

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1**  
**Faculté de Technologie**  
**Département de Génie Des Procédés**

**THESE DE DOCTORAT**

Spécialité : Génie Des Procédés Organiques

**Amélioration des propriétés de la  $\beta$ -cyclodextrine par  
fonctionnalisation chimique : caractérisation physico-  
chimique et application**

Par

**BEN YACOUB Assia**

Devant un Jury composé de:

ISSAADI Rachid	Professeur	Université Blida 1	Président
BOUTOUMI Hocine	Professeur	Université Blida 1	Examineur
ZERMANE Faiza	MCA	Université Blida 1	Examinatrice
LEFNAOUI Sonia	MCA	Université Médéa	Examinatrice
HADJ-ZIANE Amel	Professeur	Université Blida 1	Directrice de thèse

**Blida, 2019**

ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تعديل  $\beta$ -cyclodextrine بواسطة  $\beta$ -epichlorohydrine لتحسين ذوبانية البوليمر في الماء واستخدامه كمادة عازلة لتغليف الزيت ومتعددات الفينول المستخلص من بذور *Melia azedarach*. إن توصيف بوليمر  $\beta$ -cyclodextrin-epichlorohydrin بواسطة تقنيات تحليلية مختلفة قد أثبتت فائدة البوليمر  $\beta$ -CD-EP مع الوزن الجزيئي العالي والذوبان العالي. المكونات الرئيسية المحددة في الزيت هي الأحماض: اللينوليك، الأوليك، البالمتيك والإستياريك. من ناحية أخرى، المركبات الفينولية الرئيسية هي الأحماض: الغاليك، الكافيين و الفيروليك. تتميز الكبسولات التي تم الحصول عليها عن طريق عملية الاستحلاب بتقنيات تحليلية مختلفة. قدر متوسط حجم المغلف بـ  $3,52 \pm 232,133$  نانومتر مع معامل متعدد الشدة يبلغ  $0,226 \pm 0,010$  بينما كان متوسط حجم البوليفينول المغلف  $0,1 \pm 142,6$  نانومتر مع معامل متعدد الأبعاد  $0,449 \pm 0,185$ . نشاط مبيد حشرات لزيت بذور *Melia azedarach* المغلفة مهم جدا ضد فصيلة *Rhyzopertha dominica* و *Sitophilus Oryzae*. تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة DPPH لزيت بذور *M. azedarach* وزيت بذور *M. azedarach* المغلفة بنسبة 65.63% و 37% على التوالي، في حين أن النشاط المضاد للأوكسدة DPPH لمتعددات الفينول بذور *M. azedarach* و *M. azedarach* المغلفة كان بنسبة 85.58% و 49.52% على التوالي. لهذا الغرض، الأنشطة المضادة للأوكسدة ومضادات الميكروبات انخفضت بشكل ملحوظ بعد التغليف في  $\beta$ -cyclodextrins. أظهرت نتائج هذه الدراسة أن البوليمر  $\beta$ -CD-EP له تأثير وقائي للمركبات النشطة مثل الزيوت النباتية ومتعددات الفينول لبذور *M. azedarach* ويمكن استخدامه كمضاد للمكروبات، مضادات الأوكسدة و كمبيد طبيعي مع إطلاق متحكم فيه.

كلمات البحث: *Melia azedarach*. L، بوليمر  $\beta$ -CD، التغليف، الزيت، متعددات الفينول، الأنشطة البيولوجية، التعديل.

## Résumé

L'objectif de cette étude est la modification de la  $\beta$ -cyclodextrine par l'épichlorohydrine pour améliorer la solubilité du polymère dans l'eau et l'utiliser comme une matrice pour encapsuler l'huile et les polyphénols extraits de graines de *Melia azedarach* L. La caractérisation du polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP) par différentes techniques analytiques a mis en évidence l'avantage du polymère  $\beta$ -CD-EP avec un haut poids moléculaire et une forte solubilité. L'huile de graines de *M. azedarach* a été extraite par la méthode de Soxhlet pendant de 8h. Les principaux composants identifiés dans l'huile sont: Acide Linoléique, acide oléique, acide palmitique et acide stéarique. En revanche les principaux composés phénoliques sont: Acide gallique, acide caféique et acide férulique. Les capsules obtenues par le procédé d'émulsification ont été caractérisées par différentes techniques analytiques. La taille moyenne des capsules de l'huile a été estimée à  $232,133 \pm 3,52$  nm avec un indice de polydispersité de  $0,226 \pm 0,010$  alors que la taille moyenne des capsules des polyphénols est de  $142,6 \pm 0,1$  nm avec un indice de polydispersité de  $0,449 \pm 0,185$ . L'activité insecticide de l'huile de graines de *Melia azedarach* encapsulée est très importante contre les espèces *Rhyzopertha dominica* et *Sitophilus Oryzae*. L'activité antioxydante de l'huile de graines de *M. azedarach* et de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée a été évaluée à 65,63 % et 37 % respectivement alors que l'activité antioxydante de polyphénol de graines de *M. azedarach* et de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulés était de 85,58 % et 49,52 % respectivement. Mais, les activités antioxydantes et antimicrobiennes ont sensiblement diminué suite à l'encapsulation dans les cyclodextrines. Les résultats de cette étude ont montré que le polymère  $\beta$ -CD-EP présente un pouvoir protecteur des composés actifs tels que les huiles végétales et les polyphénols de graines de *M. azedarach* et pourrait être utilisé comme antimicrobien, antioxydant et insecticide naturel avec une libération contrôlée.

**Mots clés :** *Melia azedarach* L, polymère  $\beta$ -CD, encapsulation, huile, polyphénol, activités biologiques, Modification.

## Abstract

The aim of this work is to modify  $\beta$ -cyclodextrin by epichlorohydrin to improve the solubility of the polymer in water and use it as a matrix in order to encapsulate the oil and extracted polyphenols from the seeds of *Melia. azedarach.L.* The characterization of the  $\beta$ -cyclodextrin-epichlorohydrin polymer ( $\beta$ -CD-EP) by various analytical techniques has demonstrated the advantage of the  $\beta$ -CD-EP polymer with a high molecular weight and high solubility. The main components identified in the oil are the acids: linoleic, oleic, palmitic and stearic. On the other hand, the main phenolic compounds are the acids gallic, caffeic and ferulic. The capsules obtained by the emulsification process have been characterized by different analytical techniques. The average size of encapsulated oil was estimated at  $232.13 \pm 3.52$  nm with a polydispersity index of  $0.226 \pm 0.010$  while the average size of the encapsulated polyphenols was  $142.6 \pm 0.1$  nm with a polydispersity index  $0.449 \pm 0.185$ . The insecticidal activity of encapsulated *Melia. azedarach* seeds oil is very important against *Rhizopertha dominica* and *Sitophilus Oryzae species*. DPPH radical scavenging of *M. azedarach* seeds oil and encapsulated *M. azedarach* seeds oil was evaluated at 65.63 % and 37 %, respectively, while the DPPH radical scavenging of activity of encapsulated *M. azedarach* seeds polyphenol and *M. azedarach* seeds polyphenol was 85.58% and 49.52% respectively. For this purpose, the antioxidant and antimicrobial activities have significantly decreased following encapsulation in cyclodextrins. The results of this study have shown that the  $\beta$ -CD-EP polymer has a protective effect of active compounds such as vegetable oils and polyphenols of *M. azedarach* seeds and could be used as a controlled release: antimicrobial, antioxidant and natural insecticide.

**Keywords:** *Melia. azedarach. L.*,  $\beta$ -CD polymer, encapsulation, oil, polyphenol, biological activity, Modification.

## **DEDICACES**

A la mémoire de mon père

A ma mère que Dieu la garde

A ma sœur

A mes frères

A tous ceux qui me sont chers

## REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je remercie DIEU, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience pour dépasser toutes les difficultés durant la réalisation de cette thèse.

Je tiens à remercier chaleureusement ma directrice de thèse Madame le Professeur Amel HADJ-ZIANE-ZAFOUR, enseignante au département de Génie Des Procédés à l'université de Blida<sup>1</sup> qui m'a dirigé tout au long de cette thèse pour sa gentillesse, sa disponibilité, ses précieux conseils et ses encouragements.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Monsieur le Professeur Rachid ISSAADI de l'université de Blida pour m'avoir honoré en acceptant de présider ce jury de thèse. J'exprime ma profonde gratitude et tous mes remerciements aux examinateurs ; Le Professeur Hocine BOUTOUMI, Dr. Faiza ZERMANE de l'université de Blida et Madame le Dr. Sonia LEFNAOUI, de l'université de Médéa, d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Je remercie Monsieur Dr. Abdelhak SKENDER ; enseignant à l'université Yahia Farés, Médéa pour son aide, un grand merci pour ses conseils et ses encouragements ainsi que Madame Dr. Khalida BOUTEMAK de l'université de Blida pour ses nombreux conseils relatifs au bon déroulement de cette thèse.

Que Monsieur Dr. Abdelkader HADJSADOK de l'université de Blida trouve un témoignage de ma profonde reconnaissance pour m'avoir fait profiter de ses connaissances et m'avoir accordé son temps pour m'expliquer et me conseiller.

Je tiens à remercier aussi Monsieur Dr. Hani BELTAGY pour son aide, son soutien et son précieux coup de main tout au long cette thèse.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Monsieur le Professeur José manuel Fernandez de l'université de Séville (Espagne) et Professeur Slim Tounsi du centre de biotechnologie de Sfax (Tunisie) pour m'avoir accueilli au sein de leurs laboratoires.

J'adresse mes remerciements les plus chaleureux à Madame le Professeur Carmen Ortiz MELLET, Mademoiselle le Dr. Laura Gallego YERGA et Monsieur Dr. Antonio RODRIGUEZ pour leur soutien et leur aide.

Je remercie Mr Abdelyamine NAITBOUDA de centre de développement des technologies avancées et Madame Dr. Karima AOUES de l'université de Blida pour leur aide et encouragements.

Je ne peux oublier de remercier Monsieur Mohamed OULDSMANE de l'université de du Roi-Saoud (Arabie saoudite) pour son aide précieuse en particulier pour toutes les analyses qu'il a réalisé et Monsieur LEHADJ, chef de service du laboratoire d'hygiène de Blida et toute l'équipe surtout Monsieur Djamel TEFAHI pour leur aide et leurs conseils.

Je remercie mes amies et mes collègues (Fatima TABOUL, Fella BENAOUADJ, Nadjia HAMIDI, Khoukha ALILECHE, Nassiba FEKHAR, Karima SEFFAH, Nassima MAKAOUI, Kaouther EZZEROUG, Zineb SAADOUNE, Nesrine ZAOUADI) et toutes les personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail.

Enfin, je remercie ma mère, ma sœur et mes frères pour leur soutien moral. Je pense que je n'y serai jamais arrivé sans eux.

## TABLE DE MATEIRES

RESUME

REMERCIEMENT

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATIONS, FIGURES ET TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE .....	1
CHAPITRE I.....	4
1.1.Introduction .....	4
1.2.Nomenclature et classification.....	4
1.2.1.Classification botanique .....	4
1.2.2.Nomenclature.....	5
1.3.Caractéristiques morphologiques.....	5
1.4.Composition chimique.....	6
1.4.1.Matières grasses.....	6
1.4.2.Les composés phénoliques.....	7
1.4.3.Tocophérols .....	8
1.4.4.Stérol.....	9
1.4.5.Limonoïdes.....	10
1.5.Propriétés biologiques.....	11
1.5.1.Remèdes et usages traditionnels de <i>M. azedarach</i> .....	11
1.5.2.Activité insecticide.....	12
1.5.3.Activité antioxydante .....	12
1.5.4.Activité antibactérienne .....	13
1.5.5.Activité antivirale .....	13
1.5.6.Activité antiulcéreuse .....	13



1.6.Toxicologie .....	13
CHAPITRE II .....	15
2.1.Définition .....	15
2.2.Propriétés physico-chimiques des cyclodextrines .....	17
2.3.Formulation d'un complexe .....	17
2.4.Intérêts de l'encapsulation.....	20
2.5.Applications des cyclodextrines .....	20
2.5.1.Domaine pharmaceutique .....	20
2.5.2.Domaine de l'environnement.....	21
2.5.3.Domaine alimentaire .....	21
2.5.4.Domaine de la cosmétologie .....	21
2.6.Principales voies de modification des cyclodextrines.....	22
2.7.Les cyclodextrines polymérisées.....	22
2.7.1.Préparation des polymères cyclodextrines.....	23
A. Les polymères cyclodextrines insolubles.....	23
B. Les polymères cyclodextrines solubles.....	24
2.8.L'état de l'art sur la synthèse de polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP) soluble dans l'eau .....	25
CHAPITRE III.....	27
3.1.Introduction .....	27
3.2.Procédés d'encapsulation .....	27
3.2.1.Coacervation .....	27
3.2.2.Polymérisation in situ .....	28
3.3.Emulsification .....	28
3.3.1.Définition .....	28

3.3.2. Différents types d'émulsion .....	29
A. Emulsions simples .....	29
B. Emulsions doubles .....	29
3.3.3. Différents systèmes sous le terme « émulsion » .....	30
A. Microémulsion .....	30
B. Nanoémulsion .....	30
3.3.4. Instabilité des émulsions .....	31
A. Crémage et sédimentation .....	31
B. Flocculation .....	32
C. Coalescence .....	32
D. Mûrissement d'Ostwald .....	33
3.4. Emulsion sèche .....	33
3.4.1. Méthode d'obtention des émulsions sèches .....	33
A. Séchage par pulvérisation .....	34
B. Lyophilisation .....	34
C. Evaporation rotative .....	35
3.4.2. L'avantage des émulsions sèches .....	35
3.5. L'état de l'art sur l'encapsulation des huiles et des polyphénols .....	35
CHAPITRE V .....	38
4.1. Introduction .....	38
4.2. Matériels utilisés .....	38
4.2.1. Matériel végétal .....	38
4.3. Produits chimiques .....	39
4.4. Extraction et caractérisation de l'huile et des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> .....	39

