

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE BLIDA 1
Faculté Des Sciences Technologiques
Département de Chimie industrielle



MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL

En Génie Des Procédés
Spécialité : Pharmacie Industrielle

**Contribution à l'étude du procédé de microenrobage des
antioxydants naturels extraits des feuilles de la sauge
(salviaofficinalis)**

Par
Bensaïbi Ibrahim

Devant le jury :

A. Hadj-Ziane
Y.Nait Bachir

Professeur
Doctorant

Université de Blida 1 Promotrice
Université de Blida 1 Co-Promoteur

Promotion 2014/2015

Résumé

Au cours de cette étude, nous avons extrait les composés bioactifs de la plante médicinale *salvia officinalis* (la sauge), par le montage Soxhlet, en utilisant trois solvants à différentes polarités (l'éthanol, le dichlorométhane et l'hexane) en utilisant la méthode des plans d'expériences en variant deux paramètres, le temps d'extraction et la puissance de chauffage. Le meilleur résultat a été obtenu par l'éthanol avec un rendement de **27.10 %**, les polyphénols totaux ont été quantifiés par spectrophotométrie UV-VIS par la méthode du réactif Folin-Ciocalteu, l'extrait éthanolique a donné une valeur de **174 mg EAG/mg**.

Ensuite le procédé de microencapsulation des molécules bioactives extraites a été étudié et optimisé par la méthode des plans d'expériences en variant les ratios pectine : gélatine, noyau : paroi et la quantité de l'agent de durcissement, le taux d'encapsulation maximale s'élève à **74,31%**.

Enfin l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vivo a été évaluée sur les souris en utilisant la méthode de l'œdème de la patte induit par la carragénine, nous avons obtenu un pourcentage de réduction de l'œdème de **51.53 %**.

ملخص

وخلال هذه الدراسة، ونحن استخراج المركبات النشطة بيولوجيا من المخزنية المريمية النباتات الطبية (حكيم)، وذلك باستخدام سوكليت متزايدة، وذلك باستخدام ثلاثة المذيبات القطبية مختلفة (الإيثانول، ثنائي كلورو ميثان والهكسان) باستخدام طرق تصميم التجارب متفاوتة معلمتين، والوقت الاستخراج وقوة التدفئة. تم الحصول على افضل نتيجة الايثانول مع العائد من 27.10٪، وتم قياس كمية إجمالية البوليفينول التي كتبها القياس الطيفي للأشعة فوق البنفسجية VIS باستخدام أسلوب فولين-Ciocalteu الكاشف، أعطى استخراج الإيثانول قيمتها 174 ملغ / EAG / ملغ. ثم تمت دراسة عملية الكبسلة من الجزيئات الحيوية النشطة المستخرجة والأمثل من خلال تصميم أسلوب تجارب متفاوتة التمويينية البكتين: الجيلاتين، جوهر: الجدار ومبلغ وكيل علاج، والحد الأقصى التغليف الصورة عالية طالب لديه 74.31٪. وأخيرا تم تقييم تقييم النشاط المضادة للالتهابات في الجسم الحي في الفئران باستخدام طريقة ذمة مخلب الناجمة عن الكاراجينان، حصلنا على نسبة تخفيض ذمة من 51.53٪.

Summary

In this study, we extract the bioactive compounds of medicinal plant *Salvia officinalis* (sage) by Soxhlet mounting, using three different polarity solvent (ethanol, dichloromethane and hexane) using methods of design of experiments by varying two parameters, the extraction time and the heating power. The best result was obtained by ethanol with a yield of 27.10%, total polyphenols were quantified by UV-VIS spectrophotometry using the method of Folin-Ciocalteu reagent, the ethanol extract gave a value of 174 mg EAG / mg.

Then the microencapsulation process of bioactive molecules extracted has been studied and optimized by experimental design method of varying the pectin rations: gelatin, core: wall and the amount of the curing agent, the maximum encapsulation expensive s student has 74.31%.

Finally the evaluation of the anti-inflammatory activity in vivo was assessed in mice using the method of the paw edema induced by carrageenan, we obtained a percentage of edema reduction of 51.53% .

Sommaire

CHAPITRE I : LA PHYTOTHERAPIE ET LES PLANTES MEDICINALES

- I.1. Définition :2
- I.2. Historique :2
- I.3. Les plantes médicinales :2
- I.4. La sauge (*salvia officinalis*) :3
 - I.4.1. Historique de la sauge :3
 - I.4.2. Presentation de la sauge (S. Officinalis) :3
 - I.4.3. Description botanique de S. Officinalis : 3
 - I.4.4. La systématique de la sauge : 4
 - I.4.5. La composition chimique de la sauge :5
 - I.4.6. Les principes actifs : 5
 - I.4.7. La place de la sauge en phytothérapie :5
- I.5. Les composés phénoliques:6
- I.6. L'activité antioxydante et les antioxydants :6
 - I.6.1. Les antioxydants primaires :7
 - I.6. 2. Les antioxydants secondaires :7
- I.7. L'analyses physico chimiques: 7
 - I.7.1. Dosage des polyphénols : 7
 - I.7.2. La chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC :7
- I.8. Les activités biologiques :8
 - I.8.1. Activité anti-inflammatoire (œdème de la pate induit par la carragénine) :8

CHAPITRE II : EXTRACTION DES MOLECULES BIOACTIVES.

II.1. Extraction solide-liquide :10

II.2. Les techniques d'extraction : 10

II.2.1 Technique conventionnelles : 10

II.2.2 Technique non-conventionnelles : 12

II.2.2. Les paramètres de base qui influencent la qualité de l'extrait :13

II.2.3. Le pouvoir extractif :13

CHAPITRE III : LA MICROENCAPSULATION DES MOLECULES BIOACTIVES

III.1. La microencapsulation :14

III.1.1. Classification des microparticules : 14

III.2. Les techniques d'encapsulation : 16

III 2.1. Procédés d'encapsulation chimiques : 17

III.2.2. Procédés d'encapsulation physico-chimiques :17

III.2.2.1. La coacervation :17

III.2.2.1.1. Coacervation complexe :17

III.2.2.1.2. Coacervation simple : 18

III.3. Facteurs influençant la formation de complexes :18

III.4. Microparticule et ses composés :19

III.4.1. Matière enrobante :19

III.4.1.1. La pectine: 19

CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODES

IV.1.matériel :20

IV.1.1.matériel végétal :20

IV.1.1.1. La cueillette de la sauge :	20
IV.1.1.2.prétraitement de la sauge :	20
IV.1.2. Les produits chimiques utilisés :	20
IV.1.3.Systèmes et dispositifs de l'extraction :	21
IV.2. Extractions des molécules bioactives a partir de la sauge.	22
IV.2.1. Optimisations des procédés d'extraction par soxhlet en utilisant un plan d'expérience.	22
IV.2.1.1.. Les paramètres expérimentaux du plan d'expériences :	23
Iv.2.1.2.Évaluation de la réponse :	23
IV.2.1.3.Modélisation mathématiques du plan d'expériences :	23
IV.2.1.4. Détermination du rendement :	24
IV.2.1.5. Détermination de l'énergie d'extraction :	24
IV.3. Dosage de polyphénols :	24
IV.4. La microencapsulation de l'extrait :	25
IV.4.1.2. Préparation des microcapsules :	25
IV.4.1.3.optimsationdu procédé de microencapsulation :	26
IV.4.1.4.caractérisation des microcapsules :	27
Iv.5. Etude de l'activité anti inflammatoire in-vivo :	28

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION

V.1.Optimisation des paramètres d'extractions :	32
V.1.1.Extraction éthanoïque :	32
V.1.1.1.Effets des facteurs étudiés sur les réponses :	32
V.1.1.2. Estimation des effets principaux, des effets et des interactions sur les réponses :	34
V.1.1.2.1.Influence des facteurs sur le rendement :	34

V.1.1.2.2 : influence des facteurs sur l'énergie d'extraction : 35

V.1.1.2.3 : influence des facteurs sur le dosage de polyphénols : 35

V.1.1.3: modélisations mathématiques de l'extraction de *salvai officinatrice l.* De l'extrait éthanoïque :36

V.1.2.extraction avec le dichlorométhane : 37

V.1.3.extraction avec l'hexane :41

V.1.4.discussion : 47

V.1.4. Conclusion : 47

V.2 : quantification des polyphénols dans l'extrait brut des différents solvants :46

V.2.3. Discussion :47

V.2.4. Conclusion :48

V.3.études de procédés de la microencapsulation :50

V.3.1.optimisation du procédé de microencapsulation :50

v.3.1.3 :effet des différents facteurs sur les réponses étudiées :52

V.3.1.4. Modélisation mathématique de l'optimisation de procédé de microencapsualtion des extraits de sauge.

V.3.2.Discussions :58

V. 4 : Activité anti-inflammatoire: 59

Liste des figures

Figure II.1 : Montage de l'hydrodistillation 11

Figure II.1 : Montage de l'hydrodistillation 12

Figure III.1 : Morphologie de particules obtenues par microencapsulation : (a) microcapsule simple, (b) microsphère simple, (c) microcapsule multienvelope, (d) microsphère avec double cœur actif/multienvelope. 15

Figure III.2 : Principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe : (a) matière active dispersée dans la solution de polymère (protéine/polysaccharide), (b) coacervation à la surface de matière active, (c) formation d'enrobage continu et (d) réticulation d'enrobage.18

Figure III.3 : Structure de la pectine. 19

Figure IV.1 : Un dispositif de Soxhlet. 21

Figure IV.2 : Rotavapor. 22

Figure IV.3 : Les Solutions de courbe d'étalonnage de l'acide gallique et les échantillons de trois solvan.25

Figure IV.4 : L'appareil UV.25

Figure IV.3 : Microscope optique Olympus BX60. 28

Figure IV.4 : les quatre lots de souris. 29

Figure IV.5: Photo de gavage des souris. 30

Figure IV.6: l'injection de la carragénine. 31

Figure IV.7: Sacrifier des souris et couper les pattes.31

Figure V.1.1 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur le rendement.33

Figure V.1.2 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur l'énergie d'extraction.33

Figure V.1.3 :Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur le dosage de polyphénols.34

Figure V.1.4 : Courbe d'iso réponse montrant la variation de rendement en fonction de la puissance et le temps d'extraction pour l'éthanol.34

Figure V.1.5 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur l'énergie d'extraction.35

Figure V.1.6 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur l'énergie d'extraction.36

Figure V.2.1 : L'influence de temps et de puissance sur le rendement.38

Figure V.2.2 : L'influence de temps et de puissance sur l'énergie d'extraction.38

Figure V.2.3 : L'influence de temps et de puissance sur le dosage de polyphénol.39

Figure V.2.4 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur le rendement.39

Figure V.2.5 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur l'Énergie d'extraction.40

Figure V.2.6 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur le dosage des polyphénols.40

Figure V.3.1 : Courbes d'iso réponse montrant l'effet de la puissance et de la durée d'extraction sur le rendement.42

Figure V.3.2 : Courbes d'iso réponse montrant l'effet de la puissance et de la durée d'extraction sur l'énergie d'extraction.43

Figure V.3.3 : Courbes d'iso réponse montrant l'effet de la puissance et de la durée d'extraction sur le dosage des polyphénols.43

Figure V.3.4 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur le rendement.44

Figure V.3.5 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur l'Énergie d'extraction.45

Figure V.3.6 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur dosage des polyphénols.45

Figure V.3.7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.48

Figure V.4.1 : Les expériences apres l'ajustement de $\text{pH} = 4$. 50

Figure V.4.2 : Photographies d'observation obtenue par microscope optique des huit expériences.51

Figure V.4.3. Coefficients du modèle pour le rendement.52

Figure V.4.4 : Coefficients du modèle pour le taux d'encapsulation.52

Figure V.4.5 : Courbes d'iso réponses obtenues, montrant l'effet de ratio noyau : paroi et $G : P$ sur le rendement.53

Figure V.4.6 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant l'effet de ratio $G : P$ et l'agent de durcissement sur le rendement.54

Figure V.4.7 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant l'effet de l'agent de durcissement et de ratio noyau : paroi sur le rendement.55

Figure V.4.8 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant les effets de ratio noyau : paroi et ratio G : P sur le taux d'encapsulation.55

Figure V.4.9 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant l'effet de ratio G :P et l'agent de durcissement sur le taux d'encapsulation.56

Figure V.4.10 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant l'effet de l'agent de durcissement et de ratio noyau : paroi.57

Figure V.5.1: Evolution des poids moyennnes des pattes droites et pattes gauches des souris des quatre lots.60

Figure V.5.2 : Le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gouches par rapport aux pattes droites des quatre lots.61

Figure V.5.3 : Le pourcentage de réduction de l'œdème de lot de référence et les deux lots d'essai par rapport ou témoin.61

Liste des Tableaux

Tableau II.1 : Caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés dans l'extraction des composants aromatiques et médicinaux.13

Tableau III.1 : Procédés de microencapsulation.16

Tableau IV.1 : Tableau récapitulatif des caractéristiques des solvants utilisés.23

Tableau IV.2 : Tableau récapitulatifs de facteurs avec des niveaux choisis.23

Tableau IV.3 : Essais du plan d'expérience : matrice des facteurs et des réponses pris en considération dans le plan d'expériences.26

Tableau IV.4 : Les niveaux haut et bas des facteurs.27

Tableau V.1.1 : Matrice expérimentale du plan d'expériences factoriel complet pour l'extraction d'éthanol à deux niveaux pour les deux facteurs étudiés.32

Tableau V.1.2 : Les niveaux haut et bas des facteurs pour l'extraction d'éthanol.32

Tableau V.2 : Matrice expérimentale du plan d'expériences factoriel complet pour l'extraction DCM à deux niveaux pour les deux facteurs étudiés.37

Tableau V.2.1 : Les niveaux haut et bas des facteurs pour l'extraction DCM.37

Tableau V.3. Matrice expérimentale du plan d'expériences factoriel complet pour l'extraction d'Hexane à deux niveaux pour les deux facteurs étudiés.42

Tableau V.3 : Les niveaux haut et bas des facteurs pour l'extraction d'Hexane.42

Tableau VII.4 : Aspects, couleurs et rendements des extraits de la partie aérienne de *Salvai officinalis L.*47

Tableau V.5. : Les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques totaux.48

Tableau V.6 : Les résultats de l'optimisation des procédés de la microencapsulation.52

Tableau V.7 : Les niveaux haut et bas des facteurs pour l'extraction d'Hexane.52

Tableau V.8: Récapitulation des résultats de l'administration des extraits de plante sur les souris albinos.60

Introduction générale

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des produits chimiques agissant directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. En effet, les produits chimiques auxquels les plantes médicinales leur doivent plus souvent, leurs propriétés, appartiennent à cette catégorie de substances qu'on range habituellement aujourd'hui parmi les métabolites secondaires : les polyphénols, les flavonoides, les alcaloïdes, hétérosides, essences à terpènes, ou dérivés du phényle propane (cinnamiques, ...etc.), lignines, résines, gommages...etc.

En dehors des plantes médicinales classiques, souvent officinales, connues et utilisées depuis plus ou moins longtemps, il reste encore beaucoup à faire pour dresser l'inventaire complet des espèces susceptibles d'application thérapeutique, il faudra étudier toutes les plantes utilisées en médecine populaire indigène.

Dans ce contexte précis, notre contribution consiste en l'optimisation des paramètres d'extraction des molécules bioactives d'une espèce végétale très disponible en Algérie ; il s'agit de *Salvia officinalis* et de les encapsuler par microencapsulation en optimisant les paramètres opératoires dans l'objectif principal de concevoir une nouvelle forme à libération prolongée du principe actif

Pour ce faire, nous nous sommes proposé de caractériser en premier lieu qualitativement et quantitativement les polyphénols contenus dans cette plante et l'évaluation de leur activité anti-inflammatoire par des tests in-vivo

A cet effet, le présent mémoire est structuré comme suit :

- ✓ Une synthèse bibliographique présentant des notions théoriques sur la phytothérapie et les plantes médicinales suivie d'une description des méthodes d'extraction des molécules bioactives pour finir avec les procédés de microencapsulation des molécules bioactives.

- ✓ Une partie Expérimentale dans laquelle sont exposés les procédés d'extraction des molécules bioactives à partir de la sauge moyennant la stratégie des plans d'expérience ainsi que les analyses physico-chimiques et spectroscopiques de l'extrait. L'optimisation des conditions opératoires de la microencapsulation de l'extrait est ensuite détaillée suivie en dernier lieu par l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire.
- ✓ Enfin ce mémoire est achevé par une conclusion générale dans laquelle sont exposés les principaux résultats auxquels cette étude a abouti avec des recommandations et perspectives à entreprendre pour la poursuite et la continuité de cette étude.

En dernier lieu, il est souhaitable que notre travail contribue à l'enrichissement de la base de données sur les plantes médicinales et leurs vertus thérapeutiques répertoriées en Algérie, pays très riche en ressources naturelles.

LA PHYTOTHERAPIE ET LES PLANTES MEDICINALES

I.1. Définition :

Le terme « Phytothérapie », provient du grec « phyton », qui signifie « plante », et « thérapie », « soigner ». La Phytothérapie correspond donc à l'usage des plantes médicinales en thérapeutique. [1]

I.2. Historique :

L'histoire de la phytothérapie se confond avec celle de la médecine. Dès les origines, l'homme a su puiser dans le monde végétal qui l'entourait des aliments, des remèdes, et sans aucun doute des poisons. Cependant, le simple fait d'avoir utilisé quelques plantes à usage thérapeutique ne confère pas à l'homme préhistorique le privilège d'avoir fondé la phytothérapie. Il existe une longue période, depuis plusieurs dizaines de milliers d'années, jusqu'à « - 4000 ans environs », au cours de laquelle « le savoir » se constitue peu à peu. [1]

L'empirisme a joué un grand rôle dans le développement de la phytothérapie. En effet, c'est un savoir fondé sur l'expérience, par opposition à celui qui découle de l'instinct, basé sur des essais et des erreurs successifs.

Les premiers textes médicaux mésopotamiens, égyptiens, indiens, chinois remontent à « - 3000, - 4000 ans » avant l'époque actuelle.

A partir du XIXème siècle, la recherche vise à isoler de la plante, le principe actif, c'est-à-dire la substance active pour une pathologie donnée. C'est une nouvelle ère des médicaments qui commence, avec le développement de la synthèse chimique à partir des végétaux, qui permet d'obtenir des molécules de plus en plus complexes et de plus en plus actives. [1]

I.3. Les plantes médicinales :

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes à fin de soigner les différentes maladies, jusqu'à maintenant les plantes sont encore destinées à la santé humaine malgré les efforts des chimistes qui essayent de synthétiser de nouvelles molécules. D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes.

Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques.

Les plantes aromatiques sont caractérisées par leur richesse en principes actifs et en substances telles que les polyphénols et les flavonoïdes, les terpènes etc. Qui sont dotées des propriétés importantes et différentes. [2]

I.4. La sauge (*salvia officinalis*) :

I.4.1. Historique de la sauge :

Le nom *salvia* vient du latin « *salvare* » qui signifie « sauver, guérir » et « *officinale* », veut dire « médicinale ».

La sauge est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des labiées. Il existe 900 espèces identifiées autour du monde [3]. En Algérie les espèces qui ont été déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine. Plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment « *essalma* » qui ajoute qu'elle est appelée « *salbia* » par les botanistes espagnols. El djazairi indique l'expression « *souek ennbi* » comme synonyme de *saleme*. [4]

Les sauges ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour le soulagement de la douleur, la protection du corps contre le stress oxydatif, les dommages des radicaux libres, l'inflammation, les infections bactériennes et virus, etc.,. Plusieurs études suggèrent que la sauge espèce peut être considérée pour le développement de médicaments en raison de leur pharmacologie signalée et les activités thérapeutiques dans de nombreux pays d'Asie et du Moyen-Orient, notamment la Chine et l'Inde.

