leonard (2009), Effects of Temperature and UV Light on Degradation of α -Tocopherol in Free

Références bibliographiques

and Dissolved Form. *J Am OilChem Soc* 86:895–902. DOI 10.1007/s11746-009-1411-6. 21 juin.

[138] Hedhili Lassaad : Les antioxydants dans les aliments. Agence Universitaire de phrancophonie ; IPEIN de Nabeu TINISIE. 7 Novembre a Carthage.

[139] Maria Laura Colombo, (2010), An update on vitamin E, tocopherol and tocotrienol-Perspectives. Review. *Molécule* doi:10.3390/molecules 15042103. ISSN 1420-3049. Université Torino Italie. 24 Mars.

[140] Céline Chanforan, (2010), Stabilité de micro constituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

[141] Pauline Elisabeth Pidou, (2010), La vitamine E chez le cheval : Synthèse bibliographique. Thèse Doctorat vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse.

[142] Vincent Gembus, 11 mai (2006), Sur quelques utilisations d'époxydes en synthèse organique ; nouvelles voies d'accès au tocophérol et synthèse formelle de la borrelidine. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur.

[143] Erlangung Der WürdeEines, (2008), Diastereo selective synthesis of α -tocopherol. These de Doctorat. Universität Basel.

[144] Cuvelier C, Dotreppe O., Istasse I, (2003), Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine, E. Université de Liège B43, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgique.

[145] Vincent Gembus, (2006), Sur quelques utilisations d'époxydes en synthèse organique nouvelles voies d'accès au tocophérol et synthèse formelle de la borrelidine. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur.

[146] Michèle Ake, (1999), Vitamines A, E et fer: statut de l'enfant d'âge préscolaire en Côte D'ivoire. Apports en nutriments de l'alimentation traditionnelle. Thèse de Doctorat. Université Montpellier-I.

[147] Jennifer Hillan, (2006), Facts about vitamin E. IFAS Extension. FCS8641. Université de Florida.

[148] Daoud L. & Ouyahia E.D. (2016), Préparation, optimisation et caractérisation des liposomes de vitamine E. Mémoire de master. Université A. Mira-Bejaia.

[149] Iguer-ouada M. (2016), Effect of cyclodextrins, cholesterol and vitamin E and their complexation on cryopreserved epididymal ram semen. Small rumi.

Références bibliographiques

- [150] Leger C.L, (2000), La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardio-vasculaire, biodisponibilité. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Volume 7, Numéro 3, P 65-258.
- [151] Souto, E. B., Wissing, S. A., Barbosa, C. M., & Müller, R. H. (2007). Evaluation of the physical stability of SLN and NLC before and after incorporation into hydrogel formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67(1), 125-132.
- [152] Torchilin, V. P. (2005). Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(2), 145-160.
- [153] Allen, T. M., & Cullis, P. R. (2013). Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(1), 36-48.
- [154] Draget, K. I., Skjåk-Bræk, G., & Stokke, B. T. (2011). Alginate based new materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 16(6), 309-311.
- [155] Loftsson, T., & Brewster, M. E. (2012). Cyclodextrins as functional excipients: methods to enhance complexation efficiency. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101(9), 3019-3032.
- [156] Crowley, M. M., & Martini, L. G. (2001). Solubility enhancement by complexation. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*.
- [157] Jain A & Jain SK (2016) *Chem. Phys.Lipids* 201, 28-40.
- [158] Costa P & Lobo JMS (2001) *Eur.J.Pharmaci* 13, 123-133
- [159] Dhanasekaran S, Rameshthangan P, Venkatsen S , singh SK& Vijayan SR (2018) *J. Polym.EnvIRON* 26, 4095-4113.
- [160] Singh RP, Gangadharappa HV & Mruthunjaya K (2018) *European Eur.J.Pharmaci* 122, 124-229
- [161] Petrovi'c S, Ta'ci' A , Savi'c S, Nikoli'c V, Nikoli'c L & Savi'c S (2017) *Saudi Pharm. J* 25, 1194-1200
- [162] Ying, X., Wang, Q., Xie, H., Zhu, X., Liang, J., & Li, S. (2011). Improved oral bioavailability of poorly water-soluble drugs using liposomal delivery systems: an in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(9), 1230-1238.
- [163] Singh, R., Singh, S., & Lillard, J. W. (2017). Past, present, and future technologies for oral delivery of therapeutic proteins. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106(1), 25-42.
- [164] Bucak, M. N., Ataman, M. B., & Saçan, Ö. (2010). The influence of antioxidants and oxidative stress on the viability of spermatozoa. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 34(2), 1-9.

Résumé

Le projet « stratégie d'encapsulation pour améliorer la solubilité des principes actifs hydrophobes » vise à résoudre le défi de la faible solubilité des agents hydrophobes dans les domaines tels que la pharmacologie et l'industrie alimentaire. En utilisant des approches innovantes d'encapsulation, le projet cherche à maximiser la solubilité de ces principes actifs pour permettre une meilleure absorption et une libération contrôlée. Les stratégies avancées comprennent la microencapsulation, les polymères amphiphiles et les systèmes de libération contrôlée, avec l'objectif de créer des formulations stables, biodisponibles et efficaces. L'objectif ultime est de développer des solutions novatrices pour améliorer significativement la solubilité des principes actifs hydrophobes, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives dans le domaine médical, pharmaceutique et alimentaire. Ce projet représente une avancée majeure dans le domaine de l'encapsulation, offrant des perspectives prometteuses pour surmonter les obstacles associés à l'hydrophobie des agents actifs.

Mots clés : Encapsulation, solubilité, Principes actifs, hydrophobes.

Abstract

The project "encapsulation strategy to improve the solubility of hydrophobic active ingredients" aims to solve the challenge of low solubility of hydrophobic agents in fields such as pharmacology and the food industry. Using innovative encapsulation approaches, the project seeks to maximize the solubility of these active ingredients to allow better absorption and release. Advanced strategies include microencapsulation, amphiphilic polymers and controlled release systems, with the aim of creating stable, bioavailable and effective formulations. The ultimate objective is to develop innovative solutions to significantly improve the solubility of hydrophobic active ingredients, thus opening new perspectives in the medical, pharmaceutical and food fields. This project represents a major advance in the field of encapsulation, offering promising prospects for overcoming the obstacles associated with the hydrophobicity of active agents.

Key words: Encapsulation, solubility, Active ingredients, hydrophobic.