4.4.1.Extraction et caractérisation de l'huile des graines de <i>M. azedarach</i> .....	39
A.Extraction des huiles des graines de <i>M. azedarach</i> .....	39
B.Détermination de la teneur en acides gras .....	39
C.Caractérisation de l'acide gras par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).....	40
4.4.2.Extraction et caractérisation de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> ...	40
A.Extraction de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> .....	40
B.Chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	41
4.5.Synthèse et caractérisation du polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP).....	41
4.5.1.Synthèse du polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP) .....	41
4.5.2.Caractérisation de polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP).....	41
A.Spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR) .....	42
B.Résonance magnétique nucléaire (RMN <sup>1</sup> H).....	42
C.Microscopie électronique à balayage (MEB) .....	42
4.6.Encapsulation et caractérisation de l'huile et des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> .....	42
4.6.1.Encapsulation de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> .....	42
4.6.2.Encapsulation des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> .....	43
4.6.3.Caractérisation de l'huile et des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé.....	44
A.Caractéristique rhéologique .....	44
B.Microscopie optique.....	45
C.Spectrophotomètre UV-vis.....	45

C.1.Analyse UV-vis de l'huile des graines de <i>M. azedarach</i> et de l'huile des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée .....	45
C.2.Analyse UV-vis de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> et de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés.....	45
D.Mesure de taille des particules et l'indice de polydispersité d'huile et de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé .....	46
E.Etude du profil de libération contrôlée de l'huile et des polyphénols.....	46
4.7.Test biologique .....	47
4.7.1.Insectes.....	47
A.Description de deux principaux Coléoptères des stockées.....	47
A.1.Sitophilus oryzae ( <i>S. oryzae</i> ) .....	47
A.2.Rhyzopertha dominica (Fabricius) .....	48
4.7.2.Souches bactériennes.....	49
4.7.3.Test insecticide de l'huile des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés .....	52
4.7.4.Détermination de la teneur totale en composés phénoliques.....	52
A.La teneur totale en composés phénoliques de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> et d'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé .....	52
B.La teneur totale en composés phénoliques de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> et de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée.....	54
4.7.5.Evaluation de l'activité antioxydante .....	54
A.Tests d'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> et de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée .....	54
B.Tests d'évaluation de l'activité antioxydante de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> et de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée.....	57
4.7.6.Test d'activité antimicrobienne .....	57

A. Test d'activité antimicrobienne de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> et l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé .....	57
B. Test d'activité antimicrobienne de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> et de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée .....	58
4.8. Etude statistique.....	59
CHAPITRE VI.....	60
5.1 Extraction de l'huile et des polyphénols de graines de <i>M. azedarach</i> et caractérisations.....	60
5.1.1. Caractérisation d'huile de graines de <i>M. azedarach</i> .....	60
5.1.1.1. Rendement d'huile de graines de <i>M. azedarach</i> .....	60
5.1.1.2. Caractérisation physico-chimique d'huile des graines de <i>M. azedarach</i> ...	61
5.1.1.3. Détermination de la composition en acides gras.....	61
5.1.2. Caractérisation des polyphénols de graines de <i>M. azedarach</i> .....	62
A. Rendement de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> .....	62
B. Quantification et identification des composés phénoliques par HPLC.....	63
5.2. Synthèse et caractérisation du polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP).....	64
5.2.1. Synthèse du polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP) .....	64
5.2.2. Caractérisation du polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP) ...	65
A. Par spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR).....	65
B. Analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN <sup>1</sup> H).....	66
C. Images par microscopie électronique à balayage (MEB) .....	68
5.3. Encapsulation de d'huile et des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> ...	68
5.3.1. Encapsulation de d'huile des graines de <i>M. azedarach</i> .....	68
A. Microscopie optique d'émulsion.....	68
B. Caractéristiques rhéologiques .....	69

B.1.Courbe d'écoulement de l'émulsion .....	69
C.Analyse par spectrophotométrie UV-visible .....	73
D.Par spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR) .....	73
E.Résonance magnétique nucléaire (RMN <sup>1</sup> H) .....	74
F.Microscopie électronique à balayage (MEB).....	75
G.Mesure de la taille des particules et l'indice de polydispersité de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée .....	76
H.Profil de libération contrôlée d'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé.....	77
5.3.2.Encapsulation de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> .....	78
A.Caractéristiques rhéologiques .....	78
A.1.Courbe d'écoulement de la suspension.....	78
B.Spectrométrie UV-visible .....	80
C.Spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR) .....	80
D.Résonance magnétique nucléaire (RMN <sup>1</sup> H).....	81
E.Microscopie électronique à balayage (MEB).....	83
F.Mesure de taille des particules et l'indice de polydispersité des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé .....	83
G.Profil de libération contrôlée des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés.....	84
5.4.Evaluation des activités biologiques des extraits .....	85
5.4.1.Activité insecticide de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée .....	85
5.4.2.La teneur totale en composés phénoliques.....	86
A.La teneur totale en composés phénoliques de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> et d'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés .....	86

B.La teneur totale en composés phénoliques de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> et de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés .....	87
5.4.3.Evaluation de l'activité antioxydante .....	88
A.Détermination de l'activité antioxydante de l'huile des graines de <i>M. azedarach</i> et de l'huile des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé.....	88
B.Test d'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques de graines de <i>M. azedarach</i> .....	89
5.4.4.Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	89
A.Test d'activité antimicrobienne de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> et l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée .....	89
B.Test de l'activité antimicrobienne des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> et des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés .....	91
5.5.Conclusion.....	92
CONCLUSION GENERALE.....	93

## APPENDICES

Liste des abréviations

Produits chimiques

Résultats supplémentaire

## REFERENCES

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1. 1 : Photographies des différentes parties de <i>M. azedarach</i> , feuilles (a), Fleurs(b), fruits(c) et Noyaux (graines) (d). .....	6
Figure 1. 2 : Quelques composés phénoliques isolés de <i>M. azedarach</i> . .....	7
Figure 1. 3 : Structure chimiques des tocophérols. ....	9
Figure 1. 4 : Formule chimique de la molécule d'azadirachtine .....	10
Figure 1. 5 : Formule chimique de la molécule salannine et nimbine.....	10
Figure 2. 1 : Représentation schématique de la structure chimique des cyclodextrines. ....	15
Figure 2. 2 : Structure conventionnelle des CD.....	16
Figure 2. 3 : Nomenclature couramment utilisée pour les hydrogènes dans les cyclodextrines natives. ....	16
Figure 2. 4 : Description schématique des trois complexes d'inclusions les plus rencontrés entre CD et la molécule invitée . ....	18
Figure 2. 5 : Description schématique de trois sortes d'interactions d'encapsulation accompagnant la formation du complexe d'inclusion . ....	19
Figure 2. 6 : Présentation générale des molécules de modification chimique des CD. ....	22
Figure 2. 7 : Structure d'un matériau CD réticulé par EP insoluble dans l'eau ....	24
Figure 2. 8 : Structure chimique de $\beta$ -CD-EP.....	24
Figure 3. 1 : Représentation schématique d'une émulsion. ....	28
Figure 3. 2 : Représentation d'une émulsion simple. ....	29
Figure 3. 3 : Représentation d'une émulsion double. ....	30
Figure 3. 4 : Phénomènes intervenant dans la déstabilisation des émulsions. ....	31
Figure 3. 5 : Phénomènes de crémage et sédimentation.....	32
Figure 3. 6 : Phénomène de floculation.....	32



Figure 3. 7 : Phénomène de coalescence ou rupture de phase.....	33
Figure 3. 8: Mûrissement d'Ostwald.....	33
Figure 4. 1 : Présentation schématique de formulation d'une émulsion huile dans eau (H/E).....	43
Figure 4. 2 : Présentation schématique d'encapsulation d'huile de graines de <i>M. azedarach</i> . ....	43
Figure 4. 3 : Présentation schématique d'encapsulation des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> . ....	44
Figure 4. 4 : Cycle de vie de <i>Sitophilus oryzae</i> ( <i>S. oryzae</i> ).....	48
Figure 4. 5 : Cycle de vie de <i>Rhizopertha dominica</i> (Fab.). ....	49
Figure 4. 6 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique. ....	53
Figure 4. 7 : Structure du DPPH et de sa forme réduite.....	55
Figure 4. 8 : Schéma représente le protocole de détermination de test antioxydant par DPPH.....	56
Figure 4. 9 : Schéma représentatif du protocole de l'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode des disques. ....	58
Figure 5.1 : L'huile de graines de <i>M. azedarach</i> . ....	60
Figure 5. 2 : Chromatogramme d'analyse GC-MS de l'acide gras de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> . ....	61
Figure 5. 3: Polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> . ....	62
Figure 5. 4 : Chromatogramme des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> . ..	63
Figure 5. 5 : Réaction de polycondensation entre la $\beta$ -CD et l'épichlorohydrine. ..	65
Figure 5. 6 : Spectre FTIR de $\beta$ -CD (a) et du polymère $\beta$ -CD-EP (b).....	66
Figure 5. 7 : Spectres RMN <sup>1</sup> H de la $\beta$ -CD et du polymère $\beta$ -CD-EP dans le DMSO.	67
Figure 5. 8 : Images de la microscopie électronique à balayage de $\beta$ -CD (a) et de polymère $\beta$ -CD-EP(b).....	68

Figure 5. 9 : Observation au microscope optique d'une émulsion G : 5 X(a), G : 10X (b).....	69
Figure 5. 10 : Courbe d'écoulement de l'émulsion, T= 25 °C.....	69
Figure 5. 11 : Courbe d'écoulement exprimant la variation de la viscosité en fonction de la contrainte de cisaillement de l'émulsion, T= 25 °C.....	72
Figure 5. 12 : Spectres UV d'huile de graines de <i>M. azedarach</i> (a), polymère $\beta$ -CD-EP (b) et l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée (c). ....	73
Figure 5. 13 : Spectre FTIR de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> (a) et l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée (b). ....	74
Figure 5. 14 : Spectre RMN <sup>1</sup> H de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> et de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée dans le DMSO. ....	75
Figure 5. 15 : Image de la microscopie électronique à balayage d'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée. ....	76
Figure 5. 16 : Distribution de taille de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée. ....	77
Figure 5. 17: Le profil de libération de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée dans un milieu de dissolution acide 0,01 N HCl (pH 1,5). ....	77
Figure 5.18 : Courbes d'écoulement de la suspension en terme de contrainte de cisaillement (bleu) et de viscosité apparente (rouge) en fonction de la vitesse de cisaillement, T=25°C. ....	78
Figure 5. 19: Spectres UV-vis des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> et des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés.....	80
Figure 5. 20: Spectre FTIR de $\beta$ -CD (a), du polymère $\beta$ -CD-EP (b), des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> (c)et des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés(d).....	81
Figure 5. 21: Spectre RMN <sup>1</sup> H des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> et des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés dans le DMSO.....	82
Figure 5. 22: Images au microscope électronique à balayage des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé. ....	83

Figure 5. 23 : Distribution de taille des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés.....	84
Figure 5. 24: Le profil de libération de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée dans un milieu de dissolution acide 0,01 N HCl (pH 1,5).....	84
Figure 5. 25: Evaluation de l'activité insecticide ( <i>Rhyzopertha dominica (F)</i> ) de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée par l'effet de contact direct.....	85
Figure 5. 26: Evaluation de l'activité insecticide ( <i>Sitophilus Oryzae</i> ) de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée par l'effet de contact direct.....	85
Figure 5. 27: La teneur totale en composés phénoliques de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> et de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé.....	86
Figure 5. 28: La teneur totale en composés phénoliques de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> et de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés.....	87
Figure 5. 29: Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> et de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulée.....	88
Figure 5. 30: Evaluation de l'activité antioxydante des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> et des polyphénols des graines de <i>M. azedarach</i> encapsulés. ....	89

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. 1 : Quelques noms vernaculaires pour <i>M. azedarach</i> . ....	5
Tableau 1. 2 : Composition en acide phénolique ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) dans les extraits de fruits et de feuilles de <i>M. azedarach</i> . ....	8
Tableau 1. 3 : Remèdes et utilisation traditionnelles de <i>M. azedarach</i> . ....	11
Tableau 1. 4 : L'activité antioxydante de différents extraits de <i>M. azedarach</i> . ....	12
Tableau 2. 1 : Propriétés physico-chimiques des principales cyclodextrines. ....	17
Tableau 4. 1 : Description et pouvoir pathogène des souches testées. ....	50
Tableau 4. 2: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition .....	51

Tableau 5. 1 : Quelques caractéristiques physico-chimiques de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> .....	61
Tableau 5. 2: Composition en acides gras (%) de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> . .....	62
Tableau 5. 3 : Les principaux composés phénoliques des graines de <i>M. azedarach</i> . .....	64
Tableau 5.4: Les valeurs $\tau_0$ , $\eta^\infty$ , K, n.....	79
Tableau 5. 5: Diamètre des zones d'inhibition des micro-organismes testés vis-à-vis de l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> et l'huile de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé.....	90
Tableau 5. 6: Diamètre des zones d'inhibition des micro-organismes testés vis-à-vis de polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> et polyphénol de graines de <i>M. azedarach</i> encapsulé.....	92

## INTRODUCTION GENERALE

Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps. Il existe donc un besoin de production de substances bioactives isolées, concentrées et purifiées, pour une utilisation dans un large champ d'application (cosmétiques, pharmaceutiques, additifs, phytosanitaires etc.)[1-3].