Ces études suggèrent que les espèces *Salvia*, en plus de traiter les maladies courantes mineures, pourraient potentiellement fournir des traitements naturels nouveaux pour le soulagement ou la guérison de nombreuses maladies graves et potentiellement mortelles telles que la dépression, l'obésité, le diabète, les maladies cardiaques, et le cancer. [3]

I.4.2. PRESENTATION DE LA SAUGE (*Salvia officinalis*) :

I.4.3. Description botanique de *S. officinalis* :

La sauge officinale est un sous-arbuste aromatique persistant, très ramifié touffu atteignant de 70 à 80 cm de hauteur, dans son habitat naturel, de port étalé à dressé, devenant ligneux à la base. Les fleurs sont odorantes, mellifères, regroupées par 4 à 12 en une inflorescence située à l'extrémité des rameaux et constituent une cyme unipare, elles sont zygomorphes, faiblement pédicellées. (figure1) [5]



Figure I.1 : Aspect morphologique de salvia officinalis [3]

Les feuilles sont gris-verdâtres feutrées de 3 à 8 cm de long et 3 à 4 cm de large (figure 2). [5]



Figure I.2 : Les feuilles salvia officinalis [3]

I.4.4. La Systématique de la sauge :

La sauge est classée comme suit : [4]

Règne :	plante
Embranchement :	spermaphytes
Sous embranchement :	angiospermes
Classe :	dicotylédones
Ordre :	lamiales
Famille :	labiacées
Genre :	salvia
Espèce :	salvia officinalis L

I.4.5. La Composition chimique de la sauge :

La Sauge est également une source naturelle de flavonoïdes et des composés polyphénoliques [Figure 3] (par exemple, l'acide carnosique, l'acide rosmarinique et l'acide caféique) possédant une forte antioxydant, antiradicalaire et une activité antibactérienne.

La majorité des acides phénoliques dans *Salvia* sont des dérivés de l'acide caféique, qui est le bloc de construction d'une variété de métabolites végétaux.

L'acide caféique joue un rôle central dans la biochimie des plantes, et se produit principalement sous une forme dimère comme l'acide rosmarinique. L'acide carnosique et l'acide rosmarinique, qui sont présents à des concentrations élevées dans l'extrait de plantes de sauge, ont montré de fortes propriétés antioxydantes. [3]

L'acide ursolique, également une composante de la sauge, possède des propriétés anti-inflammatoires puissantes, et dans la préparation de sauge, il est considéré comme une mesure de contrôle de qualité pour les effets anti-inflammatoires des solutions différentes.[6]

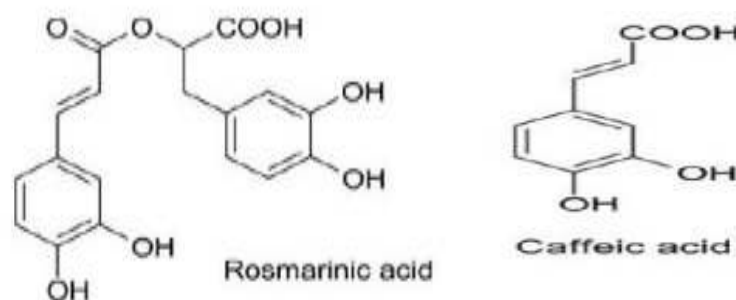


Figure I.3 : les flavonoïdes et les composés polyphénoliques dans la sauge

I.4.6. Les principes actifs :

La plante contient de l'huile essentielle (les cétones monoterpéniques sont considérées des constituantes principales), des tanins catéchiques, des acides polyphénolcarboxyliques (rosmarinique, caféique, chlorogénique, p-coumarique, férulique), des principes amers diterpéniques, des triterpènes pentacycliques (acides ursolique, cartegolique, oléanolique etc...), des phytostérols, ds flavones.[4]

I.4.7. La Place de la sauge en phytothérapie :

La sauge est l'une des plantes les plus utilisées, vu ses propriétés importantes ; elle est considérée comme un stimulant pour les gens anémiques, aussi pour les personnes stressées et déprimées, et conseillée pour les étudiants en période d'examen.

Partie bibliographique Chapitre I

Pour usage externe, elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès, et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies.

Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement des plusieurs maladies de la circulation sanguine et les troubles digestifs et les problèmes du système nerveux . Cette herbe aromatique est employée dans la cuisine, pour son gout puissant, légèrement amer et comphré [8].

I.5. Les composés phénoliques:

Pour le chimiste, un composé phénolique est caractérisé par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction :

éther, ester, hétéroside. et pour le phytochimiste , un composé phénolique est un dérivé non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide chimique et/ou de celui d'un polyacétate.

Ces deux voies d'aromagenèse sont en effet sauf rares exception celles qui permettent au végétal de construire le noyau aromatique:

- La voie de l'acide shikimique conduit aux acides cinamiques et à leurs dérivés: acides benzoïques et phénylpropanoïques, acétophenones, lignanes et lignines, coumarines.
- La voie de l'acétate conduit par cyclisation d'un polyacétate aux chromones, orcinols et autres quinones.
- La participation simultanée de ces deux précurseurs à un même processus conduit pour sa part [9].

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits [10].

I.6. L'Activité antioxydante et les antioxydants :

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydants sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH[•]) et superoxydes (O[•]2) [11].

Les antioxydants sont des molécules qui aident le corps à lutter contre les radicaux libres en les neutralisant, afin qu'ils deviennent inoffensifs [12], ils peuvent être classés en deux groupes selon le niveau de leur action : les antioxydants primaires et les antioxydants secondaires.

I.6.1. Les antioxydants primaires

Ils sont appelés également les antioxydants vrais ou antioxydants radicalaires, sont des molécules (notées AH) capables d'interrompre la chaîne auto catalytique de l'oxydation en bloquant les radicaux lipidiques $R^\bullet$ et $ROO^\bullet$ par transfert d'un atome d'hydrogène pour reformer RH et ROOH. De la même manière, ils peuvent transformer les radicaux $RO^\bullet$ en ROH, bloquant ainsi la formation des aldéhydes [13].

I.6. 2. Les antioxydants secondaires

Ils sont appelés aussi préventifs qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des molécules exogènes ; des substances décomposant les hydro-péroxydes en alcools, des thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou des disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV [14], Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes [15].

I.7. L'Analyses physico chimiques:

I.7.1. Dosage des polyphénols :

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules végétales, dont leur nature chimique et teneurs sont extrêmement variables d'une espèce à autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des phénols totaux. L'analyse par le réactif de Folin Ciocalteu est la plus utilisée.

Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé. [10]

I.7.2. La Chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC [16]

La chromatographie en phase liquide à haute performance (l'abréviation anglaise HPLC - High Performance Liquid Chromatography est plus fréquemment utilisé) est une technique de séparation analytique basée sur l'hydrophobicité des molécules d'un composé ou d'un mélange de composés. L'échantillon à analyser est poussé par un éluant liquide (appelée aussi phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire composée de grains solides très fins.

Le débit d'éluant est assuré par une pompe à haute pression. Dans la colonne, les divers composés de l'échantillon sont séparés l'un de l'autre en raison de leurs diverses affinités à l'égard des deux phases – stationnaire et mobile. A la sortie de la colonne les composés sont détectés à l'aide d'un détecteur (pouvant être UV, IR etc.).

Dans nos études, des détecteurs UV basés sur la mesure de la longueur d'onde des composés ont été utilisés [17].

Le schéma (fig. I.4.) présente le principe général de la méthode.

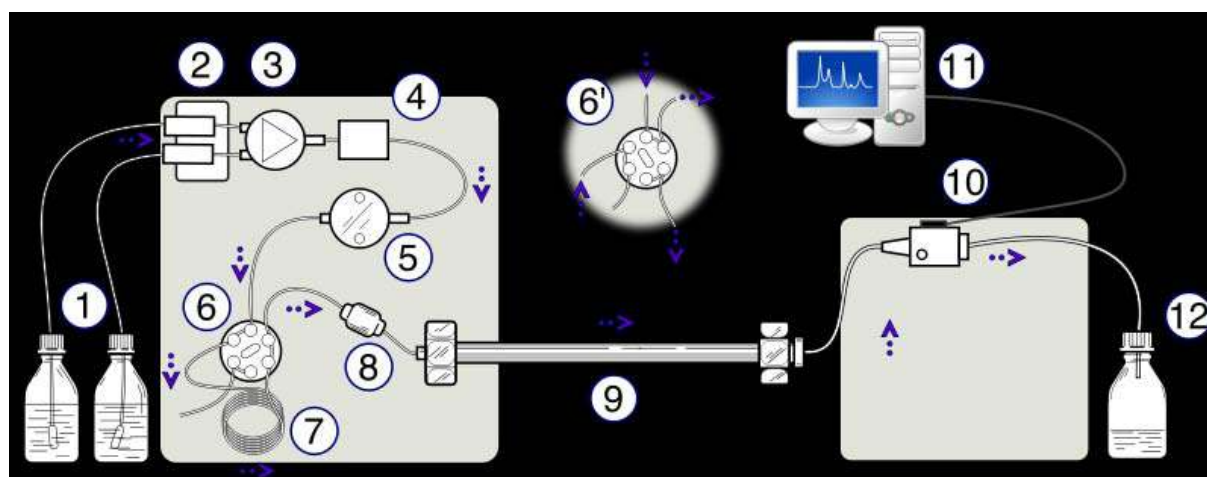


Figure I.4 : Schéma principal de la chromatographie en phase liquide à haute performance. 1- Réservoirs des solvants, 2 - Dégazeur, 3 - Valve de gradient d'élution, 4 - Doseur de phase mobile (ou éluant), 5 - Pompe à haute pression, 6 - Vanne d'injection en position "inject", 6' - Vanne d'injection en position "load", 7 - Boucle d'injection de l'échantillon, 8 - Précolonne (éventuelle), 9 - Colonne analytique, 10 - Détecteur, 11 - Acquisition du signal, 12 - Décharge déchets.

I.8. Les Activités biologiques :

I.8.1. Activité anti-inflammatoire (œdème de la pate induit par la carragénine)

Une inflammation par définition est une réaction de défense immunitaire stéréotypée du corps à une agression (infection, brûlure, allergie...) qui se manifeste par une rougeur, un gonflement, une sensation de chaleur, une douleur qui semble pulser.

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par

Partie bibliographique Chapitre I

inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine [18].

EXTRACTION DES MOLECULES BIOACTIVES.

II.1. L'extraction solide-liquide :

L'extraction solide-liquide est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire, de séparer, de dissoudre soit par immersion soit par percolation d'un liquide, un ou plusieurs composants (liquide ou solide) mélangés à un solide. C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide, qui contient la matière à extraire et une phase liquide, le solvant d'extraction [19].

Le procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilités des composés d'un mélange dans un solvant. Le mélange peut être solide ou liquide et le solvant liquide ou fluide supercritique.

Il existe plusieurs techniques d'extraction des molécules bioactives dans les plantes. Ces techniques peuvent être dites *conventionnelles* (utilisées depuis longtemps) et *nouvelles* (développées plus récemment). Parmi les techniques conventionnelles, on trouve l'entraînement à la vapeur (hydrodistillation), l'extraction par Soxhlet, l'extraction en mode batch et l'extraction assistée par sonication.

Dans la catégorie « techniques nouvelles » on peut citer l'extraction assistée par microondes (Microwave Assisted Extraction), l'extraction accélérée par solvants (Accelerated Solvent Extraction), et l'extraction avec des fluides supercritiques. [20]

II.2. Les techniques d'extraction

II.2.1 Technique conventionnelles :

II.2.1.1. Hydrodistillation : HD

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle.

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau.

L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotropique « eau + huile essentielle » distille à une température égale 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite refroidi et condensé dans un

essencier ou vase florentin. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle.

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait. [21]

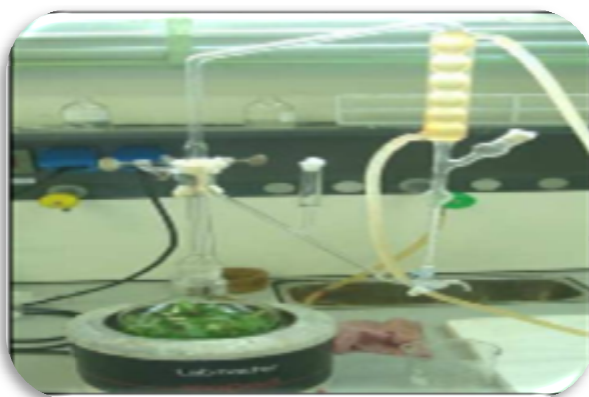


Figure II.1 : Montage de l'hydrodistillation

II.2.1.2. Entraînement par la vapeur d'eau:

Elle est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. C'est une méthode employée couramment pour l'extraction d'huile essentielle. Il est basé sur le même principe que la hydrodistillation avec la différence qu'il n'y a aucun contact direct entre la plante et l'eau. La durée d'extraction se raccourcit réduisant de ce fait des changements chimiques.[22]

II.2.1.3. Extraction par soxhlet :

L'extracteur de Soxhlet est une pièce de verrerie permettant d'effectuer une extraction solide-liquide avec une grande efficacité. L'appareil porte le nom de son inventeur : Franz von Soxhlet.

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée.

Fondamentalement, dans la technique d'extraction de Soxhlet, l'échantillon plein est placé dans une cartouche à l'extraction qui est alors extraite à l'aide d'un solvant approprié par l'intermédiaire du cycle de reflux. Une fois que le solvant est bouilli, la vapeur traverse un bras de déviation dans le condensateur, là où elle condense et s'égoutte en arrière sur le dissolvant dans le dé. Car le dissolvant atteint le dessus du bras de siphon, le dissolvant et l'extrait sont siphonnés en arrière

sur le flacon inférieur par lequel les reboils dissolvants, et le cycle soit répétés jusqu'à ce que tout l'échantillon soit complètement extrait dans le flacon inférieur.

L'inconvénient principal de ce processus d'extraction est l'utilisation des grands volumes du dissolvant, qui peuvent être plus de 150 ml pour l'extraction de 10 g de l'échantillon de plante. En plus du ce, cette méthode est très de main-d'oeuvre et longue.[23]

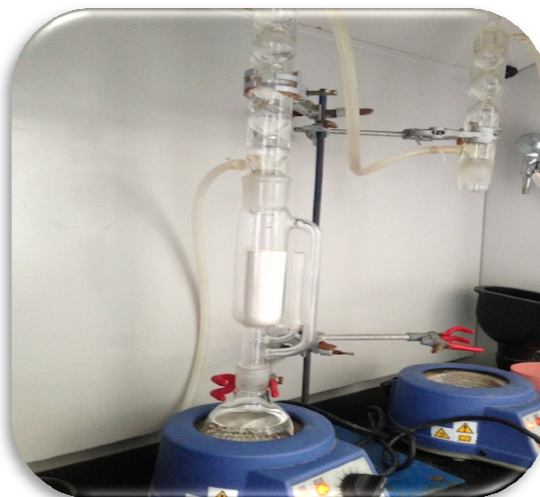


Figure II.2 : Montage Soxhlet

II.2.2 Technique non-conventionnelles :

II.2.2.1. Extraction assistée par Ultrason:

L'extraction assistée par ultrason a été développée en 1950 à l'équipement de laboratoire de taille. L'ultrason permet l'intensification et sélectif de l'extraction des plantes en accélérant leur dégagement de la matière végétale une fois utilisés en combinaison avec d'autres techniques (hydrodistillation et extraction par solvants).

La matière végétale est immergée dans l'eau ou dissolvant et en même temps elle est soumise à l'action de l'ultrason. Cette technique a été employée pour l'extraction de certaines molécules d'intérêt thérapeutique. Les ondes ultrasoniques utilisées ont une fréquence de 20 kHz-1 MH. Ceci Cela induit des vibrations mécaniques des parois et membranes d'extrait de plantes induisant une libération rapide des gouttelettes d'huile essentielle.

Le mécanisme d'extraction implique deux types de phénomènes : la diffusion cuvette des parois cellulaires et laver le contenu de la cellule une fois que les parois sont cassés. [24]

Partie bibliographique Chapitre II

II.2.2. Les paramètres de base qui influencent la qualité de l'extrait [25] :

1. La Partie de plante utilisée comme matière de départ
2. Le Solvant utilisé pour l'extraction
3. Le Procédé d'extraction
4. La taille des particules

II.2.3. Le pouvoir extractif :

L'estimation de l'efficacité d'un solvant ne peut être réduite aux seules propriétés chimiques de polarité et d'affinité vis-à-vis de l'eau. Nous devons également tenir compte des propriétés physiques déterminant la capacité du solvant à pénétrer dans une matrice poreuse. [26]

Le pouvoir extractif est défini par la capacité du solvant à pénétrer et à diffuser dans la structure végétale de façon à rencontrer et entraîner les molécules cibles. Evidemment, ce dernier processus suggère la solubilisation des molécules. Il est clair que les notions de pouvoir solvant et extractif, ainsi que de sélectivité chimique, sont liées les unes aux autres par les caractéristiques chimiques et physiques des solvants. Nous tenterons d'évaluer le pouvoir extractif selon deux composantes, eux-mêmes liées, aux deux paramètres indiqués ci-dessous:

- Tension superficielle et viscosité
- Capacité de pénétration

Tableau II.1 : Caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés dans l'extraction des composants aromatiques et médicinaux [26].

Solvant	Ethanol	Dichlorométhane	n-Hexane
Masse moléculaire	46.07	84.93	86.18
Densité	0.789	1.33	0.663
Solubilité (g/100ml) a 20 °C dans l'eau		1.63	0.07
Tension Superficielle (dynes/cm ²)		28.2/°C	18.4/°C
Viscosité (cp) (g.cm ⁻¹ sec ⁻¹)		0.425/°C	0.326/20 °C
Température d'ébullition (°C)	78.4	39-40	68.95

LA MICROENCAPSULATION DES MOLÉCULES BIOACTIVES

III.1. LA Microencapsulation :

La microencapsulation est une technique de protection de matières sensibles (à l'état solide, liquide ou gazeux) appelées aussi matières actives à l'aide d'une matière enrobante par formation de particules de taille micrométrique. Ce procédé permet de créer une barrière de protection pour les molécules encapsulées et de contrôler leur libération dans un milieu donné. Le contenu d'une capsule individualisée est protégé de l'environnement par la matière enrobante et peut être libéré sous l'action de la température, d'enzymes, du changement de pH du milieu, de l'action mécanique ou simplement par la diffusion à travers la matière enrobante poreuse. [27]

Les principales motivations pour l'encapsulation d'un matériau sont :

- l'augmentation de la stabilité des ingrédients sensibles (protection de la matière encapsulée contre l'oxydation ou des effets de milieu ambiant tels que la chaleur, l'humidité ou le pH) ;
- la conversion des liquides en poudres fluides ;
- le masquage d'odeur, du goût ou d'activité des matériaux encapsulés ;
- la diminution de la vitesse d'évaporation de la matière active volatile ;
- la formulation des principes actifs utilisés en très petites quantités ;
- la libération contrôlée ou ciblée de composants actifs.

III.1.1. Classification des microparticules

Le type de particules obtenues par microencapsulation dépend des propriétés physicochimiques de la matière active et de la matière enrobante, de leur composition et de la technique utilisée. Les microparticules peuvent se présenter sous différentes structures dont les deux plus simples sont la structure réservoir (microcapsule) et la structure matricielle (microsphère) :

-  **La microcapsule** est une particule réservoir constituée d'un cœur de matière active liquide ou solide entouré d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant ;
-  **La microsphère** est constituée d'un réseau macromoléculaire continu, formant une matrice dans laquelle la matière active est finement dispersée, à l'état de fines particules solides ou encore de gouttelettes liquides.[27]

Ces deux types de morphologie de microparticules ainsi que quelques variantes plus complexes sont présentés sur la Figure 7.

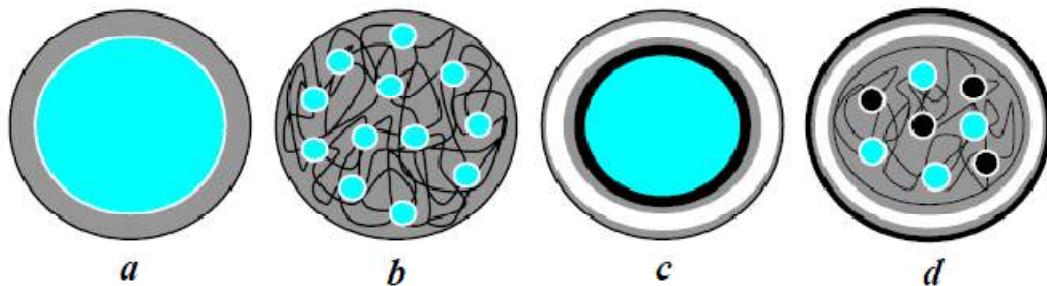


Figure III.1 : Morphologie de particules obtenues par microencapsulation : (a) microcapsule simple, (b) microsphère simple, (c) microcapsule multi-enveloppe, (d) microsphère avec double cœur actif/multi-enveloppe. [27]

En ce qui concerne leur forme, les microparticules ne sont pas nécessairement sphériques, elles peuvent également avoir une forme irrégulière. Lorsqu'une particule solide est encapsulée, la matière enrobante épouse généralement les contours de la particule, ce qui conduit à une grande variété de formes. En revanche, la taille est un dénominateur commun à ces systèmes : elle est comprise entre 1 μm et 1000 μm . En deçà, on parlera de nanoparticules et au-delà de minigranules.