Le Melia (*Melia azedarach* L.) est une espèce ornementale, connue pour sa grande tolérance aux environnements extrêmes ainsi que son taux de croissance élevé et sa production de graines [3-5]. Malgré ses nombreuses vertus thérapeutiques dues à la richesse des graines de *M. azedarach*, composées de 30 à 50 % de l'huile végétale. Son utilisation est très limitée en raison de ses mauvais goûts et odeur. Plusieurs travaux ont mis en évidence les propriétés anticancéreuses, antipaludiques, analgésiques, anti-inflammatoires, anti-helminthiques, antilithiques, diurétiques, astringentes et stomachiques des huiles extraits de cette espèce[6-10].

Cette huile est aussi connue comme un produit thermosensible et susceptible de subir des modifications en présence de lumière et des températures avoisinant les 50 °C. Pour faire face à ce problème d'instabilité de cette huile et de polyphénol, la méthode d'encapsulation pour la protéger semble le moyen le plus efficace contre les dommages causés par les paramètres externes et assurer sa durée de conservation[11] et c'est l'objectif principal de ce travail afin de contribuer à la résolution du problème d'instabilité des extraits de cette espèce végétale.

Dans une autre idée, non des moindres, les cyclodextrines ont été largement utilisées pour l'encapsulation des huiles essentielles. Elles peuvent créer une barrière protectrice autour de l'huile et l'isoler des paramètres externes. Les cyclodextrines présentent la capacité de former des complexes d'inclusion avec des molécules hydrophobes [12-17]. Les cyclodextrines les plus connues et utilisées sont : l' $\alpha$ -cyclodextrine ( $\alpha$ -CD), la  $\beta$ -cyclodextrine ( $\beta$ -CD) et  $\gamma$ -

cyclodextrine ( $\gamma$ -CD) composées respectivement de six, sept et huit unités glucoses [18-21]. La  $\beta$ -cyclodextrine présente une forte capacité à améliorer non seulement la solubilité, la stabilité et la biodisponibilité des médicaments, mais peut aussi réduire la volatilité des parfums cosmétiques et masquer les odeurs et les goûts désagréables de certains composés [15, 16, 22]. Cependant, l'utilisation de la  $\beta$ -CD est limitée dans les formulations en raison de sa faible solubilité dans l'eau (1,8 g dans 100 mL d'eau, à 25 °C) [19, 23, 24] et de sa toxicité [25]. Ces limitations pourraient être éliminées autant que possible en utilisant les polymères  $\beta$ -CD hydrophiles et non toxiques. Le polymère cyclodextrine-épichlorohydrine est un composé de haut poids moléculaire, obtenue par la réaction de réticulation entre la  $\beta$ -cyclodextrines et l'épichlorohydrine dans un milieu alcalin. Différents travaux [26, 27] ont montré que ce polymère permet d'augmenter la solubilité de la molécule invitée qui peut être soluble ou insoluble dans l'eau. Les molécules de cyclodextrines adoptent une structure en forme de cône tronqué avec une cavité hydrophobe et une surface hydrophile qui forme un complexe d'inclusion avec une grande variété de molécules invitées [28, 29].

L'objectif de ce travail est donc de modifier la  $\beta$ -CD par l'épichlorohydrine et l'utiliser comme une membrane pour protéger l'huile et de polyphénol de graines de *Melia. azedarach* contre les dommages pouvant être causés par les paramètres externes tout en garantissant une longue durée de conservation.

Cette thèse est donc répartie en cinq chapitres :

- Dans le premier chapitre, des généralités, les caractéristiques morphologiques et la composition chimique de la plante de *M. azedarach*, les propriétés pesticides et médicinales des extraits de cette plante sont présentées.
- Les cyclodextrines, leurs domaines d'applications et les principales voies de modifications. Un état de l'art sur la synthèse des polymères  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine solubles ont fait l'objet du deuxième chapitre.

- Dans le troisième chapitre, les procédés d'encapsulation, l'émulsion, les différents types d'émulsion, les émulsions sèches et les méthodes d'obtention des émulsions sèches ont été décrits.
- Le matériel et les méthodes utilisées pour extraire l'huile et les polyphénols de graines de *M. azedarach*, et pour modifier la  $\beta$ -CD par l'épichlorohydrine, encapsuler l'huile et les polyphénols et évaluer d'activité biologique sont détaillés dans le quatrième chapitre.
- Dans le cinquième chapitre, les résultats obtenus lors des différentes étapes expérimentales de l'extraction de l'huile et de polyphénol de graines de *M. azedarach*, la modification de la  $\beta$ -CD, encapsulation d'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* et l'évaluation des activités biologiques de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* libre et d'huile et polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulées.

Enfin, cette thèse est achevée par une conclusion générale qui résume les principaux résultats clés auxquels cette étude a abouti tout en mettant en avant les perspectives envisagées pour la continuité des travaux dans ce domaine pluridisciplinaire qui touche plusieurs domaines du génie chimique.

## CHAPITRE I

### **MELIA. AZEDARACH**

#### 1.1. Introduction

*Melia. Azedarach* Linn a été introduit dans plusieurs pays d'Asie et d'Amérique (du Nord, et Amérique latine) et il a été adapté dans la région Moyen-Orient et l'Afrique du Nord. *M. azedarach* contient multiples composés phytochimiques comme les phénols, flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, les glycosides, les stéroïdes, les saponines et les terpénoïdes [30]. La plante du *M. azedarach*, les plus utilisées en médecine traditionnelle en raison de plusieurs propriétés médicinales. Les extraits de fruits de *M. azedarach* provoquent divers effets sur les insectes, tels que l'agent anti-âge, le retard de croissance, la fécondité réduite, les mues, les défauts morphogénétiques et les changements de comportement[31]. Pour les indigènes indiens, Il est connu depuis longtemps que les plantes de la famille Meliaceae sont une bonne source de médicaments populaires. Ce fait a attiré l'attention de nombreux scientifiques à travers le monde pour étudier ces plantes et trouver un produit efficace et respectueux de l'environnement permettant de lutter contre les ravageurs et les maladies[32].

#### 1.2. Nomenclature et classification

##### 1.2.1. Classification botanique

La classification botanique de *M. azedarach* se présente comme suit[33] :

**Règne** : Plantae

**Division** : Magnoliophyta

**Ordre** : Sapindales

**Famille** : Meliaceae

**Genre** : *Melia*

**Espèce** : *Melia azedarach*



### 1.2.2. Nomenclature

*M. azedarach* possède plusieurs noms vernaculaires selon les régions géographiques[34].

**Tableau 1. 1** : Quelques noms vernaculaires pour *M. azedarach*[34].

<b>Situation géographique</b>	<b>Noms vernaculaires</b>
Angleterre	Persian lilac, China tree, Chinaberry, Pride of India, Syringa
France	Fleurs lilas, Lilas des Indes, Lilas de chine, Lilas de perse, Paraiso, Margoiser
Amérique du Sud	Paraiso ou paradis, Lilas des Indes ou cèdres blanc
Inde	Bakana Nimb, Bakain, Ramyaka, Taruka vepa, Malaivernba, Karin vernbu, Serna veppu, Arbevu, Hutch
Singapour	Lelaila, Aleli, Pasilla, Violeta
Malaisie	Mindi Kechil, Persischer zedrachbaurn
Allemagne	Chewesischer holunder, Poternosterbaurn, Paradiesbaurn,

### 1.3. Caractéristiques morphologiques

*M. azedarach* est un arbre à feuilles caduques de petite à moyenne taille, de 5 à 15 m de hauteur et de 30 à 60 cm de diamètre. L'écorce est lisse, brun verdâtre lorsqu'elle est jeune, devenant grise et fissurée avec l'âge. Les feuilles sont alternes, des déliants sont à court traquées et mince, chauve, vert foncé et relativement pâle et de 12 à 24 mm de long (Figure 1. 1. a). Les fleurs sont blanches avec rayures pourpres et sont caractérisées par la présence d'un parfum typique de 0,25 à 0,3 mm de long (Figure 1. 1. b). Les fruits ou baies sont jaunes,

ronds, lisses et charnus (Figure 1.1.c). Les fruits secs contiennent de 4 à 5 graines noires (Figure 1. 1. d). Les fruits mûrs peuvent rester longtemps sur l'arbre[35, 36].



**Figure 1. 1 :** Photographies des différentes parties de *M. azedarach*,  
feuilles (a), Fleurs(b), fruits(c) et Noyaux (graines) (d).

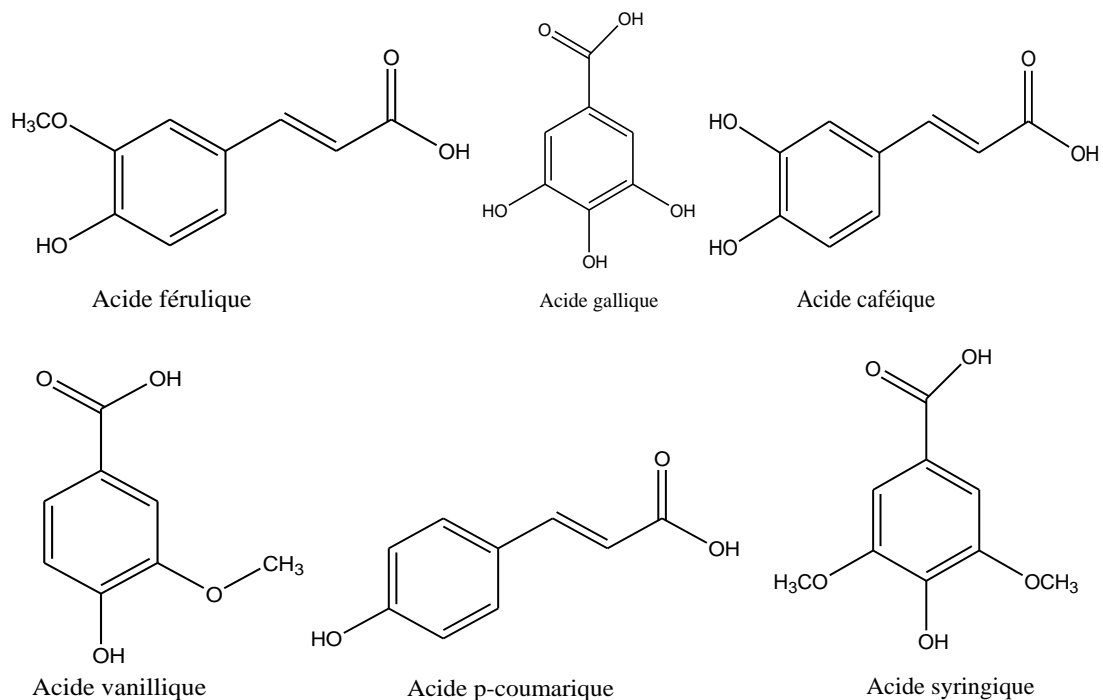
#### 1.4. Composition chimique

##### 1.4.1. Matières grasses

Les graines de *M. azedarach* contiennent approximativement 40 % de matière grasse[6]. Les acides gras rencontrés dans l'huile de graines de *M. azedarach* sont 90,96 % des acides gras insaturés. L'acide linoléique représente près de 74,57 % de ces acides gras, sa teneur est très importante. L'acide oléique est présent à un taux de 16,39 %. Les acides gras saturés sont l'acide palmitique (environ 5,68 %) et l'acide stéarique (environ 3,33 %)[6]. D'après Erdogan Orhan et al[7], la composition en acide gras du fruit de *M. azedarach* représente  $62,76 \pm 0,07$  % d'acide linoléique,  $24,42 \pm 0,09$  % d'acide oléique,  $2,84 \pm 0,02$  % d'acide stéarique et  $8,97 \pm 0,05$  % d'acide palmitique.

### 1.4.2. Les composés phénoliques

La classe des phénols, présente dans la plante *M. azedarach* regroupe des composés phénoliques notamment l'acide gallique, l'acide férulique et l'acide caféique. En plus de ces trois composés le plus important, il existe d'autres composés mais à des teneurs très faibles notamment l'acide vanillique, l'acide p-coumarique et l'acide syringique (Figure 1. 2) [2, 3, 7].