La production de microparticules s'accompagne fréquemment d'une certaine polydispersité en taille : distribution gaussienne, apparition de deux ou plusieurs populations. Seules les techniques basées sur la formation de gouttelettes ou sur la polymérisation en milieu dispersé permettent l'obtention de microparticules proches de la monodispersité. Comme la taille moyenne et la distribution granulométrique sont en relation directe avec la surface spécifique des microparticules, ces paramètres vont influencer certaines propriétés comme notamment la libération de la matière active dans le milieu environnant.

La teneur en matière active (taux d'encapsulation) peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 % à 90 %. Au contraire, les teneurs habituellement rencontrées dans les microsphères sont plus faibles, de l'ordre de 20 % à 50 %. Par contre les propriétés de relargage de matière active sont souvent plus avantageuses dans le cas des microsphères. La diffusion progressive du principe actif du fait de sa dispersion dans la matrice est particulièrement adaptée à certaines applications, notamment dans les domaines agroalimentaire et pharmaceutique.

En ce qui concerne le relargage, deux systèmes existent : les systèmes à libération déclenchée et ceux à libération prolongée. Les systèmes à libération déclenchée sont généralement des microcapsules formées d'une membrane étanche qui vont libérer brutalement leur contenu par fusion ou éclatement de la membrane. Les systèmes à libération prolongée se distinguent les uns des autres par les mécanismes de libération mis en jeu (diffusion passive, dégradation/dissolution du matériau enrobant, échange d'ions) et par leur structure (microcapsule ou microsphère) qui vont directement influencer la cinétique de libération résultante [27].

III.2. Les Techniques d'encapsulation :

Les procédés de microencapsulation sont variés ; il existe plusieurs classifications de ces techniques . Elles peuvent être classées selon l'utilisation ou non de solvants organiques, selon le coût énergétique des techniques ou encore selon leur application dans un domaine ou un autre. Cependant, la classification la plus courante est présentée dans le **Tableau III.1**. [29]

Tableau III.1 : Procédés de microencapsulation.[30]

Procédés chimiques	Procédés physico-chimiques	Procédés physico-mécaniques
• Polymérisation interfaiale • Polymérisation en milieu dispersé • Polymérisation radicalaire ou anionique	• Coacervation (simple ou complexe) • Evaporation-extraction de solvant • Gélification thermique	• Atomisation • Gélification ou congélation de gouttes • Enrobage en lit fluidisé • Extrusion • Procédé basé sur la technologie des fluides supercritiques

III.2.1. Procédés d'encapsulation chimiques :

L'encapsulation par voie chimique consiste en la polymérisation autour de la matière active

(Pure ou en solution) d'un ou plusieurs monomères conduisant à la formation in situ d'une membrane de protection. Plusieurs types de polymérisation peuvent être envisagés : polycondensation, polymérisation radicalaire ou anionique. [30].

III.2.2. Procédés d'encapsulation physico-chimiques :

Les procédés physico-chimiques sont basés sur les variations de solubilité et les conditions de précipitation des agents enrobants. 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).

Les autres méthodes se basent sur la variation de température de la solution (évaporation du solvant) ou sur le changement d'état, comme solidification, des agents enrobants (gélification thermique d'émulsions). [27]

III.2.2.1. La Coacervation :

Le terme de coacervation décrit le phénomène de désolvatation de macromolécules conduisant à une séparation de phases au sein d'une solution. A l'issue de la coacervation, deux phases seront en présence dans le milieu :

 Le coacervat : riche en polymère et pauvre en solvant;

 Le surnageant : pauvre en polymère et riche en solvant.

La microencapsulation par coacervation consiste à provoquer la précipitation de la matière enrobante par séparation de phase autour de la matière active. Une particule de type microcapsule est alors formée. Cependant, quand la quantité de matière active dans le milieu est très faible par rapport au coacervat, les particules peuvent s'agréger et donc former une microsphère. Deux types de coacervation sont connus : la coacervation complexe quand la structure du coacervat comprend plusieurs polymères et la coacervation simple quand la matrice est formée d'un seul polymère.[27]

III.2.2.1.1. Coacervation complexe :

La coacervation complexe consiste en la désolvatation simultanée de deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées, provoquée par une modification du pH du milieu aqueux . Dans le cas où le produit à encapsuler (sous forme liquide ou solide) est dispersé dans une solution aqueuse contenant les deux polymères (Figure III .2, a), la coacervation est déclenchée par un ajustement du pH de la solution, de façon que les charges positives du premier polymère équilibrent

les charges négatives de la seconde phase. Ensuite l'attraction électrostatique des deux polyélectrolytes provoque l'apparition d'un coacervat mixte. Les gouttelettes de coacervat formé viennent s'adsorber à la surface de la matière active (Figure III.2, b) et former un enrobage continu (Figure III.2, c) [31].

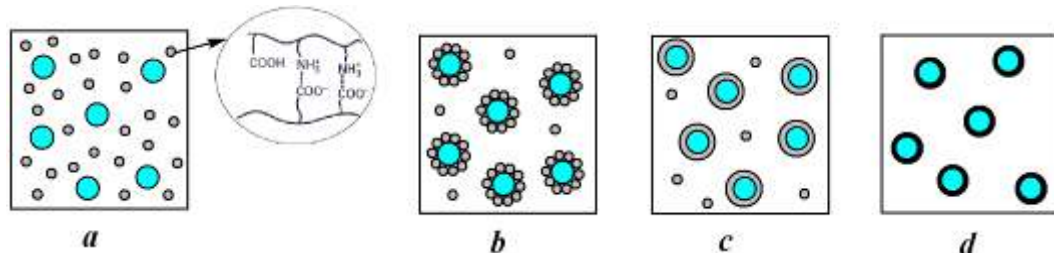


Figure III.2 : Principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe : (a) matière active dispersée dans la solution de polymère (Gélatine, Pectine), (b) coacervation à la surface de matière active, (c) formation d'enrobage continu et (d) réticulation d'enrobage. [31]

III.2.2.1.2. Coacervation simple :

La coacervation simple consiste en les répulsions polaires et apolaires entre deux solutés dont l'un doit être un polymère. Elle est provoquée principalement par une désolvation directe du polymère qui a lieu après changement du pH ou de la température, par addition d'un non-solvant ou d'un électrolyte. Les étapes du procédé sont identiques à celles de la coacervation complexe.[32]

Le principal avantage de la coacervation est qu'il est possible d'utiliser aussi bien des polymères hydrophobes que des polymères hydrophiles, car le coacervat peut se former en milieu organique ou aqueux. Les tailles des particules obtenues par la méthode de coacervation varient de quelques μm à quelques centaines de μm , et le taux d'encapsulation peut atteindre jusqu'à 90 % [33].

III.3. Facteurs influençant la formation de complexes :

La formation de complexes et la séparation de phases dépendent entre autres de la vitesse d'agitation, du ratio ingrédients/polymères, de la vitesse du refroidissement et de l'ordre d'addition des différents composés.

Quant à la stabilité du complexe, elle dépend d'un certain nombre de facteurs dont les groupements ionisables à la surface des protéines et polysaccharides, la structure des protéines (dénaturée ou native), la flexibilité des polysaccharides, la concentration des polymères, l'environnement ionique, le contenu en sucre, la température, le poids moléculaire et le pH du milieu. [34]

III.4. Microparticule et ses composés

Les constituants principaux d'une particule obtenue par microencapsulation sont la matière enrobante et la matière active. Afin d'améliorer la stabilité du système et/ou lui apporter des fonctionnalités désirées, des additifs peuvent également être ajoutés. Les constituants de microparticules le plus souvent utilisés sont présentés ci-dessous.[35]

III.4.1. Matière enrobante :

Le système enrobant joue un rôle principal sur l'efficacité, la stabilité des microparticules et sur le degré de protection de la matière active. En général, les critères de choix des matériaux enrobants sont basés sur leurs propriétés physico-chimiques (stabilité, humidité, pH, oxydation), thermiques et mécaniques. L'enrobage permet de modifier radicalement l'aspect du produit encapsulé : masquer le goût et l'odeur, changer l'état de surface, la solubilité, la rhéologie ou l'état fondamental, comme par exemple transformation des liquides ou des gaz en poudres fluides.[36]

Suivant le procédé utilisé, le matériau enrobant est constitué d'un ou plusieurs polymères. L'avantage des systèmes enrobants polymériques (à base des polymères naturels ou synthétiques) réside dans la possibilité de fonctionnalisation des chaînes ce qui permet l'obtention de nouvelles propriétés telles que la résistance aux températures élevées et aux agents chimiques.[38]

III.4.1.1. La pectine:

Les pectines sont des hétéropolysaccharides ioniques des plantes (agrumes, tomate, betterave à sucre, pomme). Elles sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire pour leurs propriétés gélifiantes, dans des produits tels les confitures et les gelées et pour leur capacité à stabiliser les produits laitiers acides. Ce sont des fibres alimentaires solubles qui diminueraient les risques de cancer du colon. [37]

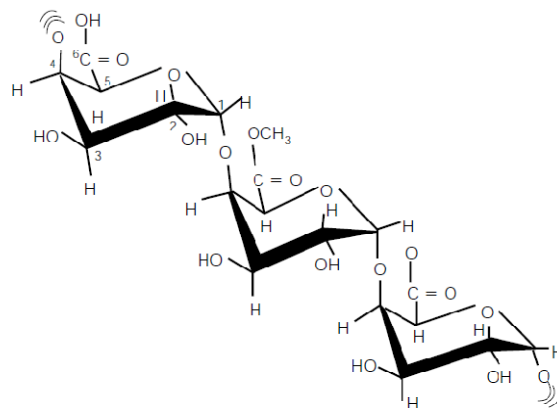


Figure III.3 : Structure de la pectine [37]

Remerciements

Je tiens à remercier tout d'abord ma promotrice de recherche, Pr. **A. Hadj-Ziane** pour ses précieux conseils et son encouragement continu qui m'ont permis de réaliser ce projet.

Je remercie aussi mon copromoteur **NAIT BACHIR YACINE** pour ses conseils pertinents et ses analyses critiques qui m'ont souvent aidé à revenir sur le bon axe dans des situations d'écart de l'objectif principal du projet.

Mes vifs remerciements vont à mes parents qui n'ont cessé de me soutenir matériellement et spirituellement même si l'écart des continents fait que je ne peux les voir fréquemment.

Mes remerciements vont aussi au personnel technique et professionnel des laboratoires Ms ben amiane M, Ms khiradine ou groupe saidal médea.

Je tiens aussi à remercier madame Oumertte et Benaihia S pour son aide dans les manipulations dans le laboratoire.

J'adresse mes remerciements et ma reconnaissance à tous les enseignants, étudiants et travailleurs de **L'UNIVERSITE BLIDA 1**, Département de Chimie industrielle, qui ont contribué de près ou de loin à ma formation pédagogique et scientifique.

Je ne saurais oublier tous ceux et celles qui m'ont marqué par leur soutien et encouragements : tous les membres de notre laboratoire de Génie chimique et tous les collègues de ma promotion Pharmacie Industrielle, je leur exprime mon respect et ma profonde sympathie.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

IV.1.MATÉRIEL

IV.1.1.Matériel biologique :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est la sauge.

IV.1.1.1. La cueillette de la sauge

La partie aérienne de la matière végétale a été cueillie le 11 Février 2014 à 11 °C (journée légèrement nuageuse), à RAOUDAH dans la wilaya de BOUIRA la matinée vers 11 heures.

IV.1.1.2.Prétraitement de la sauge

La sauge cueilli doit être prétraité avant d'entamer l'extraction en passant par un lavage, un séchage et enfin un broyage.

IV.1.1.2.1.Le lavage

Après avoir cueilli la plante, les parties feuilles sont soumises à un rinçage à l'eau de robinet pour éliminer les corps étrangers aux plantes ou les impuretés avant de la faire sécher.

IV.1.1.2.2. Le séchage

Après rinçage, Les feuilles sont étendues en couches minces à l'ombre, à bonne aération pendant deux semaines, le séchage à l'ombre.

IV.1.1.2.3.Broyage de la plante

Les feuilles séchées doivent être broyées afin d'obtenir une poudre. Pour ce, nous avons utilisé un moulin en acier inoxydable avec couvercle, permet de saupoudrer les feuilles grâce à la toile métallique on virent de 0.5 mm .

IV.1.2. Produits chimiques :

Au cours de cette optimisation, nous avons utilisé des solvants organiques principalement l'éthanol (fournis par QUIMICA PANREAC, Barcelone, 96%), le dichlorométhane (fournis par QUIMICA PANREAC, 98%) et l'Hexane.

Nous avons aussi utilisé la gélatine B (GL) (fourni par le groupe pharmaceutique SAIDAL) et la Pectine (P) (MerckChemicals, Allemagne) pour la microencapsulation.

IV.1.3. Systèmes et dispositifs de l'extraction

IV.1.3.1. Soxhlet

Le Soxhlet que nous avons utilisé est de marque Riviera dont la capacité est de 200 ml. Ce soxhlet est constitué par un condenseur dont le système de refroidissement est assuré par l'entrée d'eau froide depuis le robinet.



Figure IV.1 : Soxhlet

IV.1.3.2. Rotavapor

Afin d'avoir notre propre extrait et de récupérer le solvant, nous avons utilisé un rotavapor de la marque Heidolph Instruments dont la température de bain peut aller jusqu'à 260°C.

Le rotavape fait sous vide à température $T = 40 \pm 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$



Figure IV.2 : Le rotavapor

IV.2. EXTRACTIONS DES MOLÉCULES BIOACTIVES A PARTIR DE LA SAUGE.

Lors de cette première étape, nous allons étudier l'optimisation des paramètres d'extraction des molécules bioactives de la sauge à savoir la durée d'extraction et la puissance électrique utilisée, En utilisant la méthode des plans d'expérience.

IV.2.1. Optimisation des procédés d'extraction par Soxhlet en utilisant un Plan d'expérience

Nous avons adopté une optimisation par plan d'expériences à deux niveaux avec deux facteurs pour développer la technique d'extraction avec le solvant. Des expériences préliminaires ont été effectuées pour déterminer les paramètres influant et délimiter le domaine d'étude du plan d'expériences. Cette méthodologie va permettre de diminuer le nombre d'expériences à réaliser, tout en augmentant le nombre de renseignements obtenus sans altérer la qualité des résultats.

Le montage a été réalisé à l'aide d'un ballon de 500 ml rempli avec 250ml de solvant, d'un Soxhlet, d'un réfrigérant ainsi que d'une cartouche faite en papier filtre contenant la matière végétale broyée, la masse de la matière et 1/10 de solvant ($m = 20g$).

Les solvants utilisés étaient l'éthanol, le dichlorométhane et l'hexane.

Partie Expérimental Chapitre IV

Tableau IV.1 : Tableau récapitulatif des caractéristiques des solvants utilisés

Solvant	Formule développée	semi-Point (°C)	d'ébullition	Moment dipolaire(D)
Éthanol	CH ₃ -CH ₂ -OH	78,37		1,69
Dichlorométhane	CH ₂ Cl ₂	39,6		1,60
hexane	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	68,95		1,09

IV.2.1.1.. Les paramètres expérimentaux du plan d'expériences (facteurs)

Dans notre étude, les paramètres expérimentaux qui seront pris en compte dans l'optimisation sont le temps d'extraction et la puissance d'extraction, les valeurs de niveau haut et de niveau bas pour ces deux facteurs en fonction des solvants utilisés sont donnés dans le tableau IV.2. La masse de matière végétale à extraire a été fixée à 20 g.

Tableau IV.2 : Tableau récapitulatifs de facteurs avec des niveaux choisis.

		Solvants		
Facteurs		Éthanol	Dichlorométhane	Hexane
Facteur 1 (Puissance)	Niveau haut (+1)	200W	200W	200W
	Niveau bas (-1)	140W	140W	140W
Facteur 2 (Durée)	Niveau haut (+1)	120min	120min	120min
	Niveau bas (-1)	100min	100min	100min

IV.2.1.2.Évaluation de la réponse

Nous avons choisi trois réponses principales pour notre plan d'expérience qui sont : le rendement de l'extraction (en pourcentage), et le taux de polyphénols extraits (en équivalent gramme d'acide gallique), enfin l'énergie de l'extraction (en Kilojoule par gramme)

IV.2.1.3.Modélisation mathématiques du plan d'expériences

L'effet des facteurs et de leurs interactions de premier ordre ont été modélisés par l'équation suivante:

$$Y = \beta_0 + \beta_T X_T + \beta_P X_P + \beta_{TP} (X_T \times X_P)$$

- Y est la réponse
- β_0 est la valeur de la réponse au centre du domaine d'étude, noté 0
- β_i est l'effet du facteur i
- β_{ij} est l'effet de l'interaction entre les facteurs i et j
- X_i est le niveau attribué au facteur i.

Les expériences ont été réalisées dans un ordre aléatoire afin de minimiser des contraintes extérieures inconnues.

IV.2.1.4. Détermination du rendement

Le rendement d'extraction se calcule par :

$$R(\%) = \frac{m_{ext}}{m_v} \times 100$$

Où :

m_{ext} : masse de l'extrait après l'évaporation du solvant (g);

m_v : la masse végétale initiale dans la cartouche (g).

IV.2.1.5. Détermination de l'énergie d'extraction

L'énergie d'extraction se calcule par :

$$E = \frac{P.t}{m_v} \text{ (J/g)}$$

Où :

P : la puissance de chauffage (W);

t : la durée d'extraction (s);

m_v : la masse végétale (g).

IV.3. Dosage de polyphénols.

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de la partie feuille de la sauge a été effectué par spectrophotométriquement selon la méthode du réactif de FolinCiocalteu[38].

Partie Expérimental Chapitre IV

Le réactif est formé d'acide phosphotungestique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_4$) qui sont réduits lors de l'oxydation des composés phénoliques en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}).

Les composés phénoliques totaux sont déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre de marque SHIMADZU à UV(Ultra-Violets) visible après 2 heures d'incubation à température ambiante par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 768 nm. La quantification est faite selon une gamme-étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique (0 à 50 $\mu g/ml$). Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique par ml d'extrait



Figure IV.3 : Les Solutions de courbe d'étalonnage de l'acide gallique et les échantillons de trois solvants.



Figure IV.4 : L'appareil UV.

IV.4. Microencapsulation de l'extrait

IV.4.1.2. Préparation des microcapsules

La méthode de microencapsulation utilisée dans la présente étude est basée essentiellement sur la procédure décrite dans la littérature [38,]. La désolvatation simultanée de deux polymères de type polyélectrolytes hydrosolubles de charge opposée Gélatine (G) et Pectine(P) est provoquée, suite à une modification du pH du milieu réactionnel et à

Partie Expérimental Chapitre IV

l'attraction électrostatique induite des deux polymères. Une fois le coacervat formé et déposé autour du PA (mélange de molécules lipophiles et hydrophiles), la température est abaissée à 5°C afin d'obtenir une gélification de l'enrobage. La réticulation des microcapsules obtenues se fait par ajout de formol, ce qui permet de solidifier les particules. [39]

IV.4.1.3.Optimisation du procédé de microencapsulation :

L'objectif de ce travail est de déterminer les conditions optimales de coacervation du système gélatine/pectine, dans le but de l'utiliser dans un procédé d'encapsulation de l'extrait de la sauge.

Nous avons utilisé un plan factoriel complet à deux niveaux avec trois facteurs:

- Facteur 1 : le ratio gélatine : pectine
- Facteur 2 : le ratio noyau : paroi
- Facteur 3 : la quantité de l'agent de durcissement (formol) (ml)

Réponses prise en considération dans le plan d'expérience :

- Réponse 1 : Le rendement de la coacervation (%)
- Réponse 2 : L'efficacité d'encapsulation (%)

Les essais du plan d'expériences sont présentés dans le tableau IV.3.