**Figure 1. 2** : Quelques composés phénoliques isolés de *M. azedarach*.

Les phénols isolés des feuilles de *M. azedarach* sont : l'acide nicotinique, l'acide malique, l'acide p-coumarique, l'acide vanillique, l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide férulique, la protocatéchine, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide chlorogénique et la rutine[2]. Selon Erdogan Orhan et al [7], huit acides phénoliques ont été identifiés dans les feuilles et sept dans les fruits comme le montre le tableau 1. 2. Ci-dessous

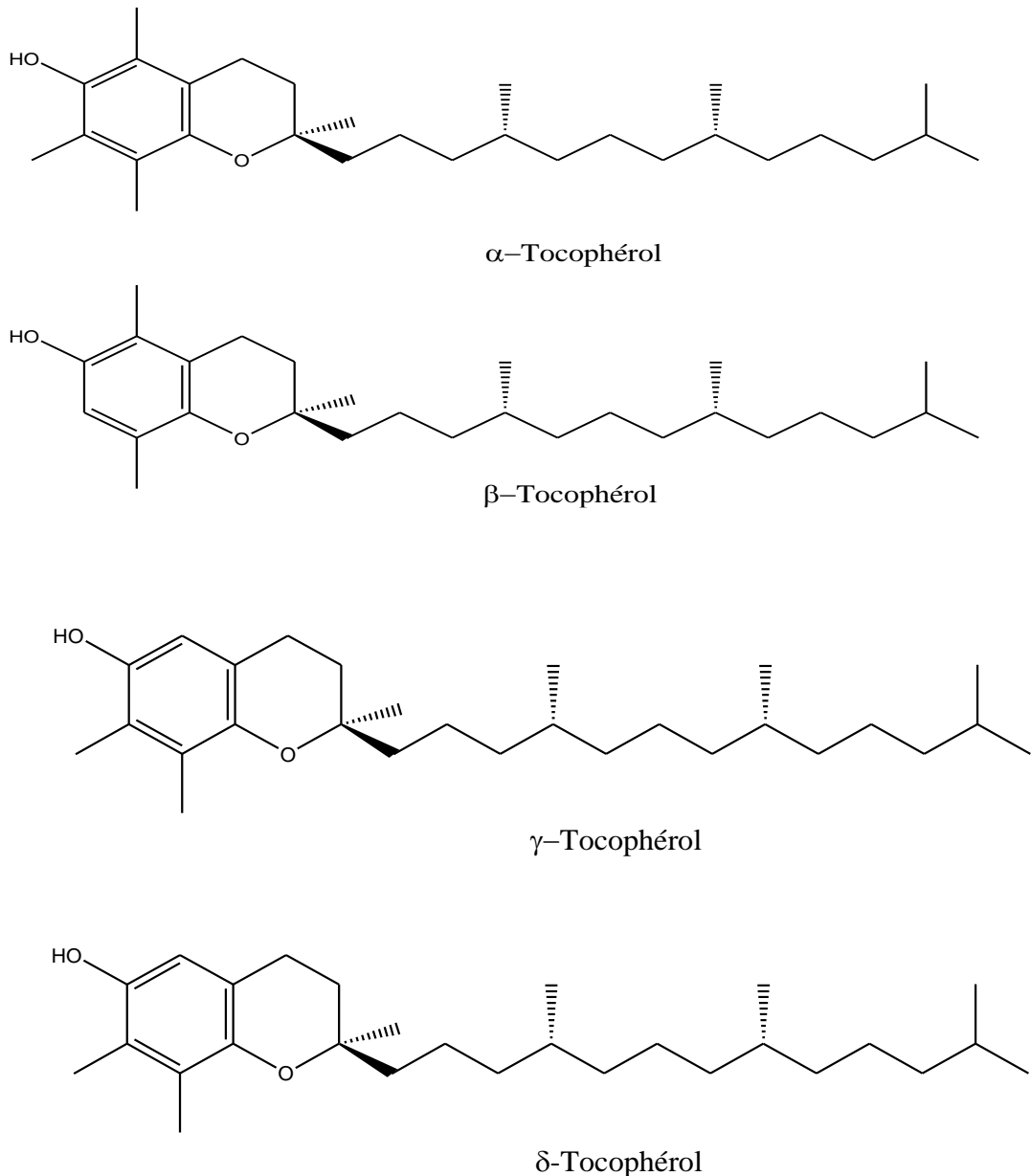
**Tableau 1. 2** : Composition en acide phénolique ( $\mu\text{g. g}^{-1}$ ) dans les extraits de fruits et de feuilles de *M. azedarach*[7].

<b>Fruit</b> ( $\mu\text{g. g}^{-1}$ )	<b>Feuille</b> ( $\mu\text{g. g}^{-1}$ )
Acide gallique (1,86)	Acide gallique (4,22)
Acide protocatéchique (3,7)	Acide protocatéchique (10,82)
/	Acide p-hydroxybenzoïque (7,96)
Acide vanillique (1,66)	Acide vanillique (2,63)
Acide caféique (1,97)	Acide caféique (6,46)
Acide chlorogénique (4,55)	/
Acide syringique (1,83)	Acide syringique (3,28)
Acide p-coumarique (1,70)	Acide p-coumarique (4,25)

#### 1.4.3. Tocophérols

Les tocophérols (Figure 1. 3) sont des antioxydants naturels, ce qui justifie pourquoi les huiles végétales résistent bien au phénomène de rancissement. L' $\alpha$ -tocophérol ou vitamine E est dotée de l'effet antioxydant le plus puissant.

La teneur totale en tocophérol de l'huile de graines de *M. azedarach* est 27,6 mg.100 g<sup>-1</sup> [4], environ un taux de 59,2 % des tocophérols d'huile des graines de *M. azedarach* sont des  $\gamma$ -tocophérols. Les autres composés sont  $\delta$ -tocophérol (5,1 %) et  $\alpha$ -tocophérol (35,6 %).



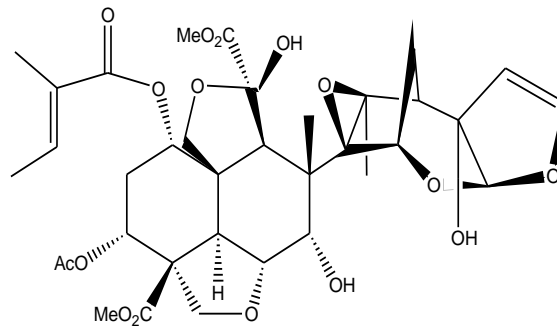
**Figure 1. 3 :** Structure chimiques des tocophérols.

#### 1.4.4. Stérol

L'huile des graines de *M. azedarach* présente une teneur en stérols qui peut atteindre les 2,8562 g.kg<sup>-1</sup>. Les phytostérols des graines de *M. azedarach* présentent un intérêt majeur en raison de leur activité antioxydante et leur impact sur la santé[4]. Les stérols de l'huile des graines de *M. azedarach* représentent environ 66,7 % de  $\beta$ -Sitostérol, 15,6 % de Campesterol, 5,2 % de Stigmastérol, 6,6 % de  $\Delta$ -5 Avenasterol, 1,16 % de  $\Delta$ -7 Stigmastenol, 1,01 % de  $\Delta$ -7 Avenasterol et 0,31 % de Cholestérol.

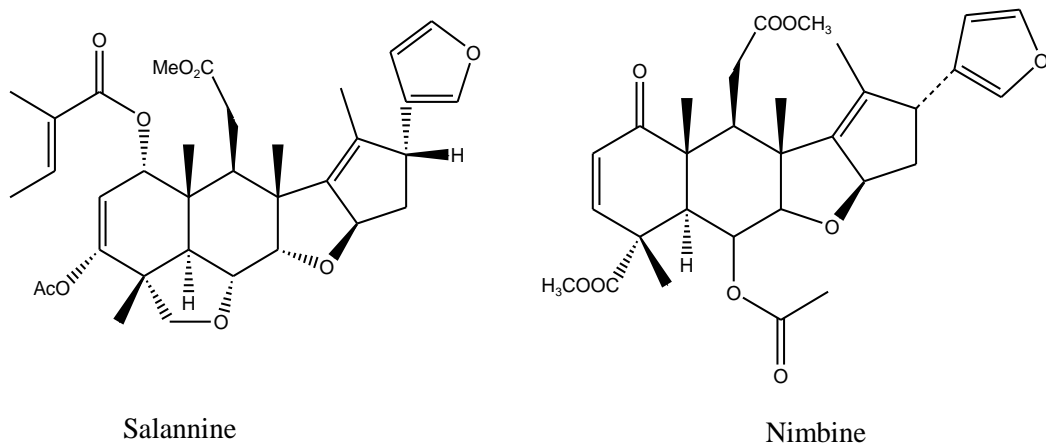
### 1.4.5. Limonoïdes

Plus de 280 limonoïdes ont été isolés et identifiés à partir des plantes de la famille des Meliaceae. L'azadirachtine est un composé d'origine naturelle de la famille des limonoïdes. C'est un tétranortriterpénoïdes hautement oxydé (structure multi cyclique. Il présente une grande variété de fonctions oxygénées comme les éthers énoliques, acétals, héli acétal et des oxiranes tétra substitués ainsi que des esters carboxyliques (Figure 1. 4)[37, 38].



**Figure 1. 4 :** Formule chimique de la molécule d'azadirachtine [39-41].

L'azadirachtine est considérée comme composé le plus actif contre les insectes. D'autres composés présents dans les feuilles, le bois ou l'huile de graines de *M. azedarach* ont aussi un pouvoir insecticide, les plus actifs sont la salannine, le meliantriol et la nimbine (Figure 1. 5)[1].



**Figure 1. 5 :** Formule chimique de la molécule salannine et nimbine[42].

## 1.5. Propriétés biologiques

### 1.5.1. Remèdes et usages traditionnels de *M. azedarach*

Les extraits de *M. azedarach* étaient utilisés dans les remèdes ayurvédiques pour les rhumes, les maux de tête, les troubles de l'estomac, l'inflammation, le diabète, diverses formes d'empoisonnement et le paludisme. Diverses utilisations de *M. azedarach* sont représentées dans le tableau 1. 3.

**Tableau 1. 3 :** Remèdes et utilisation traditionnelles de *M. azedarach*[8, 33].

Partie de la plante	Utilisations	Méthode
Feuille	Lèpre, diurétique, insecticide, brûlures, malaria (paludisme), varicelle, variole et les verrues, éliminant des toxines, purifier le sang et empêchent des dommages provoqués par les radicaux libres, bobines de moustique.	Extrait frais
Racine	Les maladies antimicrobiennes et inflammatoires.	Extrait frais
Graine	Rhumatisme, antihelminthique, antileprotique, antipoison, bobines de moustique.	Extrait frais
Huile de graines	Rhumatisme et les maladies de la peau, fièvre de malaria et lèpre, antibactérien, dépression du système nerveux central.	
Fruit	Insecticide, diabète, purgatif, antihémorrhode et antihelminthique.	La poudre en poussière
Bois et écorce	Insecticide.	Extrait brut
Ecorce de tige	Anticancéreux, antiviral, fatigue, tous, fièvre, perte d'appétit, blessure, vomissement.	Extrait brut
Fleur	Toux, astringent, antihelminthique.	Extrait brut

### 1.5.2. Activité insecticide

L'activité insecticide de *M. azedarach* résulte de l'activité biologique des triterpénoides qui présentent un effet antinutritionnel. Ils inhibent la prise alimentaire des insectes phytophages et provoquent la mort suite aux malformations chez les futures générations[43]. L'activité insecticide de la plante de la famille des Meliaceae a été largement étudiée, suite à la présence de limonoïdes (Tetranortriterpenoides). Ces composés sont capables d'inhiber le développement, l'alimentation des insectes et la survie de plusieurs espèces [44].

### 1.5.3. Activité antioxydante

Nahak et al[45] ont rapporté que les composés phénoliques possèdent des activités antioxydantes remarquables. Ils sont présents dans la famille des Meliaceae. Selon leurs résultats, l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *M. azedarach* augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. L'extrait éthanolique des feuilles de *M. azedarach* a révélé l'activité antioxydante la plus élevée par la méthode de piégeage des radicaux libres par le DPPH avec  $63,23 \pm 0,03$  %. L'extrait aqueux a été estimé à  $64,34 \pm 0,04$  % et l'extrait méthanolique  $61,17 \pm 0,05$  %[45].

**Tableau 1. 4** : L'activité antioxydante de différents extraits de *M. azedarach*[45].

C (mg.mL <sup>-1</sup> )	Activité antioxydante (%)	Activité antioxydante (%)	Activité antioxydante (%)
	Extrait aqueux	Extrait méthanolique	Extrait éthanolique
0,02	53,69±0,03	55,29±0,03	52,94±0,05
0,04	55,75±0,05	56,47±0,06	64,11±0,03
0,06	60,43±0,03	59,59±0,09	64,70±0,04
0,08	63,14±0,04	60,59±0,04	66,47±0,03
0,1	64,34±0,04	61,17±0,05	68,23±0,03



L'extrait éthanolique des feuilles de *M. azedarach* renferme la plus grande quantité de composés phénoliques due à des groupements hydroxyles existants, il présente la plus grande activité antioxydante[46].

#### 1.5.4. Activité antibactérienne

L'huile extraite des feuilles, des graines et de l'écorce de *M. azedarach* présente une activité antibactérienne à large spectre contre les micro-organismes à gram négatif ou à gram positif.

L'extrait méthanolique de fleurs de *M. azedarach* a montré une action antibactérienne puissante chez les lapins souffrant d'une infection cutanée produite par *Staphylococcus aureus*[47].

Neycee et al[48] ont décrit que l'extrait méthanolique des graines, des fruits, des feuilles et de fleurs de *M. azedarach* présente une activité antibactérienne contre toutes les souches bactériennes testées (*Pseudomonas syringae* p.v. *syringae*, *Xanthomonas Campestris* PV. *Campestris*, *Rathayibacter tritici* et *Escherichia coli*). Tous les extraits ont montré une activité antibactérienne significative contre les phytopathogènes testés.

#### 1.5.5. Activité antivirale

Alché et al[49] ont mis en évidence que le limonoïde 1-cinnamoyl-3,11-dihydroxymeliacarpin isolé de l'extrait des feuilles de *M. azedarach* possède une activité antivirale contre la stomatite vésiculeuse et du virus de l'herpès.

#### 1.5.6. Activité antiulcéreuse

L'extrait aqueux des feuilles de *M. azedarach* chez le rat induit par l'aspirine et le pylore ligaturé a montré des effets antiulcéreux comparables à ceux du médicament standard oméprazole[50].