Tableau IV.3 : Essais du plan d'expérience : matrice des facteurs et des réponses pris en considération dans le plan d'expériences

Essais	le ratio noyau : paroi	Ratio gélatine/ pectine	Agent de durcissement (ml)
1	-1	+1	+1
2	+1	-1	+1
3	-1	-1	+1
4	+1	+1	+1
5	+1	+1	-1
6	-1	-1	-1
7	+1	-1	-1
8	-1	+1	-1

Tableau IV.4 : Les niveaux haut et bas des facteurs

Facteurs :	le ratio noyau : paroi	Ratio gélatine/ pectine	Agent de durcissement (ml)
niveau haut = 1	1/3	5/2	2
niveau bas = -1	1/4	5/3	1

IV.4.1.4.Caractérisation des microcapsules

IV.4.1.4.1.Le rendement de la coacervation

Le rendement de la coacervation se calcule par :

$$R(\%) = \frac{m(\text{encapsulée})}{(m(\text{PA}) + m(\text{G}) + m(\text{P}))} \times 100$$

Où :

R = Rendement (%);

m : microparticules obtenu après le séchage (g);

m(PA) : masse de principe actif utilisé (g) ;

m(G) : masse de gélatine utilisé (g);

m(P) : masse de la pectine (g).

IV.4.1.4.2.L'efficacité d'encapsulation des polyphénols

L'efficacité d'encapsulation, représente le pourcentage du PA (la teneur en PA) présent dans les microcapsules, et obtenu par spectroscopie SHIMADZU pour UV-Visible de 300 à une longueur d'onde de 800 nm.

Comme nous avons encapsulé les polyphénols, le taux d'encapsulation a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au réactif de FolinCiocalteu. Pour cela, nous

Partie Expérimental Chapitre IV

avons ajusté la solution surnageant à un volume connu (dans notre cas, nous avons ajusté à 150 ml) et puis nous faisons la lecture UV-Visible ; en connaissant la concentration et le volume, nous pouvons tirer directement la masse.

$$\text{Taux d'encapsulation(\%)} = \frac{m(\text{initiale}) - m(\text{non encapsulée})}{m(\text{initiale})} \times 100$$

Où :

m (initiale) : la masse de PA initiales à encapsuler

m (non encapsulée) c'est la masse de PA non encapsulés (resté en solution dans le filtrat).

IV.4.1.4.3. Analyse microscopique

Après avoir obtenu les microcapsules, nous avons effectué une caractérisation par microscopie optique afin de voir leur taille et leur structure.



Figure IV.5 : Microscope optique Olympus BX60

IV.5. Etude de l'Activité anti inflammatoire in-vivo :

Animaux :

Des souris Swissalbinos, mâles et femelles, dont le poids varie entre 18 à 22 g, Les animaux ont été placés dans des cages en polypropylène où ils ont onlever l'eau et l'alimentation, 18 h avant le teste.

Partie Expérimental Chapitre IV

La distribution et le mécanisme d'action des antiinflammatoires seraient proche des phénomènes observés chez l'homme, vue que la souris est l'espèce la plus comparable à l'humain sur le plan métabolique.

Principe :

Le principe consiste à injecter, sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche de la souris, la carragénine provoquant ainsi une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Ce test nous a permis de comparer la réduction de l'œdème planitaire après administration des doses égales de chacun du produit à tester et celui de référence.

Préparation des solutions : les préparations des solutions de l'extrait de deux doses (100mg/l et 300mg/) et la solution de Dichlofénac à 12.5 mg/ 0.5ml, et la carragénine à 1%.

Mode opératoire :

a) Répartition des animaux :

Les souris ont été réparties en 4 lots de 4 souris :

- Lot témoin négatif
- Lot Témoin positif
- Lot Dose 1
- Lot Dose 2



Figure IV.6 : les quatre lots de souris

b) Administration et injection :

Au temps T_0 (gavage) : Dans notre cas les souris ont été mises à jeun pendant 18h, après nous avons administré par voie intra-gastrique (gavage) des suspension suivantes :

- Lot témoin négatif : chaque souris a reçu 0.5 ml de l'eau physiologique,
- Lot Témoin positif : chaque souris a reçu 0.5 ml de produit de référence (Dichlofénac)
- Lot Dose 1 : chaque souris a reçu 0.5 ml de l'extrait a 100mg/l
- Lot Dose 2 : chaque souris a reçu 0.5 ml de l'extrait a 300 mg/l

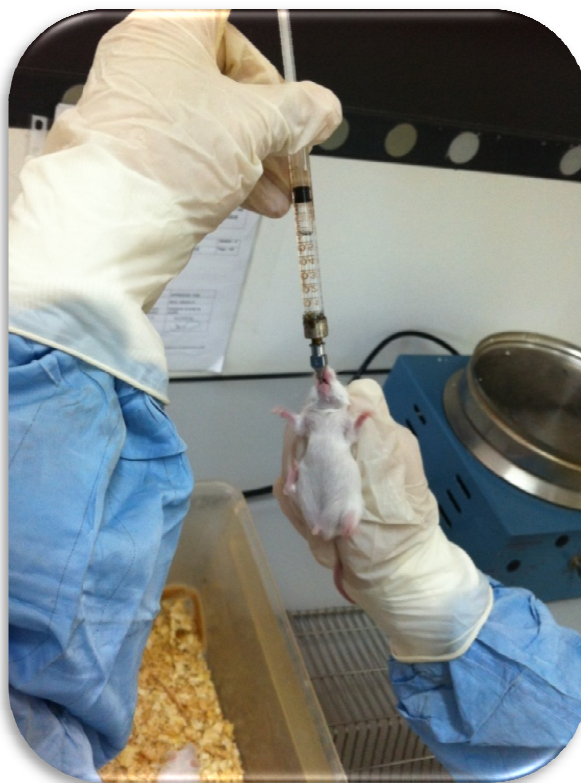


Figure IV.7: photo de gavage des souris

Au temps $T_0 + 30$ min : Les souris des quatre lots ont reçu 0.025 ml de la carragénine chacune et cela par injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche.



Figure IV.8: l'injection de la carragénine

Au temps $T_0 + 4h$: Sacrifier les souris par dislocation cervicale, et couper les pattes postérieures droites et gauches à hauteur de l'articulation et les peser sur une balance analytique suivant la figure .



Figure IV.9: Sacrifier des souris et couper les pattes.

c)- Expression des résultats :

- calcule les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot.

Partie Expérimental Chapitre IV

- Calcule le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) par la formule suivants :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{(\text{moyenne des poids de patte droite} - \text{moyenne des poids de patte gauche})}{(\text{moyenne des poids de patte droite})} \times 100$$

-Calcule le pourcentage de réduction de l'œdème cher les souris traitées par rapport au témoin :

$$(\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai})$$

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\phantom{(\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai})}}{\phantom{(\% \text{ de l'œdème témoin})}} \times 100$$

$$\% \text{ de l'œdème témoin}$$

RESULTATS ET DISCUSSION

V.1.Optimisation des paramètres d'extractions

Les extractions des molécules bioactives *Salvia officinalis* L. ont été effectuées avec un Soxhlet de 200ml contenant 20g de matrice végétale par des différents solvants de polarité différente afin de les optimiser.

V.1.1.Extraction avec l'éthanol

Les résultats du plan d'expériences factoriel complet à deux niveaux en utilisant l'éthanol sont représenté dans de tableau (Tableau V.1).

Tableau V.1. : Matrice expérimentale du plan d'expériences factoriel complet l'extraction d'éthanol à deux niveaux pour les deux facteurs étudiés : temps d'extraction et puissance d'extraction . Les niveaux -1 et +1 représentent respectivement le niveau inférieur et le niveau supérieur du domaine d'étude.

N° échantillon	Temps	Puissance	Rendement (%)	L'énergie d'extraction (kJ/g)	Taux de polyphénol EAG
1	120 min	200w	27.10	72	174.0
2	100 min	200w	23.90	60	147.4
3	120 min	140 w	20.85	50,4	136.8
4	100 min	140 w	20.10	42	123.4

Tableau V.2 : Les niveaux haut et bas des facteurs pour l'extraction d'éthanol.

Facteurs :	La durée d'extraction (min)	Puissance d'extraction (Watt)
niveau haut =+1	120	200
niveau bas = -1	100	140

V.1.1.1.Effets des facteurs étudiés sur les réponses:

Les résultats du plan d'expériences factoriel complet à deux niveaux sont représenté sous forme d'histogramme, qui classent les effets contribuant à chacune des réponses par ordre décroissant d'importance.

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

Le graphe V.1.1. Représente l'influence de la durée et de puissance sur le rendement.

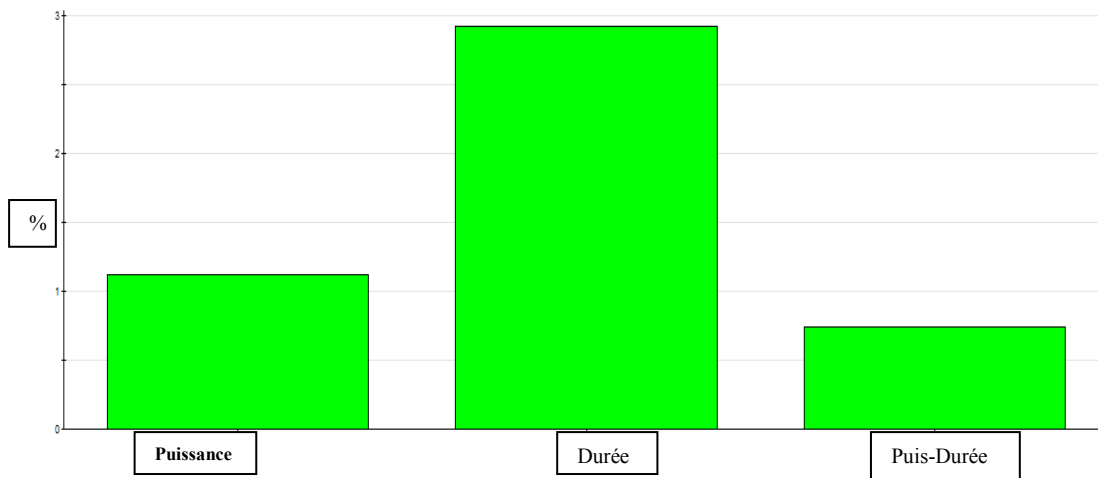


Figure V.1.1 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur le rendement.

Nous observons une influence positive de la puissance et une influence doublement positive de la durée sur le rendement, l'interaction entre les deux facteurs présente une influence faible presque la moitié de celle de puissance.

L'augmentation de la durée et de la puissance d'extraction ensemble donne moins de rendement par rapport à leur effet séparément.

Le graphe V.1.2. Représente l'influence de la durée et de puissance sur l'énergie d'extraction.

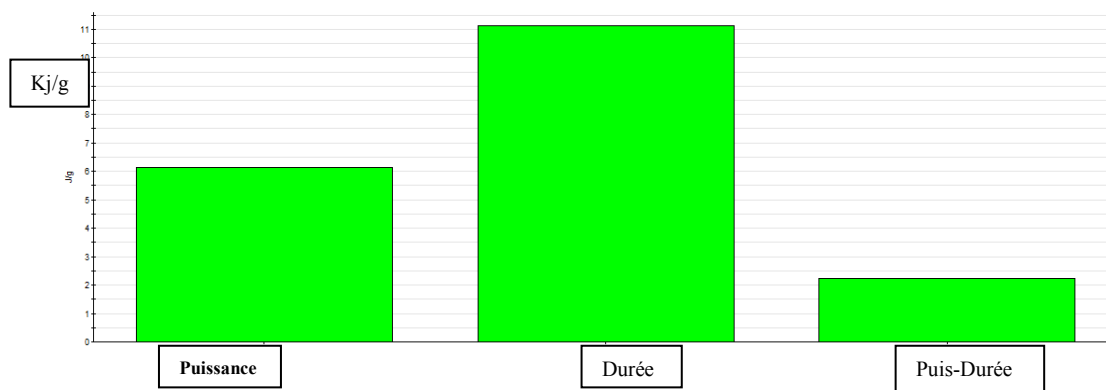


Figure V.1.2 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur l'énergie d'extraction.

A travers cet histogramme, nous observons une influence positive de la puissance et une influence doublement positive de durée sur l'énergie d'extraction, l'interaction entre les deux facteurs présente une influence très faible.

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

Le graphe V.1.3. Représente influence de temps et de puissance sur le dosage de polyphénol.

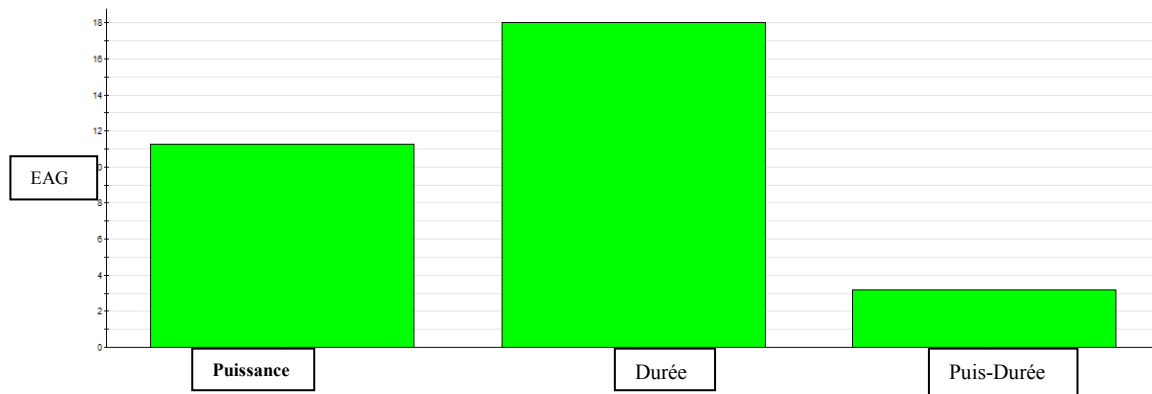


Figure V.1.3 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur le dosage de polyphénols.

Nous observons à travers cet histogramme une influence positive de la puissance mais qui est très faible et une influence doublement positive de durée sur le dosage de polyphénols, l'interaction entre les deux facteurs présente une influence très faible.

V.1.1.2. Estimation des effets principaux et des interactions sur les réponses :

V.1.1.2.1. Influence des facteurs sur le rendement :

Nous représentons sur la figure ci-après la variation de ces deux réponses sur le rendement.

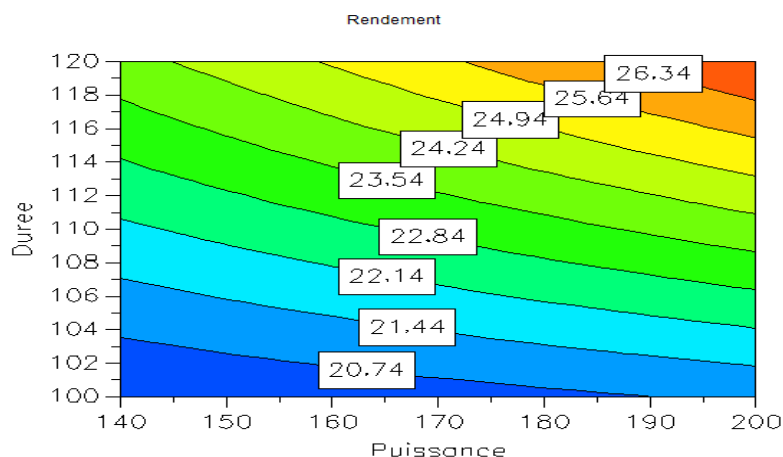


Figure V.1.4 : Courbe d'iso réponse montrant la variation de rendement en fonction de la puissance et le temps d'extraction pour l'éthanol.

Nous remarquons l'augmentation du rendement en fonction du temps et de la puissance jusqu'à atteindre un seuil de 26,34 %. L'augmentation du rendement est due en premier lieu, au temps de séjour de la matrice végétale dans le solvant, permettant son

épuisement et en second lieu, l'augmentation de temps et la puissance ou même temps permis d'augmenté le rendement car l'éthanol est un solvant polaire qui peut extraire toutes les molécules bioactives ce qui implique l'augmentation du rendement.

V.1.1.2.2. Influence des facteurs sur l'Énergie d'extraction

La variation de l'énergie d'extraction en fonction de durée et de la puissance d'extraction est représentée dans le graphe suivant.

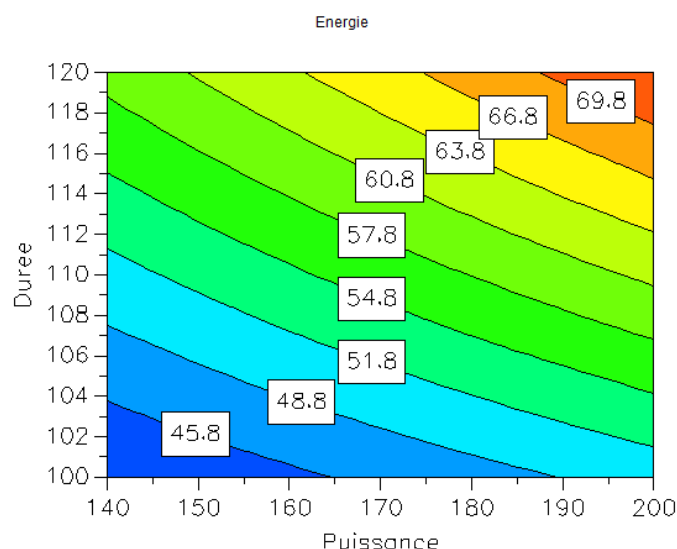


Figure V.1.5 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur l'énergie d'extraction.

Nous remarquons une augmentation de l'énergie consommée par notre plante qui est de 69.8 KJ/g à ce qui correspond à l'augmentation de la puissance et celle de temps. Ici nous remarquons que l'énergie d'extraction varie avec la puissance et la durée d'extraction.

Ceci peut s'expliquer par le fait que plus nous augmentons la puissance et la durée, plus l'évaporation de l'éthanol demande de l'énergie.

V.1.1.2.3. Influence des facteurs sur le dosage des polyphénols

Le graphe suivant représente l'effet de variation de dosage de polyphénol en fonction de durée et de la puissance d'extraction.

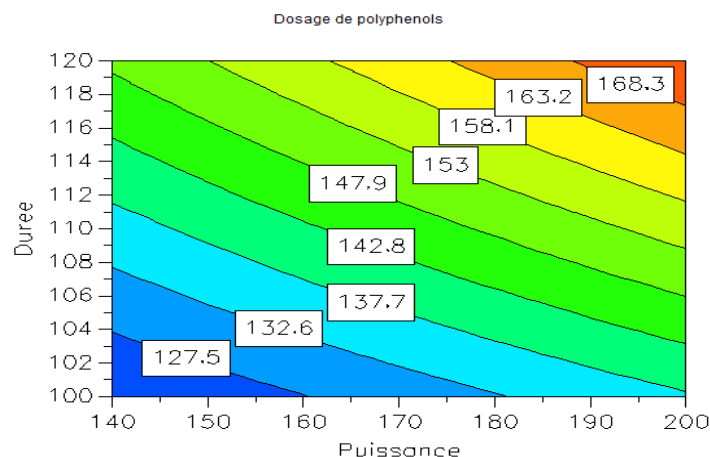


Figure V.1.6 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur l'énergie d'extraction.

La quantité en composés phénoliques augmente considérablement lorsqu'on augmente la puissance et la durée d'extraction. Ainsi il semble que la durée d'extraction augmente la quantité de composés phénoliques augmentent dont le maximum en est 168.3 EAG/g d'acide gallique. Ce qui signifie, 200 W est la puissance seuil d'extraction cependant l'augmentation du temps permet son épuisement.

V.1.1.3. Modélisations mathématiques de l'extraction de *Salvai officinatrice L.* de l'extrait éthanoïque

En analysant par ANOVA, nous avons obtenu pour chacune des réponses étudiées les modèles mathématiques suivants respectivement pour le rendement, l'énergie d'extraction et le dosage de polyphénols:

$$Y_1 = 22,9875 + 1,12239X_p + 2,92207 X_T + 0,74319X_pX_T$$

$$Y_2 = 145,4 + 11,2496X_p + 18,0144X_T + 3,17731X_pX_T$$

$$Y_3 = 56,1 + 6,13941X_p + 11,139X_T + 2,22951 X_pX_T$$

Où,

X_p = le facteur de puissance

X_T = le facteur du temps.