### 1.6. Toxicologie

Toutes les parties de l'arbre de *M. azedarach* sont toxiques en raison de leur teneur en azadirachtine. Les fruits sont très toxiques pour les humains s'ils sont consommés en grande quantité. Les premiers symptômes d'intoxication apparaissent quelques heures après la consommation. Ils peuvent se manifester en une perte d'appétit, des vomissements, de la constipation, de la diarrhée, des

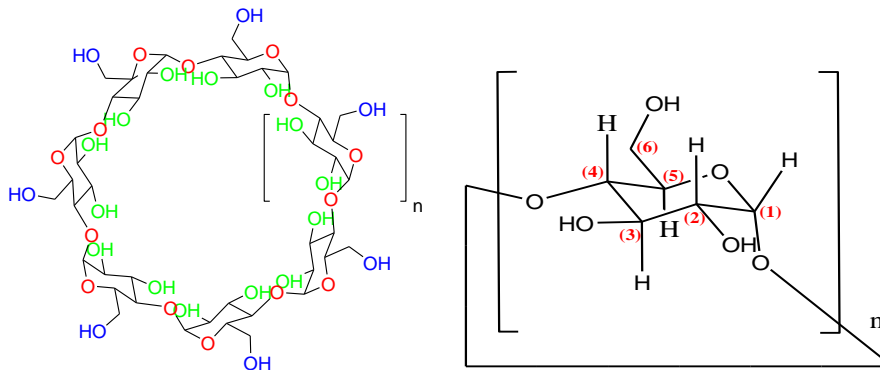
douleurs gastriques, une congestion pulmonaire, un arrêt cardiaque, un manque de coordination et une faiblesse générale. Les limonoïdes constituent un principe toxique important. Parmi ces limonoïdes, l'azadirachtine-A est considéré comme un principe actif le plus important en raison de ses diverses applications. L'azadirachtine, le composé insecticide primaire dans l'huile de *M. azedarach*. Ce comportement est probablement lié à la résistance du bois et de graines aux infestations de ravageurs, et peuvent être dus au manque d'attrait des fleurs pour les animaux[33].

## CHAPITRE II

### LES CYCLODEXTRINES

#### 2.1. Définition

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques composés d'unités de glucose liées par des liaisons  $\alpha$ -1,4 glucosidiques. Elles proviennent de la dégradation enzymatique de l'amidon par la bactérie *Bacillus macerans*[51]. Elles ont été découvertes par Villiers en 1891[52]. Les cyclodextrines les plus connues et les plus étudiées sont :  $\alpha$ -cyclodextrine ( $\alpha$ -CD),  $\beta$ -cyclodextrine ( $\beta$ -CD) et  $\gamma$ -cyclodextrine ( $\gamma$ -CD) composées respectivement de six, sept et huit unités de glucose (Figure 2.1) [53-55]. Les cyclodextrines sont respectueuses de l'environnement[56].

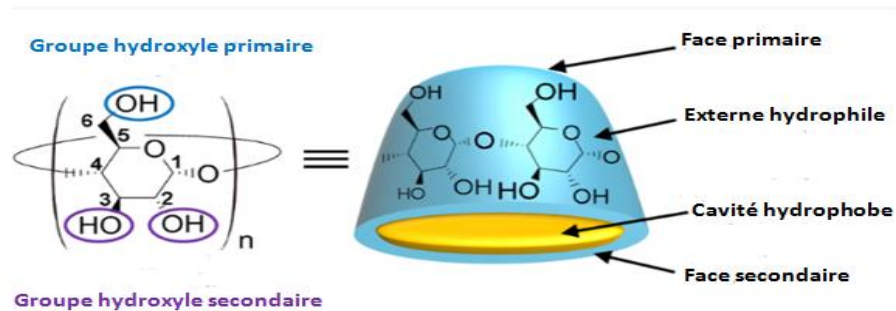


n=6 unités glucosidiques :  $\alpha$ -CD, n=7 unités glucosidiques :  $\beta$ -CD, n=8 unités glucosidiques :  $\gamma$ -CD

**Figure 2. 1 :** Représentation schématique de la structure chimique des cyclodextrines[57].

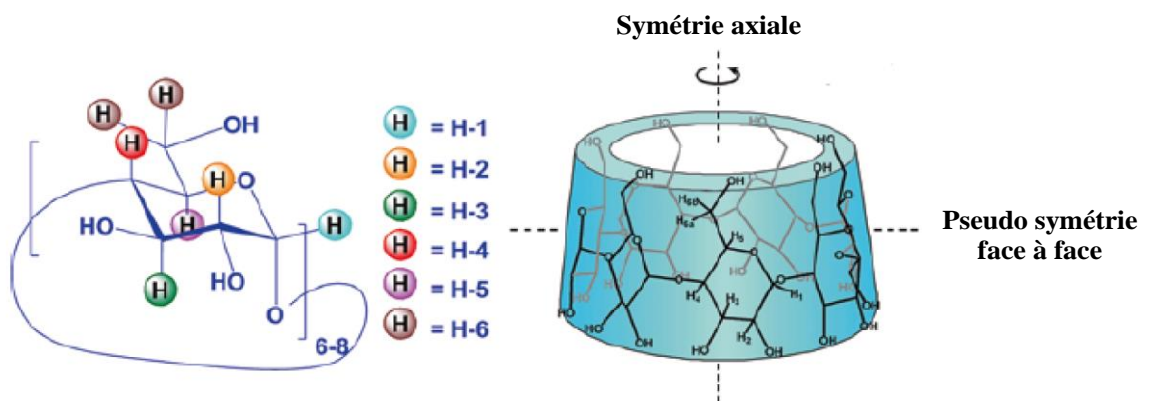
Les molécules de cyclodextrines adoptent une structure en forme de cône tronqué avec une cavité hydrophobe, capable d'accueillir des molécules hydrosolubles et une surface externe hydrophile. Le caractère hydrophile de l'extérieur du cône est résulte de la présence des groupements hydroxyles alors que l'existence des protons H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub> à l'intérieur du macrocycle, et des liaisons éthers dues aux jonctions  $\alpha$ - (1→4), confèrent à la cavité un caractère apolaire. Les CD peuvent interagir avec une variété de composés hydrophobes pour donner des complexes d'inclusion [28, 58-60]. Chaque unité glucopyranose possède 3 fonctions hydroxyles: une fonction hydroxyle primaire et deux fonctions

hydroxyles secondaires (Figure 2. 2). Les fonctions hydroxyles secondaires sont situées sur la face secondaire de la cyclodextrine (face large du cône), alors que les fonctions hydroxyles primaires sont situées sur la face primaire (face étroite du cône)[58, 61].



**Figure 2. 2 :** Structure conventionnelle des CD[62].

Les groupes CH liés aux atomes d'hydrogène H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub> et H<sub>4</sub> peuvent se trouver à l'extérieur de la molécule, tandis que les hydroxyles sont localisés à l'extérieur du cône tronqué, devenant la couche externe de CD hydrophiles (Figure 2. 3). Dans la couche interne, les groupes CH sont liés aux atomes d'hydrogène H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub> par des ponts oxygénés glucosidiques. Les liaisons hydrogènes intramoléculaires entre les groupes C<sub>2</sub>-OH d'une unité de glucose et les groupes C<sub>3</sub>-OH d'une unité de glucose adjacente stabilisent la structure du CD, ce qui la rend rigide[63].



**Figure 2. 3 :** Nomenclature couramment utilisée pour les hydrogènes dans les cyclodextrines natives.

Plusieurs dénominations sont attribuées aux CD selon les époques et les auteurs. Ainsi, la  $\beta$ -cyclodextrine est aussi désignée sous les termes de  $\beta$ -dextrine de Schardinger, cyclomaltoheptaose, cycloheptamylose,  $\beta$ -CD, etc [64].

## 2.2. Propriétés physico-chimiques des cyclodextrines

La solubilité des CD dans l'eau est attribuée à leur caractère amphiphile, néanmoins, ce comportement diffère d'une cyclodextrine à une autre.

**Tableau 2. 1** : Propriétés physico-chimiques des principales cyclodextrines [65-67].

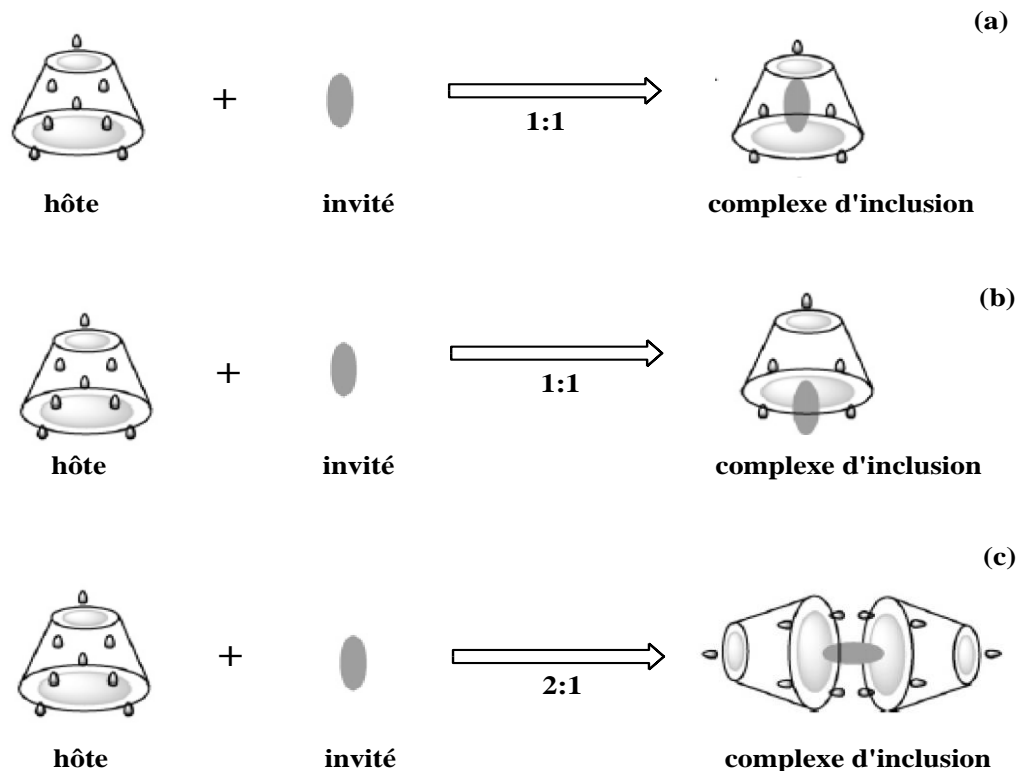
Propriétés	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Nombre d'unités glucose	6	7	8
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Masse molaire (g/mol)	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/100mL)	14,5	1,85	23,2
Diamètre de la cavité (Å)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Longueur de la cavité (Å)	7,9 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,1
Diamètre extérieur (Å)	14,6	15,4	17,5
Température de fusion (°C)	275	280	275
Volume de la cavité(Å <sup>3</sup> )	174	262	427

## 2.3. Formulation d'un complexe

Un complexe d'inclusion est une espèce chimique constituée suite à l'association de deux ou plusieurs molécules. La molécule hôte est capable d'inclure la molécule invitée dans sa cavité, il en résulte une encapsulation stable. La cavité lipophile des molécules de cyclodextrine fournit un microenvironnement dans lequel des fractions non polaires de taille appropriée qui peuvent former un complexe d'inclusion, alors que les fonctions hydroxyles de CD assurent une

bonne solubilisation des complexes dans l'eau. Une ou plusieurs molécules peuvent être encapsulées dans une, deux, et même parfois trois molécules de cyclodextrines. Aucune liaison covalente ne se forme pendant la formation du complexe d'inclusion [68, 69].

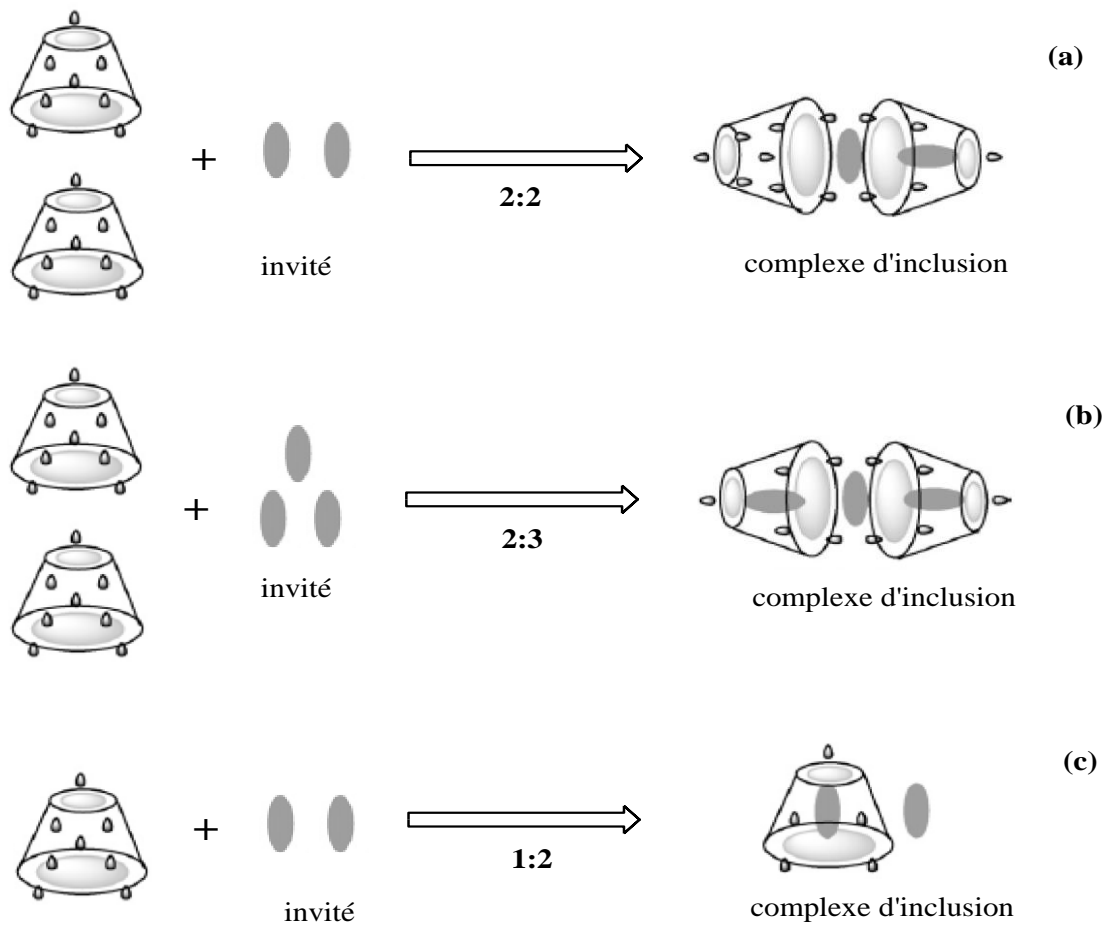
Les CD peuvent inclure partiellement ou complètement le composé invité[70]. Cette propriété peut aussi conduire à des complexes comportant plusieurs molécules invitées ou inversement plusieurs cyclodextrines. Les trois modes les plus courants de complexes d'inclusions sont représentés sur la figure 2. 4, correspondant aux valeurs de rapports stœchiométriques chimiques de 1 / 1, 1 / 1 et 2 / 1.