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

V.1.2.Extraction avec le dichlorométhane :

Après avoir fini l'extraction par l'éthanol, nous avons lancé une extraction par le dichlorométhane qui est plus polaire comme dans le cas d'éthanol, nous avons aussi fait une optimisation en variant la durée et la puissance d'extraction.

Les résultats du plan d'expériences factoriel complet à deux niveaux en utilisant le dichlorométhane sont représentés sous forme de tableau (Tableau V.3).

Tableau V.3 : Matrice expérimentale du plan d'expériences factoriel complet pour l'extraction DCM à deux niveaux pour les deux facteurs étudiés : temps d'extraction et puissance d'extraction. Les niveaux -1 et +1 représentent respectivement le niveau inférieur et le niveau supérieur du domaine d'étude.

N° échantillon	Temps	Puissance	Rendement (%)	Taux de polyphénol EAG	L'énergie d'extraction (J/g)
1	120 min	200w	5,20	9,82	72
2	100 min	200w	4,35	8,81	60
3	120 min	140 w	5,45	8,02	50,4
4	100 min	140 w	3,75	7,66	42

Tableau V.4 : Les niveaux haut et bas des facteurs pour l'extraction DCM.

Facteurs :	La durée d'extraction (min)	Puissance d'extraction (Watt)
niveau haut = 1	120	200
niveau bas = -1	100	140

Les résultats du plan d'expériences factoriel complet à deux niveaux en utilisant le dichlorométhane sont représentés sous forme des histogrammes, qui classent les effets contribuant à chacune des réponses par ordre décroissant d'importance.

V.1.2.1 : Effets des facteurs étudiés sur les réponses des extraits de dichlorométhane.

Les résultats du plan d'expériences factoriel complet à deux niveaux sont représentés ci-dessous sous forme de histogramme, qui classe les effets contribuant à chacune des réponses par ordre décroissant d'importance.

Le graphe V.2.1 représente l'influence de temps et de puissance sur le rendement.

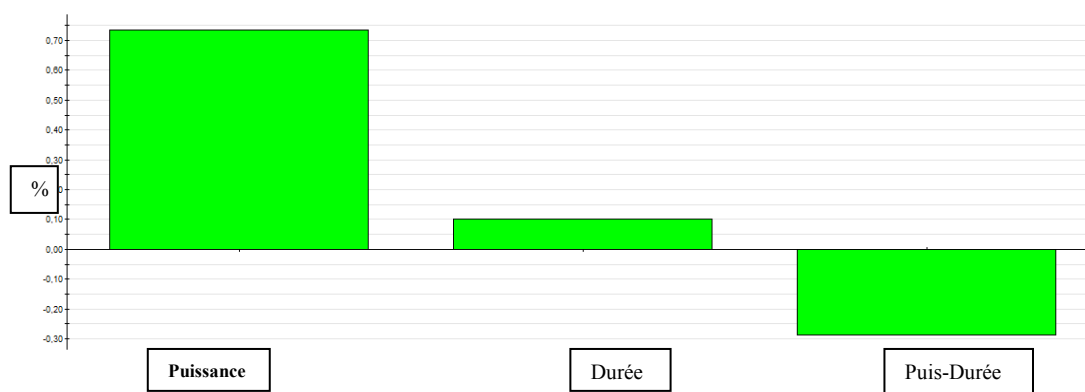


Figure V.2.1 : L'influence de temps et de puissance sur le rendement.

Ce graphique montre une influence du temps est faiblement positive observée et une influence positive de la puissance sur le rendement. Cependant, leur interaction est négative.

Le graphe V.2.2. Représente l'influence de temps et de puissance sur l'énergie d'extraction.

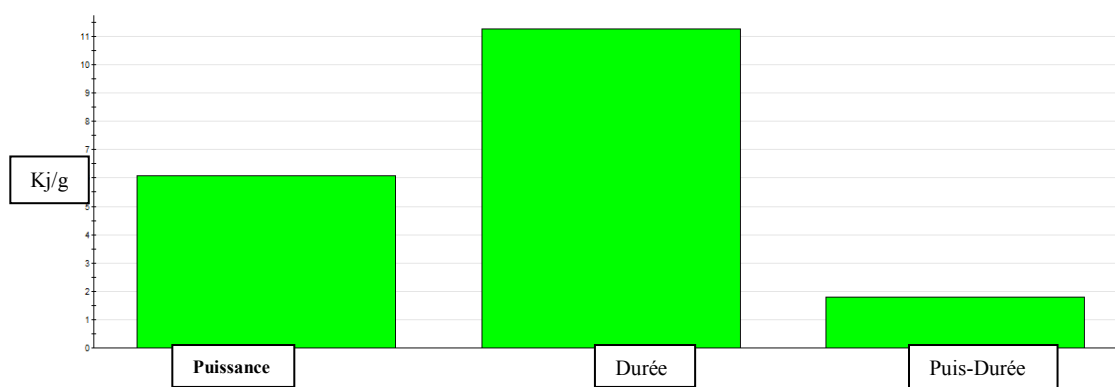


Figure V.2.2 : L'influence de temps et de puissance sur l'énergie d'extraction.

A travers cet histogramme, nous observons une influence positive de la puissance et un doublement positif pour la durée sur l'énergie d'extraction, l'interaction entre les deux facteurs présente une influence un peu faible. Ceci peut s'expliquer par le fait que le dichlorométhane est très volatil.

Le graphe V.2.3 représente l'influence de temps et de puissance sur le dosage de polyphénol.

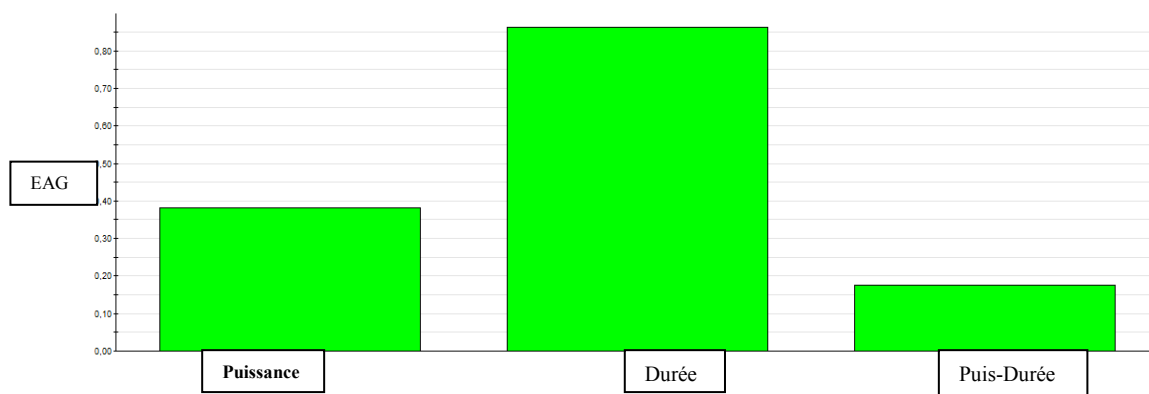


Figure V.2.3 : L'influence de temps et de puissance sur le dosage de polyphénol.

Nous observons à travers cet histogramme une influence positive de la puissance mais qui est faible et une influence doublement positive de durée sur le dosage de polyphénol, l'interaction entre les deux facteurs présente une influence très faible.

V.1.2.2. Estimation des effets principaux et des interactions sur les réponses :

V.1.2.2.1. Influence des facteurs sur le rendement

La courbe d'iso réponse de l'extrait de dichlorométhane illustre l'évolution du rendement d'extraction en fonction de la puissance du chauffage et de la durée d'extraction.

Nous avons constaté que les conditions opératoires ont un effet sur le rendement. Il peut être observé que l'évolution du rendement d'extraction est corrélée à l'évolution de la puissance de chauffage d'extraction (Figure V.2.4).

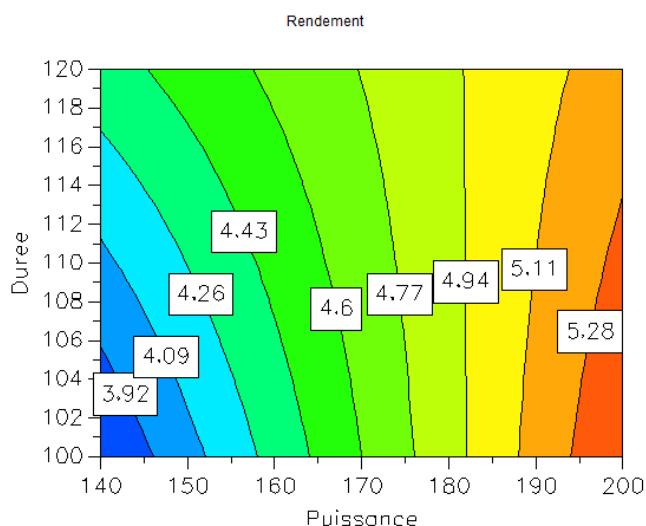


Figure V.2.4 : Courbe d'iso réponse montrant la variation de rendement en fonction de la puissance et le temps d'extraction.

V.1.2.2.2. Influence des facteurs sur l'Énergie d'extraction

En analysant la courbe d'iso réponse (Figure V.2.5), nous remarquons une augmentation de l'énergie consommée par notre plante qui est de 69.4 KJ/g à ce qui correspond à l'augmentation de la puissance et celle de temps. Ici nous remarquons que l'énergie d'extraction varie avec la puissance et la durée d'extraction.

Ceci peut s'expliquer par le fait que plus nous augmentons la puissance et la durée, plus l'évaporation de dichlorométhane demande de l'énergie.

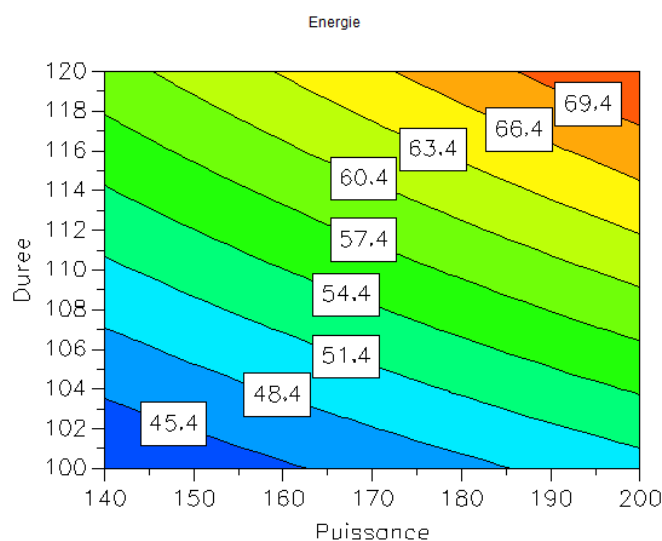


Figure V.2.5 : Courbe d'iso réponse montrant la variation de l'énergie en fonction de la puissance et le temps d'extraction

V.1.2.2.3. Influence des facteurs sur les polyphénols

La quantité en composés phénoliques augmente considérablement lorsqu'on augmente la puissance et la durée d'extraction. (Figure V.2.6.).

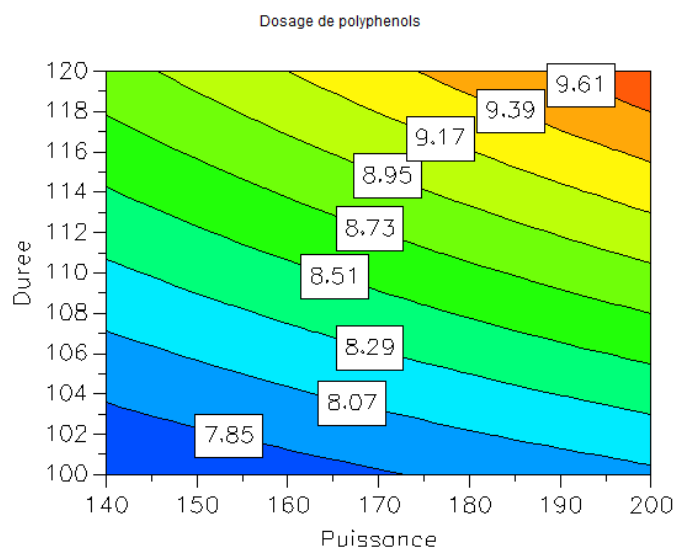


Figure V.2.6 : Courbe d'iso réponse montrant la variation de dosage de polyphénol en fonction de la puissance et le temps d'extraction

V.1.2.3. Modélisation mathématique de l'extraction dichlorométhanoïque de *Salvai officinalis L.*

En analysant par ANOVA, nous avons obtenu pour chacune des réponses étudiées les modèles mathématiques suivants respectivement pour le rendement, l'énergie d'extraction et le dosage des polyphénols:

$$Y_1 = 4,6875 + 0,734958X_p + 0,10208X_T - 0,286814X_pX_T$$

$$Y_2 = 8,5775 + 0,381626X_p + 0,864017X_T + 0,175213X_pX_T$$

$$Y_3 = 29,36 + 2,5 X_p + 10,27 X_T + 0,175213X_pX_T$$

Où,

X_p = c'est le facteur de puissance

X_T = c'est le facteur du temps.

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

V.1.3.Extraction avec l'Hexane

Les résultats du plan d'expériences factoriel complet à deux niveaux en utilisant le dichlorométhane sont représentés sous forme de tableau (Tableau V.5).

Tableau V.5. Matrice expérimentale du plan d'expériences factoriel complet pour l'extraction d'Hexane à deux niveaux pour les deux facteurs étudiés : temps d'extraction et durée d'extraction. Les niveaux -1 et +1 représentent respectivement le niveau inférieur et le niveau supérieur du domaine d'étude.

N° échantillon	Pemps	Puissance	Rendement (%)	Taux de polyphénol EAG	L'énergie d'extraction (kJ/g)
1	120 min	200w	3.80	1.38	72
2	100 min	200w	3.75	1.30	60
3	120 min	140 w	3.6	0.688	50,4
4	100 min	140 w	3.55	0.64	42

Tableau V.6 : Les niveaux haut et bas des facteurs pour l'extraction d'Hexane

Facteurs :	La durée d'extraction (min)	Puissance d'extraction (Watt)
niveau haut = +1	120	200
niveau bas = -1	100	140

Les résultats du plan d'expériences factoriel complet à deux niveaux en utilisant l'Hexane sont représentés sous forme des histogrammes, qui classent les effets contribuant à chacune des réponses par ordre décroissant d'importance.

V.1.3.1 : Effets des facteurs étudiés sur les réponses d'extraction d'Hexane :

Les résultats du plan d'expériences factoriel complet à deux niveaux sont représentés sous forme de histogramme, qui classent les effets contribuant à chacune des réponses par ordre décroissant d'importance.

A travers une courbe de contour de réponse Figure V.3.1, Nous observons une influence positive de la puissance et une influence doublement positive de la durée sur le rendement, l'interaction entre les deux facteurs présente une influence très faible.

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

L'augmentation du temps et de la puissance d'extraction ensemble donne moins de rendement par rapport à leur effet séparément.

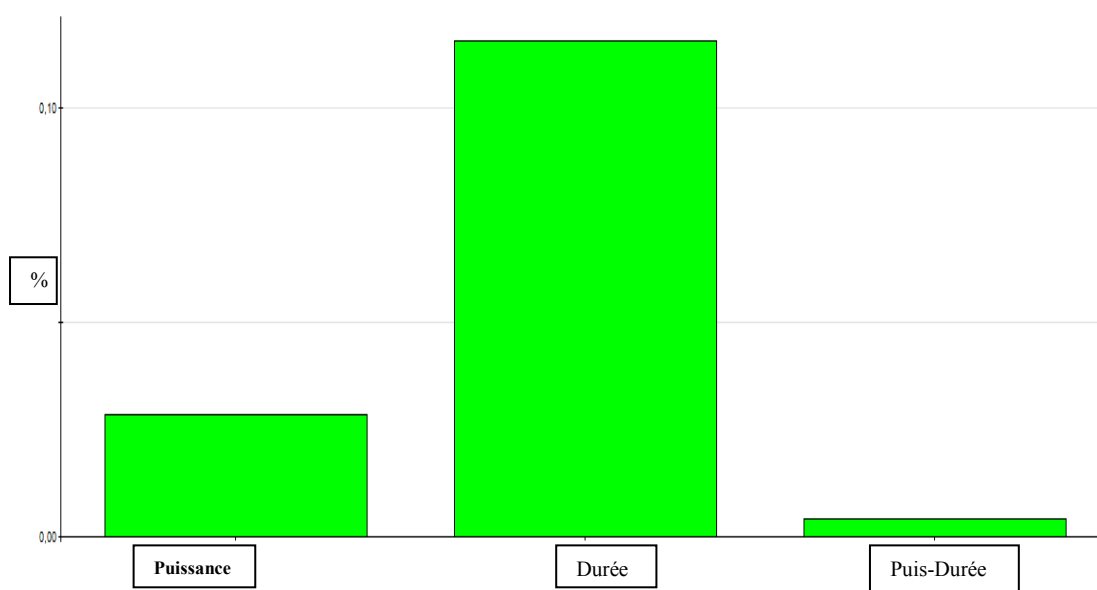


Figure V.3.1 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur le rendement.

Le graphe V.3.2 montre une influence positive de la durée et de puissance sur l'énergie d'extraction, l'interaction entre les deux facteurs présente une influence un peu faible. Ceci peut expliquer par le fait que le dichlorométhane est très volatil.

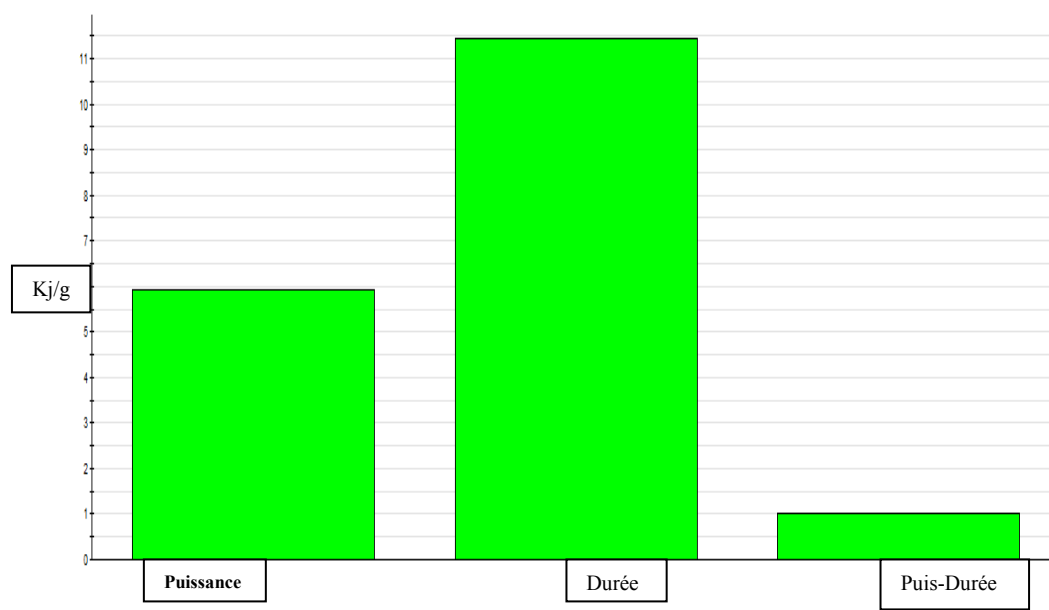


Figure V.3.2 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur l'Énergie d'extraction.

Nous observons à travers cet histogramme une influence faiblement positive de la puissance et une influence positive de la durée sur le dosage de polyphénols, l'interaction entre les deux facteurs présente une influence très faible (figure V.3.3).