**Figure 2. 4 :** Description schématique des trois complexes d'inclusions les plus rencontrés entre CD et la molécule invitée [71].

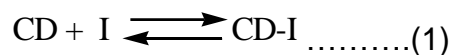
Dans certain cas la formulation du complexe d'inclusion coexiste avec un autre type d'association supramoléculaire. Des molécules invités autres que celles incluses, peuvent en effet être incorporées dans l'espace interstitiel formé par des liaisons hydrogène intermoléculaires entre deux cyclodextrines (Figure 2.5.a et

Figure 2. 5. b) ou même rester à proximité de la cyclodextrine (Figure 2. 5. c). Il s'agit alors d'interaction d'encapsulation[72].



**Figure 2. 5 :** Description schématique de trois sortes d'interactions d'encapsulation accompagnant la formation du complexe d'inclusion [71].

L'association d'une cyclodextrine (CD) et d'une molécule invitée(I), ainsi que la dissociation du complexe formé CD-I, est tenu par un équilibre thermodynamique de la forme :



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

$$K_s = \frac{1}{K_d} = \frac{[CD-I]}{[CD] \times [I]} \dots\dots\dots(2)$$

Ou [CD-I], [CD] et [I] sont les concentrations du complexe de la CD et du soluté respectivement.

#### 2.4. Intérêts de l'encapsulation

Les cyclodextrines ont la capacité de former des complexes d'inclusion avec des molécules hydrophobes telles que les huiles essentielles, les huiles végétales, etc. L'encapsulation peut protéger la molécule invitée contre l'oxydation ou les dommages causés par la chaleur [73, 74]. Elles peuvent aussi jouer le rôle de transporteurs dans des formulations pharmaceutiques. Elles peuvent augmenter la capacité d'encapsulation de la molécule invitée, améliorer la stabilité du médicament et réguler efficacement le taux de libération du médicament [25, 75]. Elles sont largement appliquées dans les formulations pharmaceutiques pour améliorer la solubilité, la stabilité et la biodisponibilité des médicaments. Les CD sont également utilisés pour améliorer le goût et la saveur des boissons, pour dissoudre les parfums et supprimer leur volatilité ou pour protéger les composés instables lorsqu'ils sont exposés à la lumière ou à l'oxygène. La grande importance des CD dans les applications industrielles et la recherche réside principalement dans leur capacité à former sélectivement des complexes d'inclusions avec d'autres substances [75, 76].

#### 2.5. Applications des cyclodextrines

De par leurs propriétés, les CD sont impliquées dans différents domaines tels que le domaine pharmaceutique, cosmétique, l'agro-alimentaire, l'agriculture, l'analyse chimique, etc.

##### 2.5.1. Domaine pharmaceutique

Souvent les médicaments sont lipophiles, ce qui peut poser des problèmes d'administration par voie orale. Les CD agissent en tant que système de transport des médicaments en raison de leur capacité de changer les propriétés des molécules invitées par la formation des complexes d'inclusion. Des études ont montré que les billes composées de CD et d'huile végétale libèrent efficacement des principes actifs aussi bien après administration orale que cutanée et qu'elles sont bien tolérées par la peau [77, 78]. Les principaux avantages de l'utilisation de cyclodextrine dans les systèmes de délivrance de médicaments sont les suivants : l'augmentation de la biodisponibilité, l'amélioration de la solubilité et de la stabilité du médicament, l'augmentation de l'index thérapeutique et des propriétés d'efficacité pharmacocinétique et diminuent la toxicité du médicament [66, 79, 80].



### 2.5.2. Domaine de l'environnement

Les CD peuvent jouer un rôle important dans le domaine de l'environnement. Ainsi, la solubilité des contaminants organiques peut être améliorée et donc faciliter l'élimination des polluants organiques, des métaux lourds du sol, de l'eau et l'atmosphère [76, 81]. Les eaux usées contenant des composés aromatiques peuvent être débarrassées de ces derniers par le traitement avec la  $\beta$ -CD, ce qui confère aux cyclodextrines un rôle important dans la protection environnementale[82].

### 2.5.3. Domaine alimentaire

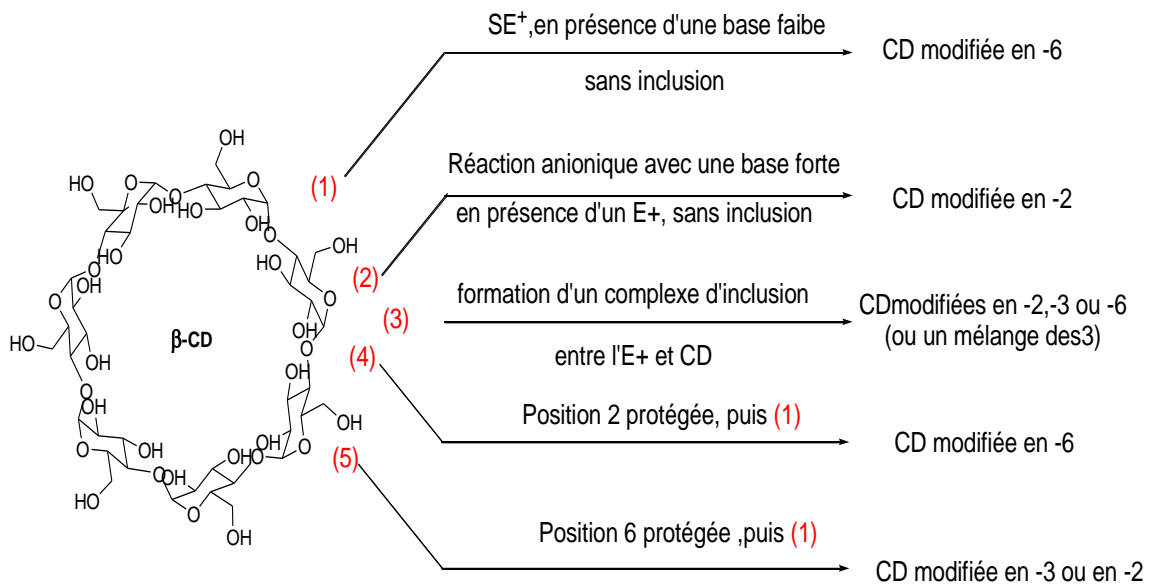
Les CD sont utilisées pour l'encapsulation des arômes afin de limiter leur dégradation ou les pertes durant les étapes de fabrication et de stockage (protection contre la lumière, de l'oxygène, l'humidité et la température élevée). Les CD sont utilisées pour enlever le cholestérol de produits d'origine animale comme les œufs et les produits laitiers comme le lait, la mayonnaise ou la crème. Par ailleurs, du beurre à faible teneur en cholestérol commercialisé sous le nom de Balade™; commercialisée en Belgique depuis 1992 est produite par l'utilisation de  $\beta$ -CD dans le procédé de fabrication. D'autres produits laitiers à faible teneur en cholestérol, comme le fromage sont fabriqués par cette même méthode [83]. Elles sont utilisées aussi dans le chewing-gum pour conserver le goût pendant une longue durée. Les CD sont utilisées aussi pour améliorer la qualité de la pâtisserie en masquant l'odeur et le goût désagréable [81, 84].

### 2.5.4. Domaine de la cosmétologie

Dans l'industrie cosmétique, les CD sont utilisées essentiellement pour limiter la volatilité des parfums, des désodorisant et des détergents par la méthode de libération contrôlée par formation des complexes d'inclusion [81].

## 2.6. Principales voies de modification des cyclodextrines

Toutes les modifications des cyclodextrines se réalisent sur les groupes hydroxyles connus pour leur nature nucléophile. Dans des conditions normales, les électrophiles réagissent non seulement en position 6 mais aussi avec les autres hydroxyles de la partie secondaire, alors qu'un réactif en défaut favorisera une réaction sélective en position 6. Le groupe hydroxyle en position 2 est le plus acide, il est donc le premier à être déprotoné et sera plus réactif que l'hydroxyle primaire non encore déprotoné (voie1, Figure 2. 6). La modification des cyclodextrines peut en effet permettre d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques et le pouvoir de complexation de leur cavité avec une molécule hôte.



**Figure 2. 6 :** Présentation générale des molécules de modification chimique des CD[85].

## 2.7. Les cyclodextrines polymérisées

Les CD polymérisées sont des composés de haut poids moléculaire, soluble ou insoluble dans l'eau. Elles offrent l'avantage de la complexation et l'état amorphe sans un effet toxique. Des exemples de cyclodextrines polymérisées sont : le polymère  $\beta$ -CD anionique soluble, polymère de  $\gamma$ -CD soluble et le polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine. En raison de la grande solubilité et les

capacités de complexation, les cyclodextrines polymérisées sont aujourd'hui sont les plus favorisées pour la complexation [86].

Les CD polymérisées sont des matériaux spéciaux car elles sont recyclables et peuvent être facilement séparées. D'autres polymères de CD solubles dans l'eau, en particulier liés à la chaîne du polymère natif, peuvent devenir les nouveaux matériaux et supports pour les formulations et le développement de nouveaux médicaments.

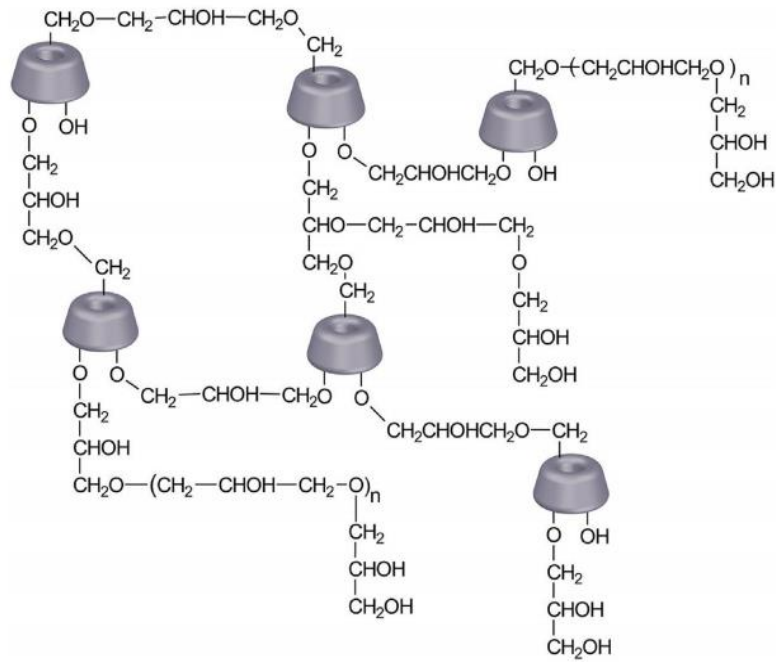
### 2.7.1. Préparation des polymères cyclodextrines

#### A. Les polymères cyclodextrines insolubles

Les polymères CD insolubles présentent une structure sous forme d'un réseau tridimensionnel. Ils ne sont solubles dans aucun solvant. Ces polymères peuvent contenir plus de cinq cycles de cyclodextrines dans une molécule. Cette propriété est la base de leur utilisation comme phase stationnaire dans les colonnes capillaires pour la séparation des isomères en chromatographie [87].

Deux méthodes de synthèse ont été appliquées pour préparer le polymère  $\beta$ -CD insoluble. L'une est que des molécules de  $\beta$ -CD sont attachées en tant que groupes pendants sur d'autres chaînes polymères par polymérisation radicalaire de monomères  $\beta$ -CD fonctionnels tels que l'acryloyl cyclodextrine ( $\beta$ -CD-A).

Une autre manière de préparation est basée sur la réaction des molécules de  $\beta$ -CD avec des agents de réticulation bifonctionnels tels que l'épichlorohydrine (Figure 2. 7)[88].

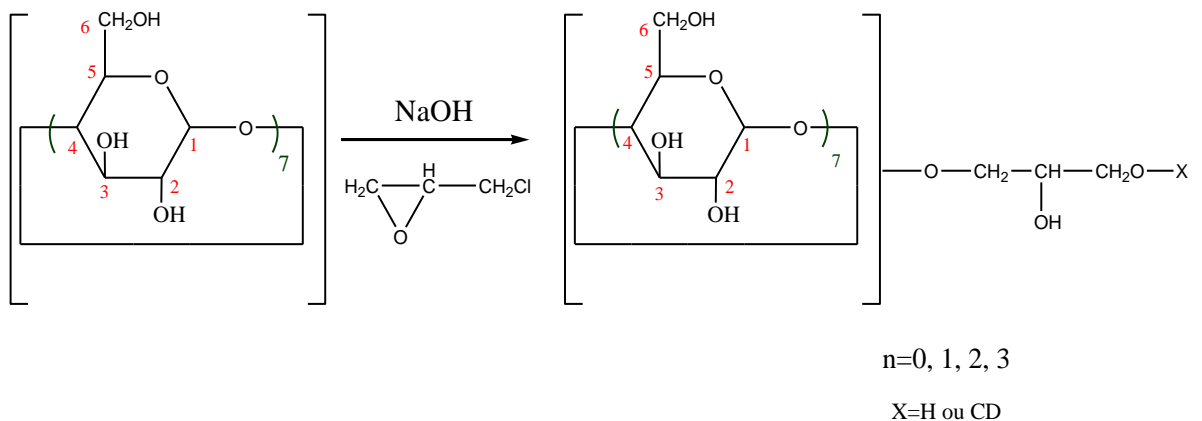


**Figure 2. 7 :** Structure d'un matériau CD réticulé par EP insoluble dans l'eau [89, 90].

### B. Les polymères cyclodextrines solubles

Les polymères solubles dans l'eau ont fait l'objet de nombreuses études. Ces polymères présentent une variété d'applications potentielles telles que la libération contrôlée des substances à travers une membrane et la répartition des composés organiques dans un système aqueux. Le polymère  $\beta$ -CD peut augmenter la stabilité de complexe [87].