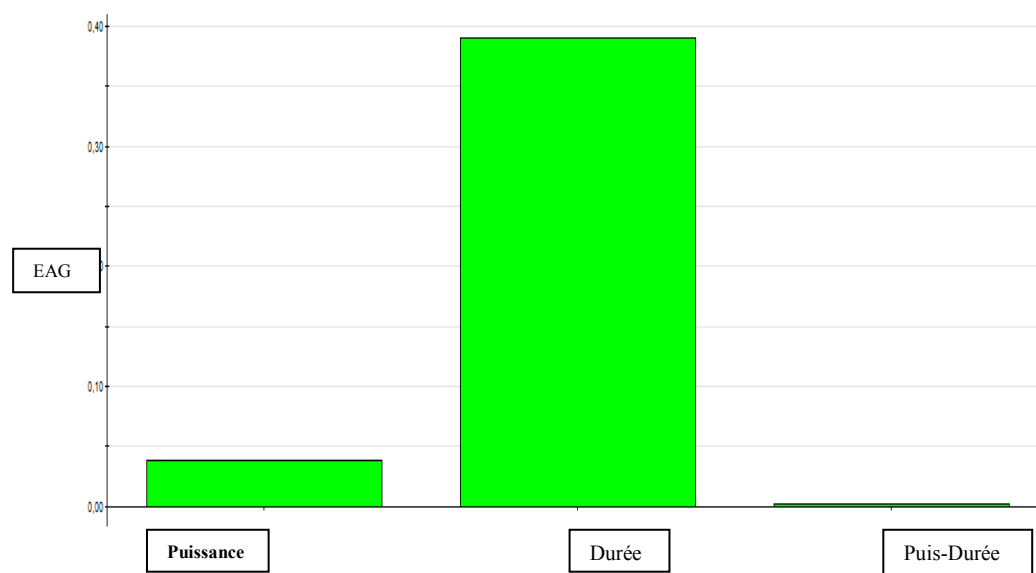


Figure V.3.3 : Influence de la durée et de la puissance d'extraction sur dosage des polyphénols.

V.1.3.2 : Estimation des effets principaux, des effets et des interactions sur les réponses :

V.1.3.2.1 : Influence des facteurs sur le rendement

La figure V.3.4. illustre l'évolution du rendement d'extraction en fonction de la puissance du chauffage et de la durée d'extraction.

Nous voyons que la durée est plus influent que la puissance d'extraction, une augmentation de la durée et une augmentation du rendement jusqu'à 3,779 % ; et en augmentant la puissance, le rendement d'extraction n'évolue pas vraiment.

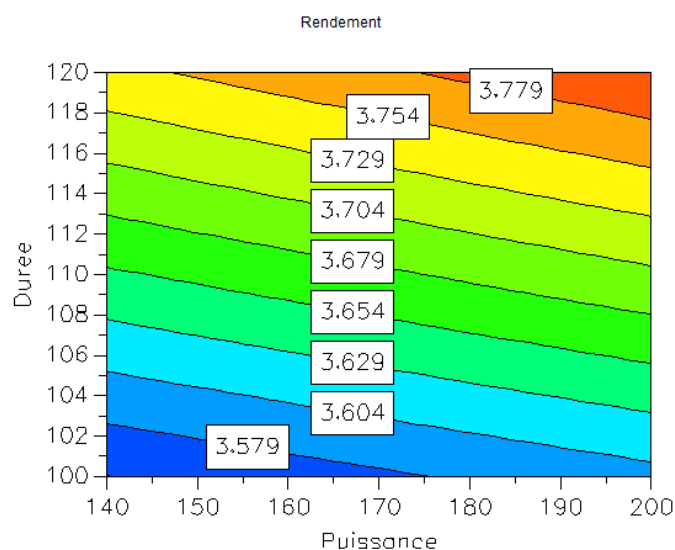


Figure V.3.4 : Courbes d'iso réponse montrant l'effet de la puissance et de la durée d'extraction sur le rendement.

V.1.3.2.2 : Influence des facteurs sur l'Énergie d'extraction

La courbe d'iso-réponse figure V.3.5 montrent que l'énergie d'extraction augmente a 68.9 kj/g significativement plus la puissance et la durée d'extraction augmentent. et a la puissance 170 W on voit une augmentation de l'énergie en fonction de la durée jusqu'à 59.9kj/g.

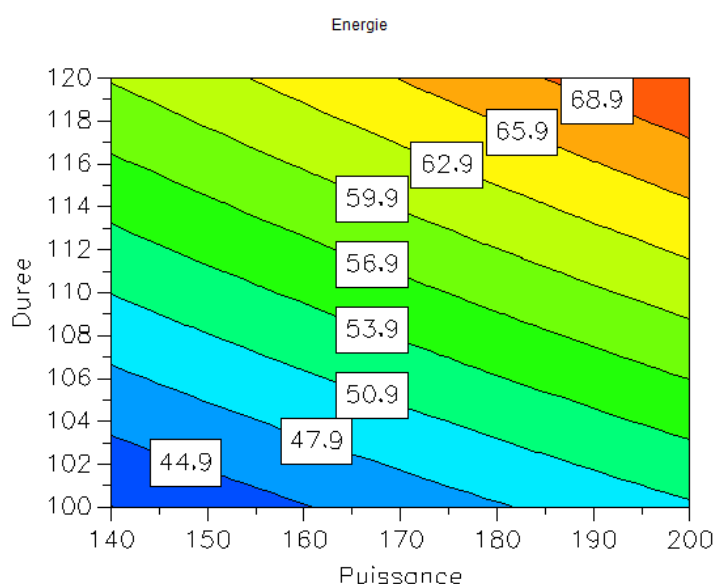


Figure V.3.5 : Courbes d'iso réponse montrant l'effet de la puissance et de la durée d'extraction sur l'énergie d'extraction.

V.1.3.2.3 : Influence des facteurs sur les polyphénols

La quantité en composés phénoliques augmente considérablement lorsqu'on augmente la durée d'extraction. A la puissance 170 W, l'extraction de l'extrait de plante se stabilise ce qui veut dire qu'à cette puissance nous pouvons déjà extraire tous types de polyphénols cependant, l'influence du temps continue positivement jusqu'à l'épuisement de la plante (1.299 mg EAG/g). Le résultat de contour de courbe de réponse est illustré dans la figure V.3.6.

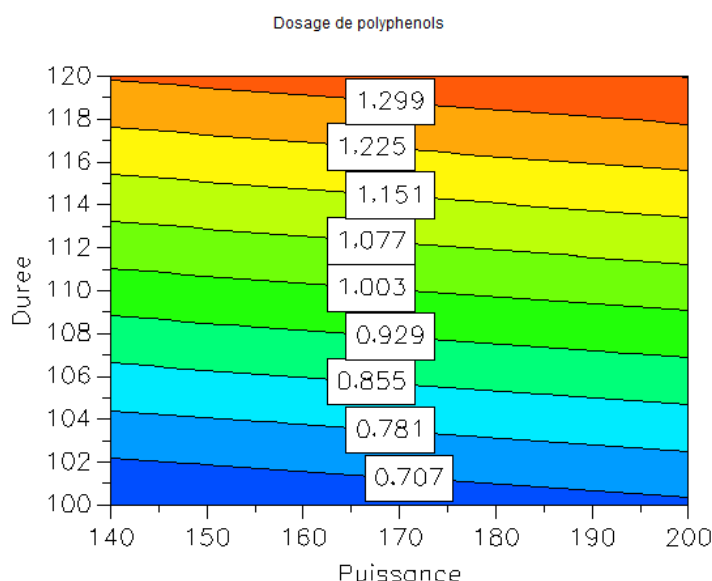


Figure V.3.6 : Courbes d'iso réponse montrant l'effet de la puissance et de la durée d'extraction sur le dosage des polyphénols.

V.1.3.3 : Modélisation mathématique de l'extraction d'Hexane de *Salvia officinalis* L.

En analysant par ANOVA, nous avons obtenu pour chacune des réponses étudiées les modèles mathématiques suivants respectivement pour le rendement, l'énergie d'extraction et le dosage de polyphénols:

$$Y_1 = 3,675 + 0,0282526X_p + 0,115513X_T + 0,00406191X_pX_T$$

$$Y_2 = 1,002 + 0,0382358X_p + 0,390198X_T + 0,00217554X_pX_T$$

$$Y_3 = 56,1 + 5,91449X_p + 11,4297X_T + 1,03145X_pX_T$$

Où,

X_p = c'est le facteur de puissance

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

$X_T = c$ est le facteur du temps.

V.1.4. Discussion

L'utilisation de Soxhlet visait à augmenter les rendements d'extractions des molécules naturelles de *Salvai officinalis L.*

Trois optimisations d'extractions ont été réalisées; la première avec l'éthanol et la seconde avec dichlorométhane enfin, la troisième avec l'Hexane. L'extraction effectuée a permis d'obtenir des rendements optimaux de 27.10% avec l'éthanol et de 5.45 % avec le dichlorométhane, quand à l'Hexane, nous avons obtenu 3,80 %.

Pour l'obtention des différents extraits de la poudre de la partie feuille de *Salvai officinal L.* par la méthode de Soxhlet, Cette extraction a permis d'obtenir trois extraits bruts pour la plante en choisissant les optimaux de chacune des conditions d'extractions : l'extrait d'Hexane (EH), l'extrait dichlorométhane (EDCM) et l'extrait éthanol (EE).

L'extrait d'Ethaol de *Salvai officinalis L.* représente le rendement le plus élevé 27.10 % suivi de l'Hexane a le plus faible rendement avec 3,80 %.

L'utilisation de solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de cette plante selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction.

Le rendement des extractions, l'aspect et la couleur des extraits sont reportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau V.7 : Aspects, couleurs et rendements des extraits de la partie aérienne de *Salvai officinalis L.*

Plante	Extrait	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Salvai officinalis L.	EH	Pâteux	Noire	27.10
	EDCM	Pâteux	Noire	5,45
	EE	Pâteux	Noire	3,80

V.1.5. Conclusion :

Cette extraction a permis d'obtenir trois extraits bruts pour chaque solvant : l'extrait méthanoïque, l'extrait de l'Hexane et l'extrait dichlorométhane (EDCM). Du point de

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

vue rentabilité en poids, les extraits polaires (éthanol) ont donné les proportions les plus élevées en comparaison avec les extraits moins polaires (EH et DCM).

V.2.Quantification des polyphénols dans l'extrait brut des différents solvants :

En se basant sur les valeurs d'absorbance des diverses solutions d'extrait, ayant réagi avec le réactif de Folin Ciocalteu et comparées à la solution étalon en équivalence d'acide gallique comme décrit ci-dessus, les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques totaux sont résumés dans le tableau V.8.

Tableau V.8 : Les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques totaux.

Expérience		Molécules recherchées	
Puissance (W)	Durée (minute)	Extrait	Teneur en composés phénoliques (mg/ GAE)
+1	+1	Ethanol	174,0
		DCM	9,82
		Hexane	1,30
-1	+1	Ethanol	147,4
		DCM	8,81
		Hexane	1,38
+1	-1	Ethanol	136,8
		DCM	8,02
		Hexane	0,69
-1	-1	Ethanol	123,4
		DCM	7,66
		Hexane	0,64

Suivant le tableau ci-dessus, les teneurs en polyphénols enregistrés en équivalent d'acidegallique en mg par g d'extrait, montre des proportions allant de 1,38 à 174 (mg/ GAE) de poudre de *Salvai officinalis L.* suivant les optimums choisis selon les conditions choisies.

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

L'extrait d'Ethanol de *Salvai officinalis L.* représente la teneur la plus élevée en polyphénols, ce résultat confirme la grande richesse de cette plante en substances polyphénol et L'extrait de l'Hexane représente la fraction la plus pauvre en polyphénols avec 1.38 %.

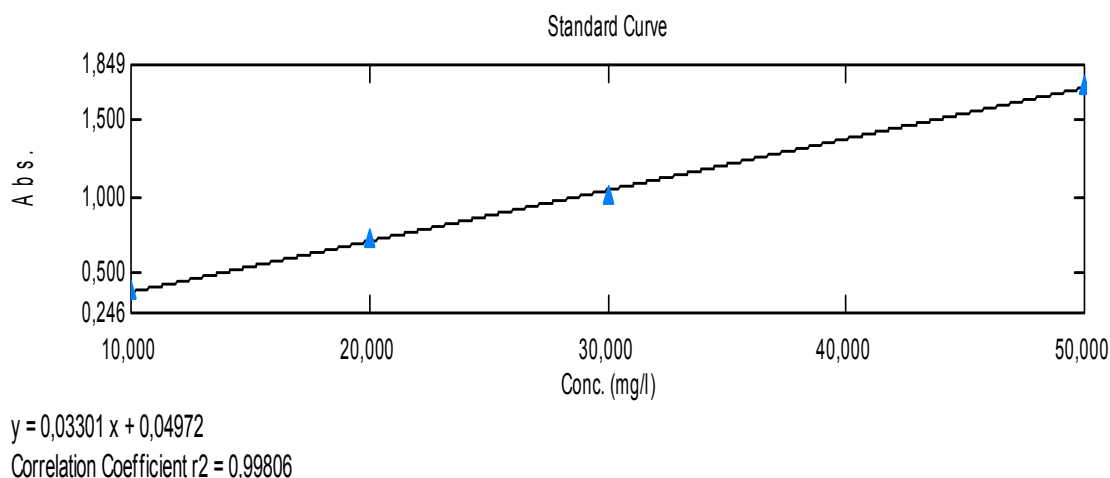


Figure V.3.7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La quantité de composés phénoliques totaux aurait varié considérablement à travers les divers temps et puissance d'extractions choisies de plante et s'est étendu de 174 à 0.64 mg équivalent d'acide gallique / g de matière sèche respectivement au niveau du point (+1;+1) et (-1;-1) du plan d'expérience.

V.2.1. Discussion

Selon les résultats illustrés ci-dessus, on distingue que l'extrait éthanolique sont riches en phénols totaux par rapport ou les extraits de Dichlorométhane et l'Hexane qui a présenté la teneur la plus faible. Les teneurs obtenues sont :

17.40 mg EAG/g d'extrait d'éthanolique

9.82 mg EAG/g d'extrait de Dichlorométhane

5.38 mg EAG/g d'extrait d'Hexane

En effet, la teneur des phénols totaux n'est pas stable, et se diffère d'un solvant à un autre, ce qui est le cas dans notre étude concernant l'éthanol c'est le plus élevé de concentration maximale de **(174 mg EAG/g d'extrait)** par rapport ou deux solvants **(Dichlorométhane et l'Hexane)** de valeur **(9.82 mg EAG/g d'extrait , 5.38 mg EAG/g d'extrait)**. c'est résultat du à la polarité des solvants, l'éthanol le plus polaire avec indice de polarité = 5.1 , pour le **Dichlorométhane = 3,1** et pour l'**Hexane = 0,1**. [40]

V.2.2. Conclusion

Le test biochimique des feuilles de cette espèce ont mis en évidence la présence des principes actifs du métabolisme secondaire qui appartient aux polyphénols.

Un meilleur rendement de 174 (mg EAG/ml d'extrait) de polyphénols totaux est obtenu par extrait éthanoïque, ces polyphénols renferment probablement des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes. Ces différents composés du métabolisme secondaire sont probablement responsables des différentes activités biologiques de la plante.

V.3.Études de procédés de la microencapsulation :

V.3.1.Optimisation du procédé de microencapsulation :

V.3.1.1.Observations macroscopiques :

Après avoir ajusté le pH à 4, nous avons obtenu une séparation de phase ce qui veut dire que nous avons eu de coacervat. La figure suivante montre les huit expériences après l'ajustement à pH =4.



Figure V.4.1 : Les expériences apres l'ajustement de pH = 4.

V.3.1.2.Observations microscopiques

Après avoir ajouté l'agent de réticulation et l'ajustement de pH à 9, nous avons observé chaque expérience par microscope optique avec un grossissement de 25.

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

Les images suivantes montrent les différentes observations que nous avons effectuées.

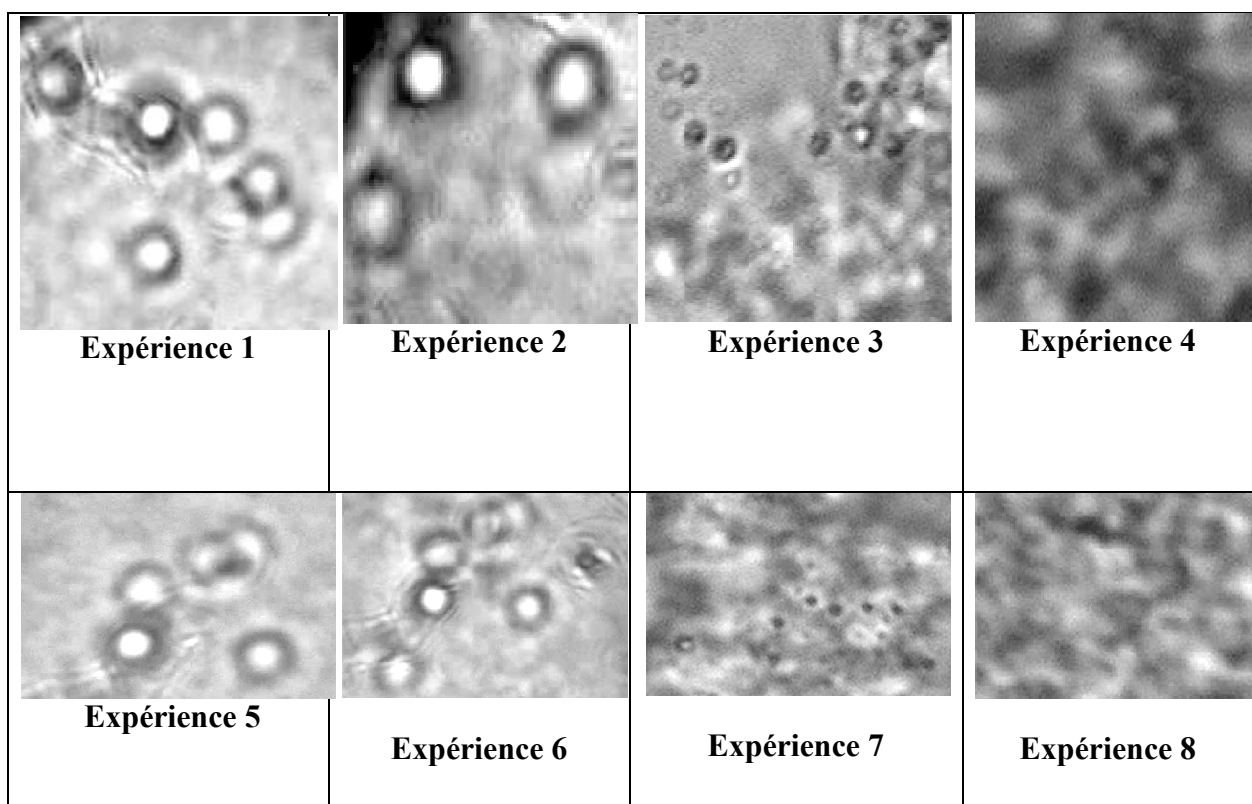


Figure V.4.2 : Photographies obtenue par microscope optique des huit expériences.

A travers ces photos, les expériences 1,2, 5 et 6 contiennent des microcapsules. Puis, les expériences 3 et 7 ont donné des capsules de très mauvaise qualité. Cependant, les expériences 4 et 8 nous avons obtenu que des agglomérats.

Les résultats de l'optimisation des procédés de microencapsulation sont représentés dans le tableau V.9.

Tableau V.9 : Les résultats de l'optimisation des procédés de microencapsulation

Éssais	le ratio noyau : paroi	Ratio gélatine/ pectine	Agent de durcissement (ml)	Le rendement de la coacervation (%)	L'efficacité d'encapsulation (%)
1	-1	-1	-1	86,34	74,31
2	+1	-1	-1	83,85	43,04
3	-1	+1	-1	61,34	19,24

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

4	+1	+1	-1	39,32	13,47
5	-1	-1	+1	65,35	68,44
6	+1	-1	+1	58,20	39,42
7	-1	+1	+1	48,21	16,91
8	+1	+1	+1	37,73	11,87

Tableau V.10 : Les niveaux haut et bas des facteurs pour l'extraction d'Hexane.

Facteurs :	le ratio noyau : paroi	Ratio gélatine/ pectine	Agent de durcissement (ml)
niveau haut = 1	1/3	5/2	2
niveau bas = -1	1/4	5/3	1

V.3.1.3 : Effet des différents facteurs sur les réponses étudiées

Le graphe suivant représente les coefficients du modèle pour le rendement.