Exemple de synthèse  $\beta$ -CD-EP soluble dans l'eau (Figure 2.8)



**Figure 2. 8 :** Structure chimique de  $\beta$ -CD-EP.

## 2.8. L'état de l'art sur la synthèse du polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP) soluble dans l'eau

Différents travaux ont montré que le polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine peut augmenter la solubilité de la molécule invitée insoluble dans l'eau. En 2011 Zhang et al[91] ont synthétisé un polymère  $\beta$ -CD-EP par la méthode de polycondensation et ont formulé un complexe d'inclusion hydrosoluble de ferrocène avec le polymère  $\beta$ -CD-EP dont le but d'améliorer la stabilité thermique et la solubilité dans l'eau. Dans la même année, Nie et al[92] ont synthétisé des polymères  $\beta$ -CD réticulés par EP et ils ont utilisé ce polymère comme un véhicule de médicament efficace afin d'améliorer la vitesse de dissolution et la biodisponibilité orale du principe actif (glipizide). En 2012, Deveswaran et al[93] ont synthétisé le polymère  $\beta$ -CD-EP pour améliorer la vitesse de dissolution et la biodisponibilité orale de l'acéclofénac faiblement hydrosoluble. Dans la même année, Ciobanu et al[94] ont mis au point un polymère  $\beta$ -CD-EP afin de formuler un complexe d'inclusion entre le polymère  $\beta$ -CD-EP et deux composants majeurs de l'huile essentielle de lavande officinale (le linalol et le camphre). En 2013 Zhang et al[95] ont synthétisé le polymère  $\beta$ -CD-EP entre la  $\beta$ -CD et EP dans un milieu alcalin qui a été utilisé comme agent de solubilisation du principe actif (hypericine), très lipophile et insoluble dans l'eau et ils ont étudié la formation d'un complexe d'inclusion entre le polymère  $\beta$ -CD-EP et l'hypericine dont le but d'améliorer sa solubilité. En 2014, Zhu et al[96] ont synthétisé des polymères  $\beta$ -CD-EP dans un milieu alcalin. Afin d'établir un complexe d'inclusion entre le polymère ( $\beta$ -CD-EP) et la quercétine. Gidwani et al[25] ont synthétisé le polymère  $\beta$ -CD-EP par condensation en une seule étape. Le polymère  $\beta$ -CD-EP est meilleur par rapport aux cyclodextrines natives en termes de propriétés de complexation et de solubilité. Ces propriétés font que le polymère  $\beta$ -CD-EP est un excipient pharmaceutique ou un support médicamenteux favorable pour améliorer les propriétés physicochimiques et biologiques des médicaments insoluble dans l'eau. En 2015 Poornima et al[97] ont synthétisé un polymère ( $\beta$ -CD-EP) soluble dans l'eau. Ils ont été préparés par formation d'un complexe d'inclusion avec le famotidine dont le but d'améliorer sa solubilité aqueuse. En 2017, Wang et al [26] ont décrit l'utilisation des polymères de cyclodextrines, obtenus par réticulation de  $\beta$ -CD à l'aide de EP. Ce polymère a été utilisé comme un film avec le chitosane dont le but d'augmenter la solubilité de

carbendazime. En 2018, Karpkird et al [98] ont synthétisé des polymères de  $\beta$ -CD réticulés par l'épichlorohydrine et l'acide citrique. Ils ont préparé un complexe d'inclusion entre les polymères (polymère  $\beta$ -CD-EP et polymère  $\beta$ -CD-acide citrique) et la curcumine et deux filtres UV commerciaux (2-éthylhexyl-p-méthoxycinnamate (EHMC) et 4-tert-butyl-4'-méthoxydibenzolméthane (DBM) dont le but d'augmenter la stabilité de ces trois composés.

## CHAPITRE III

### ENCAPSULATION

#### 3.1. Introduction

L'encapsulation est un procédé qui consiste à piéger une substance ou un mélange de substances à l'intérieur de matériaux adaptés pour isoler la substance encapsulée de son milieu extérieur et la protéger de la dégradation ou l'inhibition de son activité jusqu'à ce qu'elle atteigne son milieu cible [99, 100]. L'encapsulation joue un rôle très important dans les secteurs pharmaceutiques, cosmétiques, agro-alimentaires, industries chimiques, nutraceutiques, agriculture et textile du fait que les matériaux protègent les composés sensibles de l'humidité, la chaleur ou des conditions extrêmes, améliorant aussi leur stabilité et leur viabilité [101, 102]. Une barrière protectrice a été créée autour de l'huile, ce qui permet de protéger les composés plus actifs de l'huile contre les dommages environnementaux et aussi améliorer la solubilité dans l'eau et masquer l'odeur et le goût indésirable et assurer une longue durée de conservation.

#### 3.2. Procédés d'encapsulation

De nombreuses techniques ont été utilisées pour encapsuler les huiles, les polyphénols, etc. Chaque technique répond à des critères bien définis. Le choix d'une technique se fera en fonction de la nature du principe actif à encapsuler, de ses propriétés physique et chimique et du matériau de paroi, de la taille des particules souhaitée, de l'application envisagée (pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire), etc [103]. La vitesse et les conditions de libération prévues, des rendements d'encapsulation nécessaires et des contraintes de fabrication et de coût. Les principales méthodes d'encapsulation sont : coacervation, polymérisation in situ.

##### 3.2.1. Coacervation

La coacervation implique l'attraction électrostatique entre deux biopolymères de charges opposées, et la formation de coacervats qui se produit dans une plage étroite de pH. Dans cette technique, la phase liquide se sépare de la phase riche en polymère (coacervat). En cas de coacervation simple, il y a un seul polymère

alors que la coacervation complexe implique l'interaction de deux polymères à charge opposée [103, 104].

### 3.2.2. Polymérisation in situ

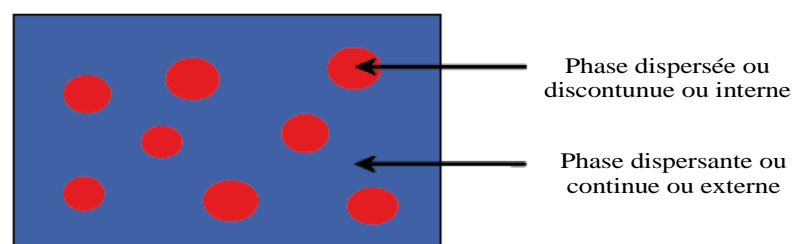
La polymérisation in situ consiste en la formation d'une membrane via l'addition d'un réactif à l'intérieur ou l'extérieur de base. La polymérisation se produit dans la phase continue plutôt que dans les deux cotés de l'interface entre le matériau de la base et la phase continue[105]. La technique de polymérisation in situ est couramment utilisée pour la préparation de microcapsules et de fibres fonctionnelles. La caractérisation distinctive de la polymérisation in situ, plutôt que tout autre processus d'encapsulation, c'est qu'aucun réactif n'est inclus dans le matériau de base (polyphénol, huile)[106].

### 3.3. Emulsification

Les émulsions sont utilisées dans une grande variété de produits alimentaires et pharmaceutiques. La technologie d'émulsification est une étape très importante dans l'encapsulation des huiles. L'émulsion est généralement utilisée pour le piégeage des substances bioactives dans des solutions aqueuses, qui peuvent être utilisées directement à l'état liquide ou peuvent être séchées pour former des poudres après l'émulsification.

#### 3.3.1. Définition

Une émulsion est une dispersion d'un liquide en fines gouttelettes sphériques dans un autre liquide. Les deux derniers étant non miscibles[107]. Le liquide se trouvant dispersé sous la forme de fines gouttelettes est appelé phase dispersée (ou discontinue), tandis que l'autre liquide dans lequel les gouttelettes diffusent est appelé phase continue (ou dispersante). Les émulsions appartiennent donc aux systèmes dispersés (Figure 3. 1) [108].



**Figure 3. 1** : Représentation schématique d'une émulsion.



### 3.3.2. Différents types d'émulsion

Une émulsion est composée de deux phases : une phase hydrophile et une phase hydrophobe.

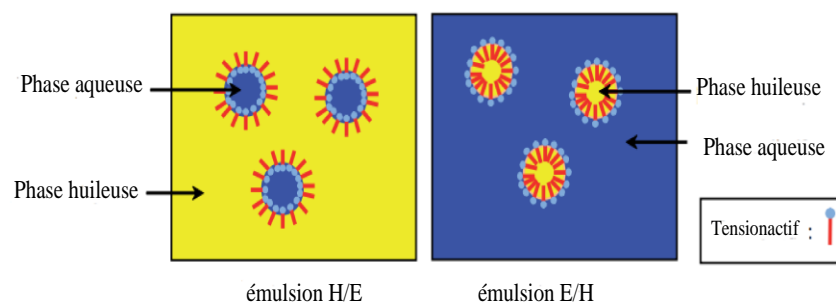
- La phase hydrophile, appelée également phase aqueuse, contient de l'eau et des composés soluble en phase aqueuse appelés composés hydrosolubles.
- La phase hydrophobe, appelée également phase grasse, phase huileuse ou phase organique, est constituée d'un mélange d'ingrédients d'origines variées. Elle peut être composée d'huiles, de graisses et de cires.

#### A. Emulsions simples

Il existe deux formes d'émulsions simples (Figure 3. 2):

Les émulsions directes : émulsion «huile dans eau » (H/E) dans lesquelles les gouttelettes d'huile sont dispersées dans l'eau.

Les émulsions inverses : émulsion «eau dans huile » (E/H) dans lesquelles les gouttelettes de l'eau sont dispersées dans l'huile.



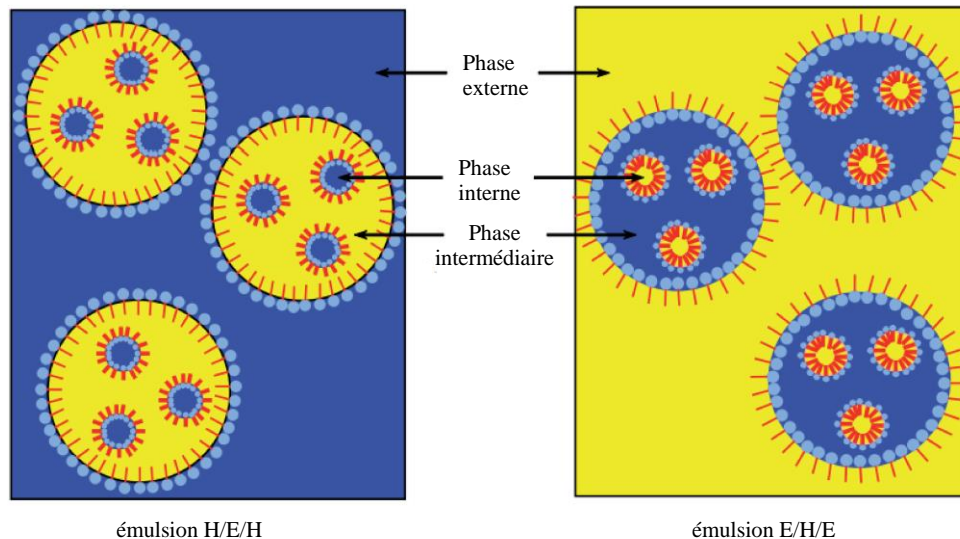
**Figure 3. 2 :** Représentation d'une émulsion simple.

#### B. Emulsions doubles

Il est possible de préparer différents types d'émulsions multiples, par exemple :

Les émulsions eau-dans-huile-dans-eau (E/H/E), dans lesquelles des gouttelettes d'eau sont dispersées dans de plus grosses gouttes d'huile elles-mêmes dispersée dans une phase aqueuse (Figure 3. 3).

Les émulsions huile-dans-eau-dans-huile (H/E/H) constituées de gouttes d'huile dispersées dans de plus grosses gouttes d'eau elles-mêmes dispersée dans une phase huileuse[108].



**Figure 3. 3 :** Représentation d'une émulsion double.

### 3.3.3. Différents systèmes sous le terme « émulsion »

#### A. Microémulsion

La microémulsion est un mélange liquide limpide, thermodynamiquement stable, isotrope. Elle est préparée en utilisant de l'eau, de huile, un tensioactif et un co-tensioactif. Elle incorpore des particules de très petites tailles jusqu'à une taille nanométrique par rapport à une émulsion classique[109].

#### B. Nanoémulsion

Les nanoémulsions sont similaires aux microémulsions qui sont des dispersions de particules nanométriques, obtenues par une force mécanique contrairement aux microémulsions qui se forment spontanément[109]. Les nanoémulsions sont également appelées miniémulsions, émulsions ultrafines et émulsions submicroniques[110].