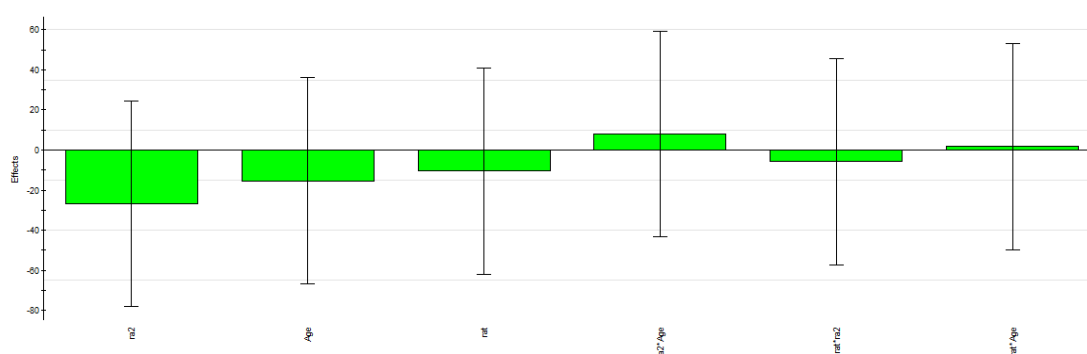


Figure V.4.3. Coefficients du modèle pour le rendement

Nous observons une influence négative du ratio Noyau : Paroi et du ratio G : P sur le rendement cependant, l'agent de durcissement influe très peu. L'interaction entre le ratio G : P et l'agent de durcissement influence positivement.

Le graphe suivant représente les coefficients du modèle pour le taux d'encapsulation.

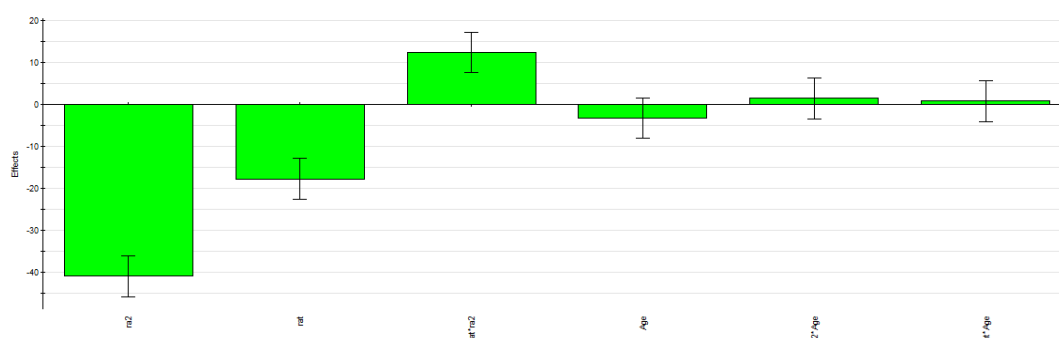


Figure V.4.4 : Coefficients du modèle pour le taux d'encapsulation.

Nous observons une influence négative de tous les facteurs et de leurs interactions à l'exception de l'interaction entre le ratio G : P et la quantité de l'agent de durcissement qui influence positivement.

V.3.1.3.1 : Effets sur le rendement

V.3.1.3.1.1 : Effet de ratio noyau : paroi et de ratio G : P en fixant agent de durcissement sur les réponses étudiées

La figure ci-après montre le contour de prédiction du rendement en fonction du ratio noyau : paroi et de ratio G : P.

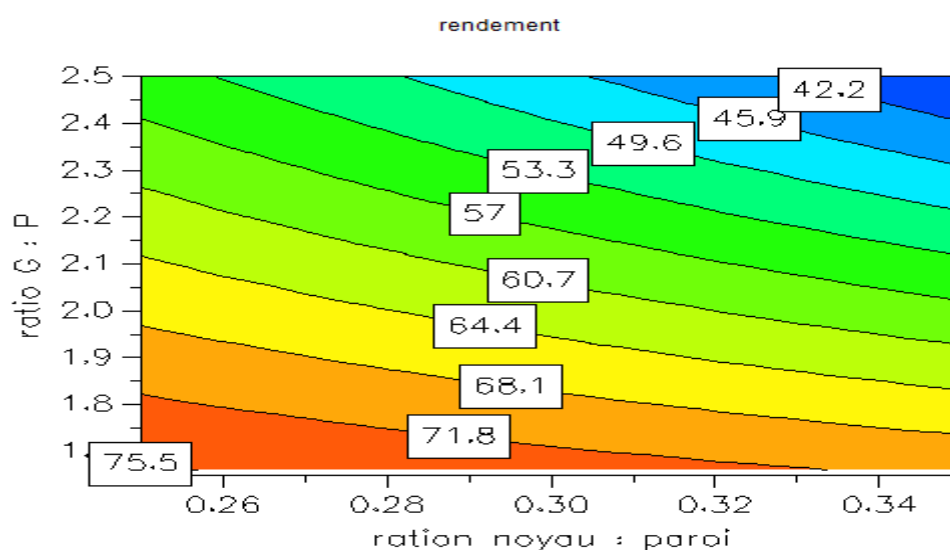


Figure V.4.5 : Courbes d'iso réponses obtenues, montrant l'effet de ratio noyau : paroi et G : P sur le rendement.

Nous remarquons ici que à faible ratio noyau : paroi et à ratio minimum de G : P, il y a une forte augmentation du rendement qui peut aller jusqu'à 74,31%. Ceci veut dire que l'augmentation du ratio noyau : paroi entraîne une diminution du rendement tout comme le ratio G : P.

V.3.1.3.1.2. Effet de ratio G : P et l'agent de durcissement en fixant le ratio noyau : paroi sur les réponses étudiées

La figure ci-après montre le contour de prédiction du rendement en fonction de ratio G : P et de l'agent de durcissement.

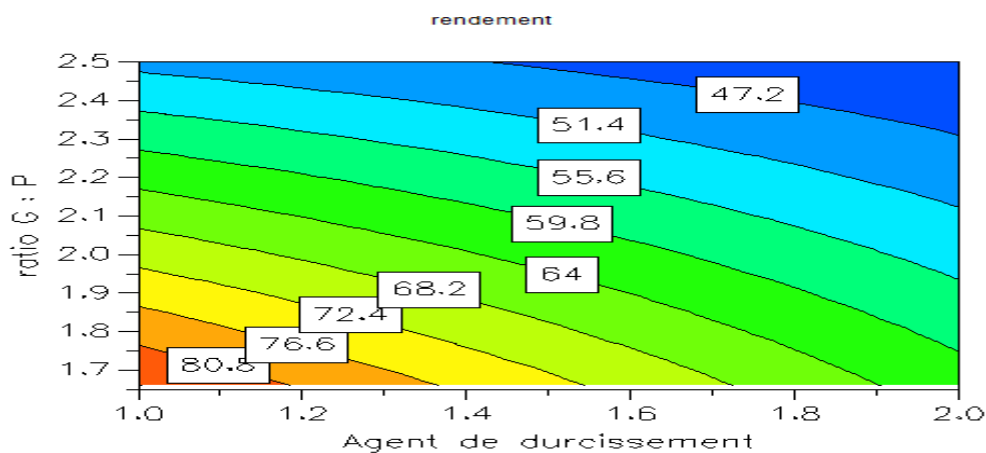


Figure V.4.6 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant l'effet de ratio G : P et l'agent de durcissement sur le rendement.

Nous remarquons une augmentation de rendement lors ce que le ratio G : P et Agent de durcissement diminuent.

V.3.1.3.1.3. Effet de l'agent réticulant et de ratio Noyau : paroi en fixant le ratio G : P sur les réponses étudiées

La figure ci-après montre le contour de prédiction du rendement en fonction du ratio noyau : paroi et de l'agent de réticulation.

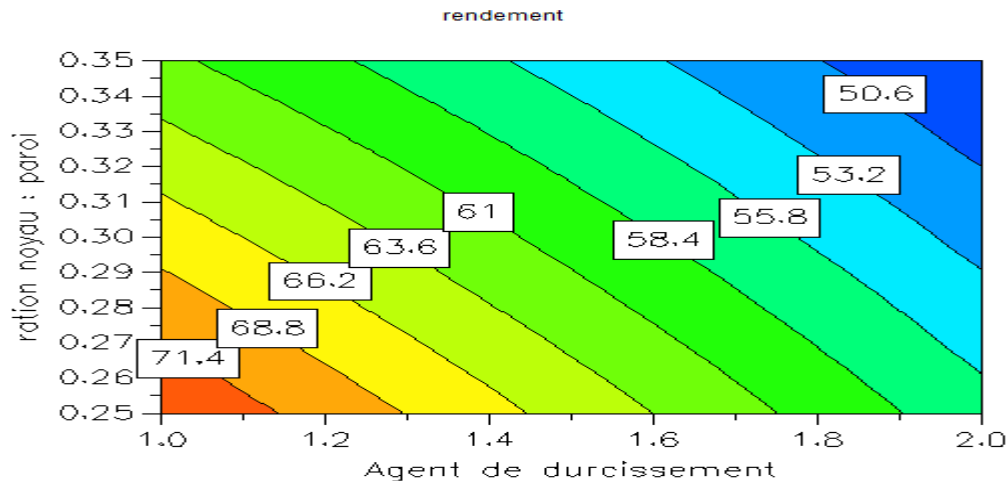


Figure V.4.7 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant l'effet de l'agent de durcissement et de ratio noyau : paroi sur le rendement.

Nous avons remarqué ici l'augmentation du rendement de 71,4 % ce rendement correspond à la diminution de l'agent de durcissement et une diminution du ratio noyau : paroi, Ceci peut s'expliquer par le fait que la condition optimale correspond à faible ratio Noyau : paroi et la quantité de l'agent de durcissement.

V.3.1.3.2.Effets sur le taux d'encapsulation

V.3.1.3.2.1.Effet de ratio noyau : paroi et de ratio G : P en fixant agent de durcissement sur les réponses étudiées

La figure ci-après montre le contour de prédiction du taux d'encapsulation en fonction du ratio noyau : paroi et de ratio G : P.

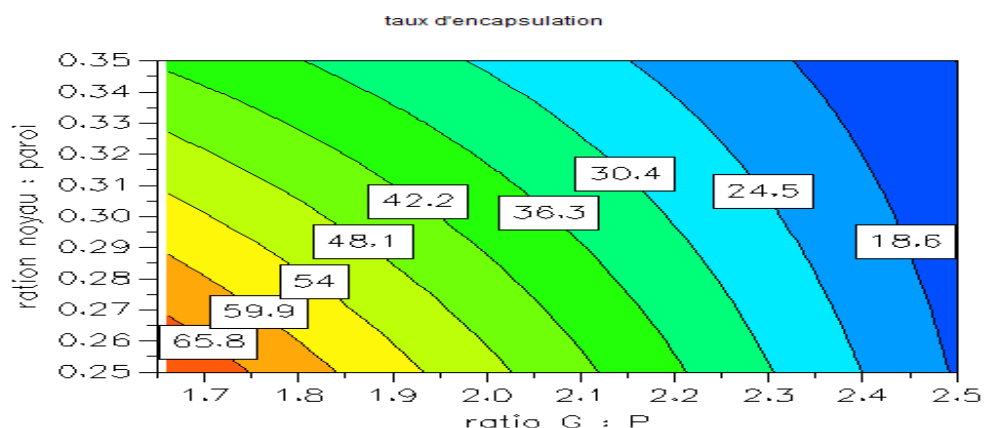


Figure V.4.8 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant les effets de ratio noyau : paroi et ratio G : P sur le taux d'encapsulation.

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

Dans ce cas, nous avons remarqué une influence négative des ratios G : P et noyau : paroi sur le taux d'encapsulation.

Ceci peut être expliqué par l'augmentation des électrolytes solubles de l'extrait dans la solution qui entraîne le faible taux d'encapsulation.

V.3.1.3.2.2. Effet de ratio G : P et l'agent de durcissement en fixant le ratio noyau : paroi sur les réponses étudiées.

La figure ci-après montre le contour de prédiction du taux d'encapsulation en fonction du ratio G : P et de l'agent de durcissement.

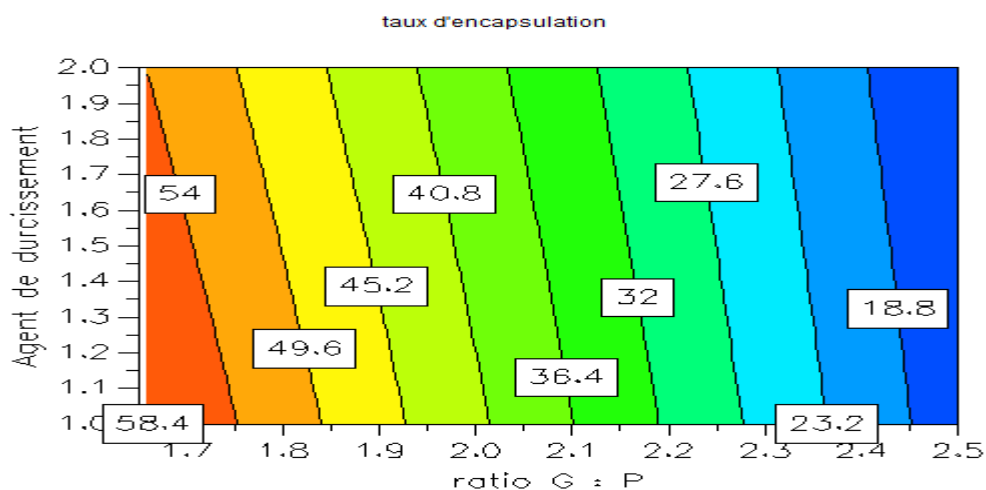


Figure V.4.9 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant l'effet de ratio G : P et l'agent de durcissement sur le taux d'encapsulation.

Nous remarquons une augmentation du taux d'encapsulation en diminuant le ratio G : P. par contre la quantité de l'agent de durcissement n'a pas une grande influence.

Le taux d'encapsulation est important d'autant plus que si le ratio G : P diminue. Tout comme le ratio G : P, l'ajout de l'agent de durcissement diminue le taux d'encapsulation diminue.

A la fin du procédé d'encapsulation, les microcapsules formées sont bien résistantes en raison de la nature ionique des interactions entre les polymères et la pectine qui a un grand pouvoir gélifiant. Elles sont donc bien réticulées d'où l'intérêt de l'ajout de cet agent de durcissement par de très petite quantité afin d'éviter l'agrégation.

V.3.1.3.2.3. Effet de l'agent réticulant et de ratio noyau : paroi en fixant le ratio G : GA sur les réponses étudiées.

La figure ci-après montre le contour de prédiction du taux d'encapsulation en fonction du ratio noyau : paroi et de l'agent de durcissement.

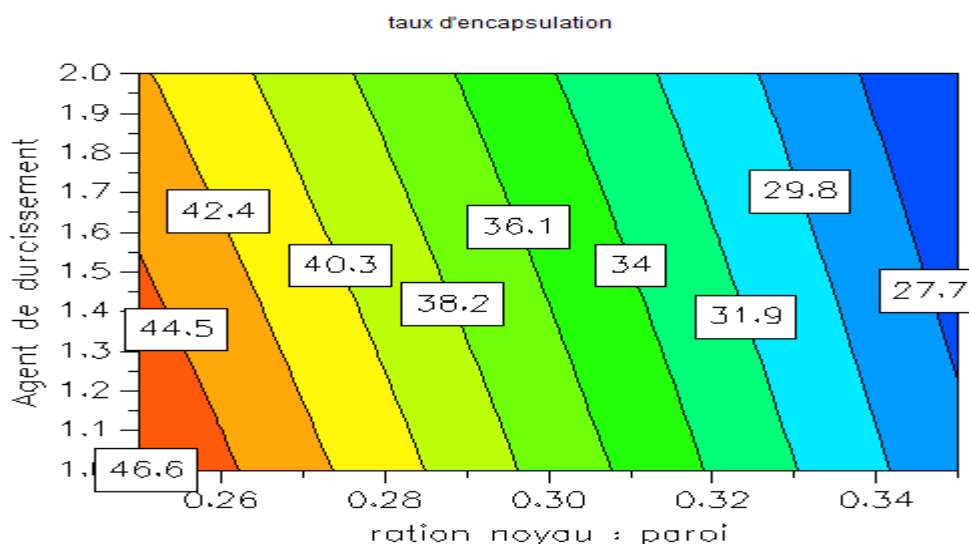


Figure V.4.10 : Courbes d'iso réponses obtenues montrant l'effet de l'agent de durcissement et de ratio noyau : paroi.

Nous remarquons ici une grande influence du ratio noyau : paroi et une influence moins importante de la quantité de l'agent de durcissement sur le taux d'encapsulation.

V.3.1.4. Modélisation mathématique de l'optimisation de procédé de microencapsulation des extraits de sauge.

En analysant par ANOVA, nous avons obtenu pour chacune des réponses étudiées les modèles mathématiques suivants respectivement pour le rendement et le taux d'encapsulation:

$$Y_1 = 60,0425 - 5,26751X_1 - 13,3925X_2 - 7,67X_3 - 2,85749 X_1X_2 + 0,859995 X_1X_3 + 3,99 X_2X_3$$

$$Y_2 = 35,8375 - 8,88751 X_1 - 20,465 X_2 - 1,6775X_3 + 6,18501 X_1X_2 + 0,372495 X_1X_3 + 0,695002 X_2X_3$$

Où,

X_1 : le facteur ratio Noyau : paroi;

X_2 : le facteur ratio G : P ;

X_3 : l'agent de durcissement.

V.3.2.Discussions

Le ratio Gélatine : Pectine (G:P) est un facteur influençant les propriétés des complexes obtenus. À un pH= 4, le ratio massique G:P va conditionner la neutralisation des charges entre les deux macromolécules (un pH qui charge la protéine). Si la neutralisation des complexes se produit à un ratio G:P de 5/3, toute augmentation ou diminution de ce ratio entraînera un gain de solubilité des complexes et par conséquent une diminution des complexes ce propos a été étudié par (Kaibara *et al*, 2000) dans le cas de protéine-polysaccharide.[36]

Le ratio noyau paroi est aussi un paramètre non moins important dans la formation de complexes par coacervation. Nous avons vu dans cette étude qu'à un ratio supérieur à 1/4 l'apparition de complexes est supprimée au profit d'une séparation de phases ségrégative.

L'agent réticulant doit être en petite quantité pour la préparation des capsules, car celui-ci n'est pas d'une grande utilité car la pectine a un grand pouvoir gélifiant. Cependant, si on estime, d'après nos résultats que seulement 1ml de l'agent réticulant initialement en solution organique contribue à la formation des microcapsules. Mais l'augmentation de la quantité de l'agent de durcissement à 2 ml favorise la formation d'agrégats et probablement le relargage des PA de l'intérieur des microcapsules vers le milieu extérieur.

V. 4 : Évaluation de l'Activité anti-inflammatoire in-vivo:

Pour justifier l'utilisation traditionnelle de la sauge (*salvia officinalis*) nous évalué l'activité anti-inflammatoire de l'extrait préparé à partir des feuilles de cette plante.

Le modèle de l'inflammation aigue a été choisi pour étudier l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de plante en utilisant le test de l'œdème plantaire chez les souris (**Test de Levy**).

Les résultats de l'administration des extraits de plante sur les souris albinos aux quels nous avons provoqué l'inflammation par l'injection de la carragénine 1 % dans la surface plantaire de la patte arrière gauche, sont mentionnée sur le **tableau**

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

Tableau V.11: Récapitulation des résultats de l'administration des extraits de plante sur les souris albinos.

Lot Témoin		Lot Référence		Lot Essai 1		Lot Essai 2	
Pattes gauches (g)	Pattes droites (g)	Pattes gauches (g)	Pattes droites (g)	Pattes gauches (g)	Pattes droites (g)	Pattes gauches (g)	Pattes droites (g)
0.149	0.141	0.1600	0.1158	0.1581	0.1253	0.1681	0.1381
0.198	0.160	0.1487	0.1276	0.1609	0.1327	0.1432	0.1224
0.176	0.141	0.1382	0.1318	0.1535	0.1346	0.1297	0.1226
0.236	0.166	0.1459	0.1365	0.1561	0.1354	0.1260	0.1228
La moyenne = 0.1897	La moyenne = 0.1520	La moyenne = 0.1482	La moyenne = 0.1279	La moyenne = 0.1495	La moyenne = 0.1320	La moyenne = 0.1417	La moyenne = 0.1265
% d'augmentation d'œdème = 24.80 %		% d'augmentation d'œdème = 15.85%		% d'augmentation d'œdème = 13.26%		% d'augmentation d'œdème = 12.02%	
		% de réduction d'œdème = 36.08 %		% de réduction d'œdème = 46.53 %		% de réduction d'œdème = 51,53 %	

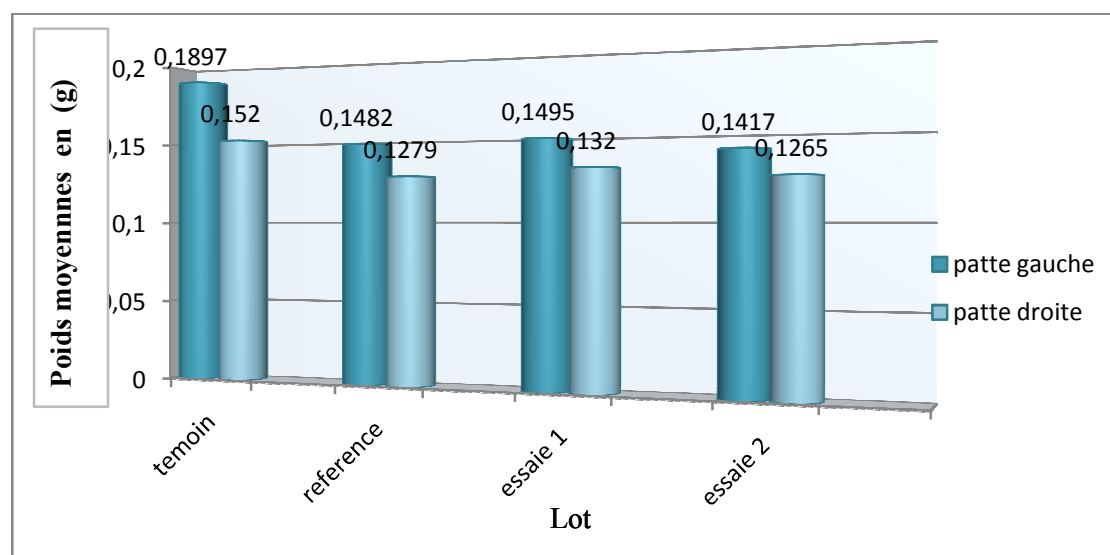


Figure V.5.1: Evolution de poids moyennes des pattes droites et pattes gauches des souris des quatre lots.

Nous constatons que dans les mêmes conditions opératoires le gavage de l'extrait des plantes de sauge pour les deux lots essai, induit une diminution des poids moyens des pattes gauche et cela est remarquable en les comparants aux pattes droites.

Partie Résultats et discussion Chapitre V.

Pour le lot de référence, nous avons remarqué une diminution des poids moyens des pattes gauches sauf qu'elle est moins que celle observée dans les deux lots d'essai.

- Cependant, aucune diminution des poids moyens des pattes gauche n'a été observée dans le lot témoin.
- En effet nous avons enregistré une diminution des poids moyens des pattes gauches du lot de référence ($P = 0.1482 \text{ g}$) par rapport aux poids moyens des pattes gauches du lot témoin ($P = 0.1897 \text{ g}$) (Tableau V.11).
- Cette observation est la même dans les deux lots d'essai, c'est-à-dire une diminution des poids moyens des pattes gauche ($P1 = 0.1495 \text{ g}$) et ($P2 = 0.1417$) par rapport aux poids moyens des pattes gauches du lot témoin ($P = 0.1897 \text{ g}$) (Tableau V.11).

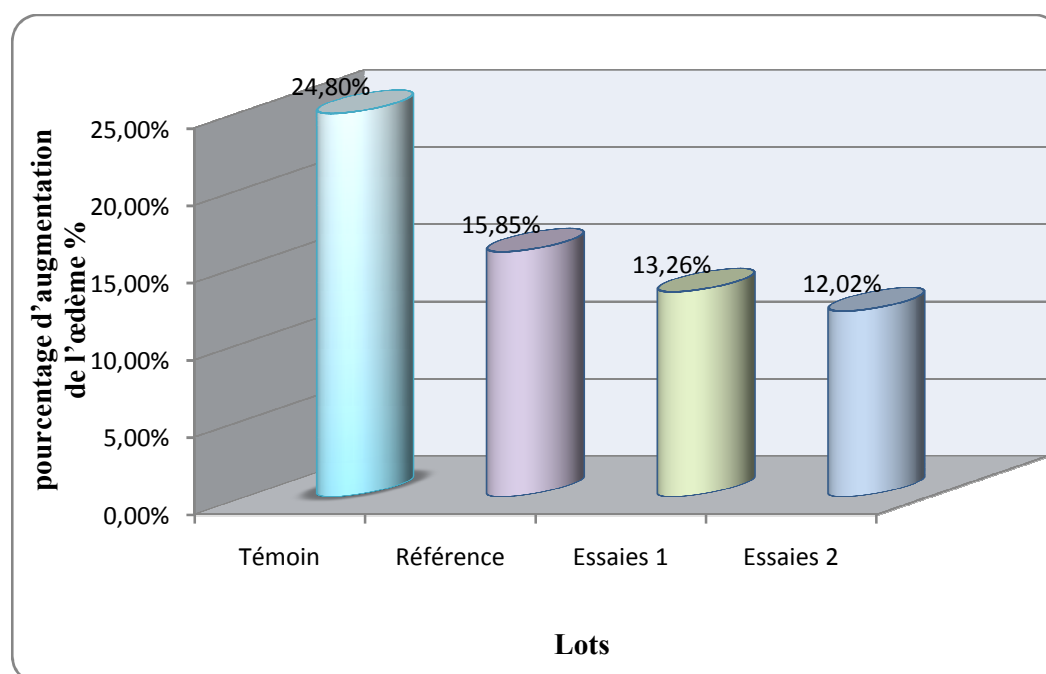


Figure V.5.2 : Le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites des quatre lots.

Le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites du témoin est de **24.80 %**, concernant le lot de référence nous avons remarqué que le pourcentage d'augmentation de l'œdème est de **15.85%** et enfin nous signalons un pourcentage d'augmentation de l'œdème pour les deux lots d'essai d'environ (**lot 1= 13.26%**) et (**lot 2 = 12.02%**).

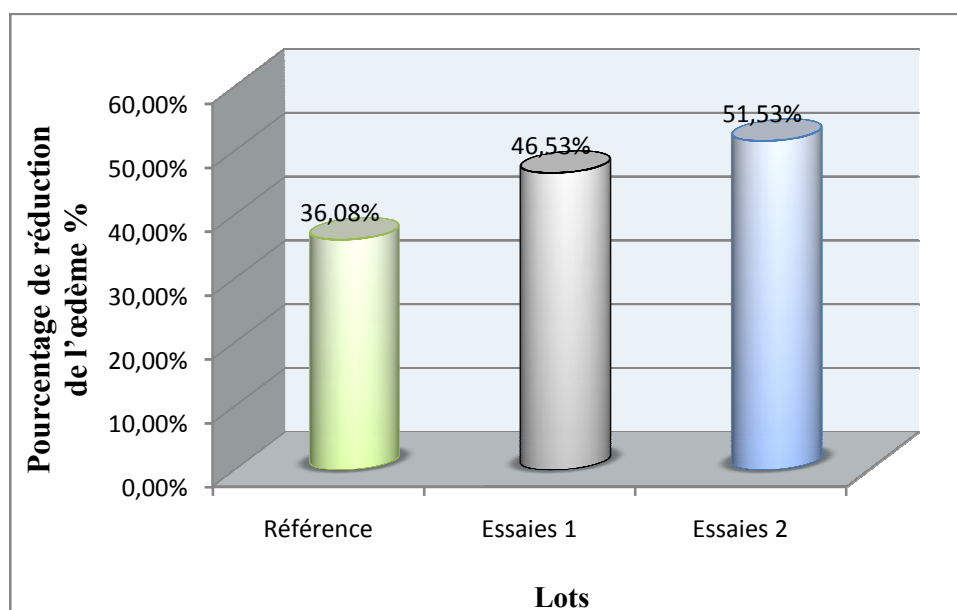


Figure V.5.3 : Le pourcentage de réduction de l'œdème de lot de référence et les deux lots d'essai par rapport au témoin.

Nous avons constaté un pourcentage de réduction de l'œdème des souris traitées par le produit de référence le **Diclofénac** par rapport au témoin qui est de **36.08 %** et ce pourcentage est élevé dans les deux lots d'essai (extrait de plantes de la sauge) qui est de (**lot 1 = 46.53**) et (**lot 2 = 51.53**). Ceci démontre le grand pouvoir anti-inflammatoire des extraits de la sauge (**S.Officinalis**).

La carragénine a été prise comme un prototype de phase expérimentale de l'inflammation aiguë dont les mécanismes et les médiateurs impliqués sont communs à ceux déclenchés par les microbes de stimulus inflammatoire, les produits chimiques et les cellules nécroses.

Le développement de l'œdème après une injection de carragénine au niveau de la patte d'une souris est attribué à la libération d'histamine, sérotonine, Kinines et prostaglandines [41].

Le Diclofénac agit sur le métabolisme des prostaglandines à travers une inhibition de COX1 et COX2, ce qui provoque la diminution de l'œdème.

Conclusion générale

L'objectif principal de ce présent travail est de valoriser une espèce végétale disponible dans notre pays ; il s'agit de la sauge (*Salvia officinalis*) par extraction des matières actives par soxhlet et l'optimisation des paramètres opératoires moyennant la stratégie expérimentale des plans d'expériences.

Les résultats de l'optimisation de l'extraction par soxhlet moyennant trois solvants a montré que le meilleur rendement a été obtenu avec l'éthanol et estimé à 27.10 % pour une puissance de 200 W et une durée de 120 min. Le taux de polyphénols optimal est de l'ordre de 174 mg EAG/g, ce qui confère à notre extrait des vertus thérapeutiques qui peuvent être très intéressants.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons encapsulé les composés bioactives de la sauge afin de les stabiliser par un procédé de coacervation complexe en utilisant la gélatine et la pectine comme matériaux enrobant, un taux d'encapsulation maximal a été obtenu et évalué à 74,31%.

Les activités biologiques de notre extrait ont été évalué ; il s'agit de l'activité anti-inflammatoire in-vivo sur les souris en utilisant la méthode de l'œdème de la patte induit par la carragénine, un pourcentage de réduction de l'œdème de **51.53 %** a été obtenu et semble très intéressant

Enfin, il semble que la plante étudiée (*Salvia officinalis*), est très prometteuse dans le domaine pharmaceutique, ceci est justifié par le taux de polyphénols très appréciable et par l'activité anti-inflammatoire prouvée par cette présente étude qui n'est qu'une étape préliminaire et qui ouvre de vastes perspectives pour la poursuite et la continuité de ce travail. Il serait très intéressant de découvrir les molécules mystérieuses de cette plante et qui sont à l'origine de son effet et ce par des études de caractérisation plus poussées telles que la LCMS et la HPLC avancée.

Il serait aussi souhaitable de découvrir d'autres effets biologiques de l'extrait de cette plante par des tests in-vivo réalisés dans des conditions d'éthique.

Référence bibliographique

- [1] : VACHERON Sophie ; Thèse : La phytothérapie Dans la prise en charge Des Troubles Veineux A l'Officine, Docteur en Pharmacie, 2010-2011
- [2] : SEBAI Mohamed et Mr BOUDALI Mohamed; Thèse : La phytothérapie entre la confiance et mefiance, 2012
- [3] : Bérubé-Gagnon J. Thèse : Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. . 2006, Université de Québec.
- [4]: Mr Mohsen Hamidpour,¹ Rafie Hamidpour,² Soheila Hamidpour,³ and Mina Shahlari⁴ Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (*Salvia*) to Prevent and Cure Illnesses suchas Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer; J Tradit Complement Med. 2014 Apr-Jun; 4(2): 82–88.
- [5] : KHIREDINE Hamida; Thèse : comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie 2012/2013Magister en technologie Alimentaire, Université m'hamed bougara boumerdes
- [6] : LAURENT B, 2007. Guide des plantes médicinales (analyse, description, et utilisation de 400 plantes), Ed le grand livre des plantes aromatiques 400P.
- [7] : Baricevic D, Sosa S, Loggia R, Tubaro A, Simonovska B, Krasna A, et al. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: The relevance of ursolic acid. J Ethnopharmacol. 2001;75:125–32.
- [8] : Rami K, Li Z. Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. Afr J Biotech. 2011;10:8397–402.
- [9] : Duling E.N., Owen J.c., John B.G., Rosmary F.W., Kevvin A.M., Yeap L.F., et Nigel B.P (2007). Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using etfanol-Wter .Food chemistry,101 :1417-1424.
- [10] J. Bruneton, Pharmacognosie, Deuxième édition, Tec Doc, Paris
- [11] A. Crozier, M. N. Clifford, H. Ashihara (2006), Plant Secondary Metabolites, Blackwell Publishing, Oxford UK.
- [12] Barus C., Thèse de Doctorat : Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et diphasique - Application aux produits cosmétiques, 2008, université de Toulouse,.

- [13] Lévy-Dutel L., Scotto E., Les saveurs du bien être : Vivre heureux et centenaire, Ed. Eyrolles, 2011, p. 31, ISBN : 978-2-212-54681-1.
- [14] Reynal B., Multon J.L, Additif et auxiliaire de fabrication dans les industries agroalimentaire, Ed. Tec & Dec, 2009, p.119, ISBN: 978-2-7430-1071-3.
- [15] Rolland Y., Antioxydants naturels végétaux, *Oléagineux . CorpsGrasLipides(CPL)*, 2004, 11 (6) : 419-24.
- [16] Dacosta Y., Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques, Ed. Yves Dacosta, Paris, 2003, p. 317.
- [17] : Kessemi N. Thèse de Magistère : Relation entre un insecte phytophage et sa principale plante hôte :cas de la bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*), (*Coleoptera Bruchidae*) . 2006, de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.
- [18] : Petko Ivanov *PENCHEV* .. Thèse de DOCTORAT : *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*. 2010, DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE
- [19] : Zeghad Nadia ; Thèse magister en Biotechnologie végétale : Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, 2008 / 2009 Université Mentouri Constantine
- [20] : Kim H. P., Son K. H., Chang H. W. et Kang S. S. 2004. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences.*, 96 (3) : 229-245.
- [21] : LEYBROS J., FREMEAUX P. Extraction solide-liquide - Aspects théoriques. Techniques de l'Ingénieur (traité Génie des procédés), J 2780.
- [22] : M.D. Luque de Castro and L.E. Garcia-Ayuso, Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Analytica Chimica Acta* 369 (1998) 1- 10.
- [23]: A. El Asbahani a,e, K. Miladi c, W. Badri c, M. Sala c, E.H. Aït Addi b, H. Casabianca d, A. El Mousadik e, D. Hartmann a, A. Jilale e, F.N.R. Renaud a, A. Elaissari c,* : Essential oils: From extraction to encapsulation., *International Journal of Pharmaceutics* 483 (2015) 220–243
- [24] : Masango, P., 2005. Cleaner production of essential oils by steam distillation. *J. Clean. Prod.* 13, 833–839.
- [25] : E. V. Lau, S. Gan, and H. K. Ng: Extraction Techniques for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils., *International Journal of Analytical Chemistry*.
- [26] : CHEMAT F., TOMAO V. et VIROT M., 2008 : Ultrasound-assisted extraction in food analysis. In *Handbook of Food Analysis Instruments by Semih ötles* (pp. 85 – 103). Boca Raton, Florida, USA : CRC Press.

[27] : Mériem Boutamani ; Master domaine chimie du médicament : Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du Curcuma longa et Myristica fragrans en fonction du temps et de la technique utilisée. 2013, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene Alger.

[28] : Prashant Tiwari*, Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, Harleen Kaur., Phytochemical screening and Extraction: A Review : INTERNATIONALE PHARMACEUTICACIENCIA, 2011.

[29] : Augustin M.A. and Hemar Y., Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chem Soc Rev*, 2009, 38, 902-912.

[30] : Augustin M.A. and Hemar Y., Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chem Soc Rev*, 2009, 38, 902-912.

[31] Lazko J., 2004, Etude des mécanismes et de procédé de formation des microparticules à partir des protéines végétales. In *Thèse de doctorat*, Université de Nantes.

[32] Richard J. and Benoit J.P., Microencapsulation. *Techniques d'Ingénieur*, 2000, J 2 210, 1-20.

[33] : Janssen L.J.J.M. and Nijenhuis K., Encapsulation by interfacial polycondensation. *J Membrane Sci*, 1992, 65, 59-75.

[34] Bédié G.K., Turgeon S.L. and Makhlof J., Formation of native whey protein isolate–low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. *Food Hydrocolloid*, 2008, 22, 836-844.

[35] Weib G., Knoch A., Laicher A., Stanislaus F. and Daniels R., Simple coacervation of hydroxypropyl methylcellulose phthalate (HPMCP) I. Temperature and pH dependency of coacervate formation. *Int J Pharm*, 1995, 124, 87-96.

[36] KOUADIO GERARD BEDIE; Thèse pour l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.) : Microencapsulation de composés nutraceutiques dans des complexes protéines-polysaccharides, février 2008, université laval québec.

[37] AUBREE, Mécanismes de gélification des pectines ; *Systems Bio Industries (SBI), Centre de Développement Alimentaire, Baupte, Carentan*.

[38]- Luzzi LA, Gerraughty R. J. Effects of selected variables on the microencapsulation of solids. *J Pharm Sci* 1967;56(5):634—8.

[39]- Madan PL, Madan DK, Price JC. Clofibrate microcapsules: preparation and release rate studies. *J Pharm Sci* 1976;65:1476—9.

[40]- Burdick & Jackson solvents are arranged in order of increasing polarity index, a relative measure of the degree of interaction of the solvent with various polar test solutes.

[41]- Sutharson Lingadurai,¹ Lila Kanta Nath,¹ Prasanna Kumar Kar,¹ Shila E Besra,² and Rajan Vedasiromani Joseph² ; Anti-Inflammatory and Anti-Nociceptive Activities of Methanolic Extract of

the Leaves of *Fraxinus Floribunda* Wallich :Afr J Tradit Complement Altern Med. 2007; 4(4): 411–416.



Dédicace

Je dédié ce modeste travail :

- + A mes très chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et ma soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, merci mes parents.*
- + A mes très chers frères Abdallah, Yacine, Riyade, abdarahmane, et sœur Asma et son mari.*
- + A toute ma famille sans exception.*
- + A tous mes amis et sur tout, Taïa, Soufaine, Nassime, Inous, Alli, Abdellhatif, Salema, awawa, yousra, Imane, Yasmine.*
- + Tous nos enseignants.*
- + Tous ceux qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à l'élaboration de ce travail.*
- + A toute la promo PHI 2015 , et à tous mes amis sans exception.*

IBRAHIM.





Remerciements

Je tiens à remercier tout d'abord ma promotrice de recherche, Pr. **A. Hadj-Ziane** pour ses précieux conseils et son encouragement continu qui m'ont permis de réaliser ce projet.

Je remercie aussi mon copromoteur **NAIT BACHIR YACINE** pour ses conseils pertinents et ses analyses critiques qui m'ont souvent aidé à revenir sur le bon axe dans des situations d'écart de l'objectif principal du projet.

Mes vifs remerciements vont à mes parents qui n'ont cessé de me soutenir matériellement et spirituellement même si l'écart des continents fait que je ne peux les voir fréquemment.

Mes remerciements vont aussi au personnel technique et professionnel des laboratoires Ms ben amiare M, Ms khiradine ou **GROUPE SAIDAL MEDEA**.

Je tiens aussi à remercier madame Oumertte et Benaihia S pour son aide dans les manipulations dans le laboratoire.

J'adresse mes remerciements et ma reconnaissance à tous les enseignants, étudiants et travailleurs de **L'UNIVERSITE BLIDA 1**, Département de Chimie industrielle, qui ont contribué de près ou de loin à ma formation pédagogique et scientifique.

Je ne saurais oublier tous ceux et celles qui m'ont marqué par leur soutien et encouragements : tous les membres de notre laboratoire de Génie chimique et tous les collègues de ma promotion Pharmacie Industrielle, je leur exprime mon respect et ma profonde sympathie.