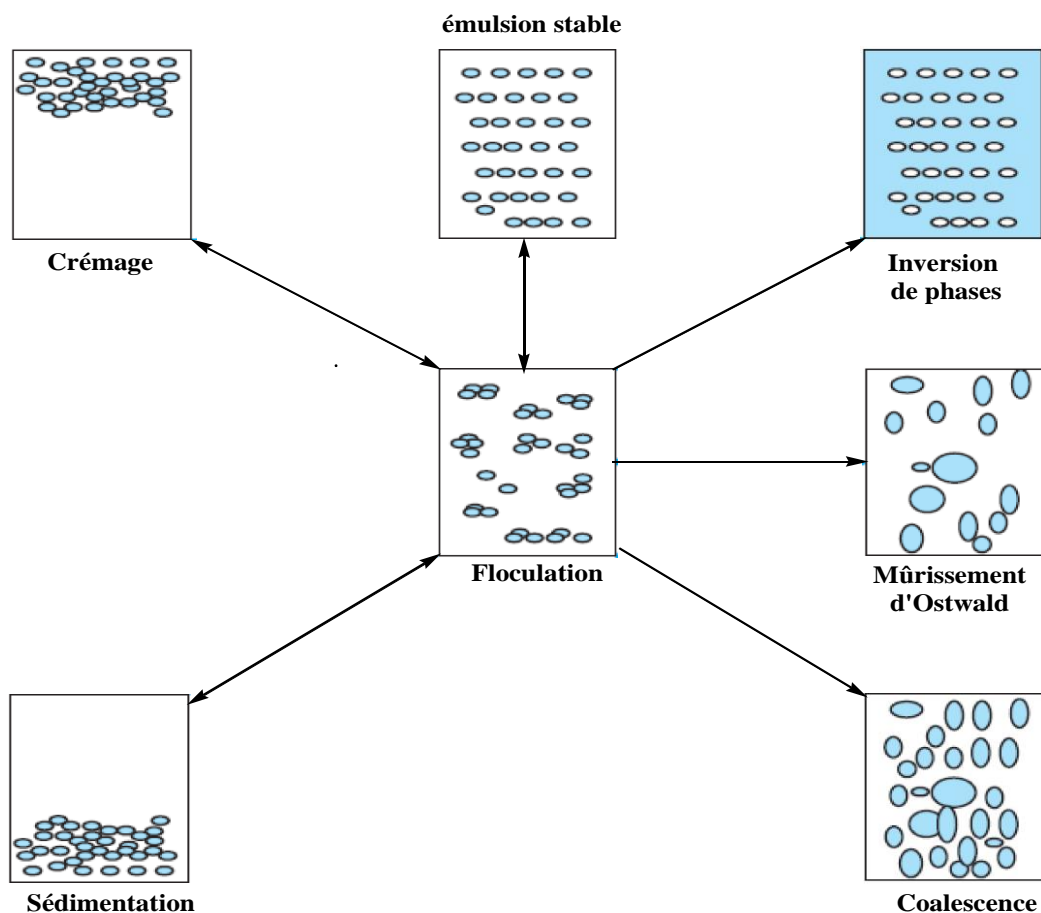
Selon la taille des gouttelettes, les émulsions sont classées comme suit [108]: Macro-émulsions : Elles ont généralement une taille comprise entre 0,1 et 5  $\mu\text{m}$ .

Nanoémulsions : De tailles comprises entre 20 et 100 nm.

Emulsion micellaires ou microémulsions : Elles ont généralement une taille comprise entre 5 et 50 nm.

### 3.3.4. Instabilité des émulsions

Une émulsion est un système thermodynamique instable. Les principaux phénomènes responsables de l'instabilité des émulsions sont les suivantes : sédimentation et crémage, floculation, coalescence et mûrissement d'Ostwald (Figure 3. 4)[111].



**Figure 3. 4:** Phénomènes intervenant dans la déstabilisation des émulsions.

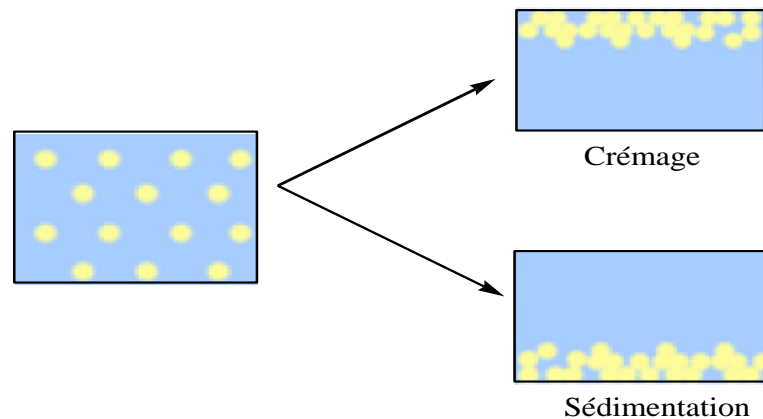
#### A. Crémage et sédimentation

L'origine de ces deux phénomènes (crémage et sédimentation) résulte d'une différence de densités entre la phase dispersée et la phase dispersante (Figure 3. 5).

Dans le phénomène de crémage : Les gouttelettes migrent de la phase dispersée vers le haut (émulsion H/E).

Dans le phénomène de sédimentation : Les gouttelettes migrent vers le bas (émulsion E/H).

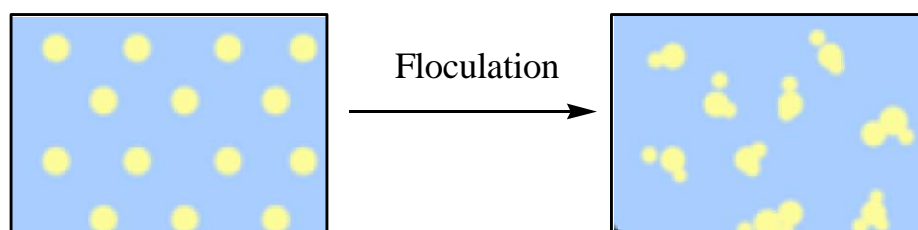
Le crémage aura lieu si la densité de la phase dispersée est supérieure à celle de la phase dispersante et dans le cas inverse, une sédimentation se présente.



**Figure 3. 5 :** Phénomènes de crémage et sédimentation.

### B. Floculation

La floculation commence dans les émulsions immédiatement après l'arrêt de l'agitation. Les floccs commencent à se former très rapidement. Cependant, leur structure dans les émulsions E/H et la vitesse de leur formation dépendent de la concentration de la phase dispersée(Figure 3. 6) [112].

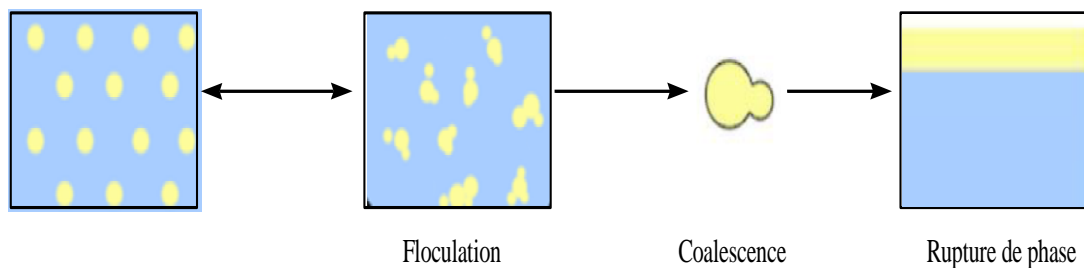


**Figure 3. 6:** Phénomène de floculation.

### C. Coalescence

La coalescence se produit lorsqu'il ya une rupture du film protecteur de la phase continue. Ceci est dû à un rapprochement des gouttes qui va tendre à réduire le film mince sous l'effet de la pression exercée sur les gouttes. Les

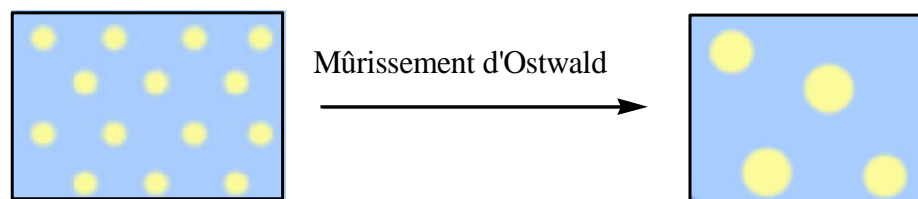
gouttes vont alors fusionner pour donner des gouttelettes de tailles supérieures (Figure 3. 7).



**Figure 3. 7 :** Phénomène de coalescence ou rupture de phase.

#### D. Mûrissement d'Ostwald

Les plus fines gouttelettes diffusent dans les plus grosses, au travers de la phase continue. Ce phénomène résulte à la différence de pression à l'intérieur des gouttes et plus particulièrement à la pression de Laplace s'exerçant à l'interface de la goutte (Figure 3. 8).



**Figure 3. 8:** Mûrissement d'Ostwald.

#### 3.4. Émulsion sèche

Une émulsion sèche est une formulation solide préparée par séchage d'une émulsion liquide qui contient dans sa phase aqueuse un support solide et à partir de laquelle une émulsion à phase continue peut être reconstitué après réhydratation lors d'une administration par voie ventrale[113].

##### 3.4.1. Méthode d'obtention des émulsions sèches

Les émulsions sèches sont obtenues par séchage de pulvérisation, lyophilisation ou par évaporateur rotatif afin d'éliminer la phase aqueuse d'émulsion H/E [114, 115].

### A. Séchage par pulvérisation

Le séchage par pulvérisation consiste à pulvériser des émulsions dans une chambre de séchage à une température relativement élevée, ce qui conduit à une évaporation très rapide de l'eau et par conséquent, la croûte formée à une vitesse rapide permet le piégeage quasi-instantané de l'huile [106].

La gomme arabique est l'un des matériaux de paroi le plus utilisé dans l'encapsulation par séchage par pulvérisation. En fait, elle présente de nombreux avantages tels qu'une solubilité élevée, une faible viscosité et de bonnes propriétés émulsifiantes[116]. Le séchage par pulvérisation a été utilisé pour encapsuler principalement les arômes, les lipides et les pigments, mais son utilisation dans les produits thermosensibles tels que les micro-organisme et les huiles essentielles est limitée car elle provoque la volatilisation et la destruction du produit [103]. La principale raison cette contrainte est le non disponibilité de ces matériaux spécifiques ayant une bonne solubilité dans l'eau. Un autre inconvénient de cette méthode réside dans la production d'une fine poudre de microcapsules nécessitant un traitement ultérieur comme l'agglomération. En plus de la diminution de la stabilité à l'oxydation due aux hautes températures utilisées pendant le processus de pulvérisation[106]. C'est la méthode préférée de séchage de nombreux matériaux thermiquement sensibles tels que les aliments et produit pharmaceutiques[117].

Le séchage par pulvérisation est une technique largement utilisée pour faciliter le stockage. Dans le nombreux cas, il est souhaitable de garder la graisse encapsulée dans la particule de poudre. Par exemple, la présence de graisse sur les surfaces en poudre le rend hydrophobe, et par conséquent, la mouillabilité et la dispersibilité dans l'eau sont réduites. En outre, la graisse superficielle est défavorable à l'oxydation des lipides, en particulier dans les systèmes contenant des lipides polyinsaturés, car la graisse sur les surfaces en poudre sera exposée à l'oxygène [118, 119].

### B. Lyophilisation

La lyophilisation, appelée également cryodésiccation, est un processus simple, utilisé pour la déshydratation des matériaux et des composés bioactifs thermosensible comme les huiles et les polyphénols. Avant le séchage, l'huile est

dissoute dans l'eau et congelée (entre -90 °C et -40 °C), puis la pression ambiante est réduite, la chaleur nécessaire est ensuite fournie afin de permettre à l'eau glacée de se sublimer. Cette technique a été utilisée avec succès pour l'encapsulation de certaines huiles telles que l'huile de graines de lin, l'huile de noix et l'huile d'olive. L'objectif principal de lyophilisation est de protéger les substances sensibles à la chaleur, en plus sa simplicité et sa facilité d'emploi[106]. Le produit lyophilisé est stable pendant une longue période de temps et pourrait permettre un stockage à des températures plus élevées[117, 120].

### C. Evaporation rotative

Les évaporateurs rotatifs sont généralement utilisés pour éliminer les solvants à la suite de réactions chimiques. Combiné à la chaleur douce du bain d'évaporateur[117].

#### 3.4.2. L'avantage des émulsions sèches

L'émulsion sèche offre plusieurs avantages par rapport à la forme galénique classique

- Résoudre l'instabilité et améliorer la stabilité thermodynamique de l'émulsion [121, 122].
- Peut fournir un composé peu soluble dans l'eau et améliorer la biodisponibilité des médicaments [120, 121, 123, 124].
- Réduisant les effets secondaires [117, 124, 125].
- L'émulsion sèche utilisée pour les substances médicamenteuses nécessitant une protection contre la lumière et l'oxydation.
- Assurer une bonne protection de l'ingrédient actif[126].

#### 3.5. L'état de l'art sur l'encapsulation des huiles et des polyphénols

En 2009 Riyajan et al [127] ont encapsulé l'extrait de neem dans une matrice de poly (acétate de vinyle). En 2010 Devi et al [11] ont formulé des microcapsules de complexes du polyélectrolyte de gélatine et k-carraghénane contenant de l'huile de graines de neem En revanche, en 2011, les mêmes auteurs ont encapsulé l'huile de graine de neem avec un autre matériau de paroi (gélatine et carboxyméthyl cellulose de sodium) par la [128]. En 2013, Bagle et al [129] ont

préparé des micro-capsules de l'huile de neem en formant un film polymère continu de polyphénol-formaldéhyde par technique de polymérisation in situ pour des applications à libération contrôlée.

Des travaux antérieurs ont déjà prouvé l'efficacité de  $\beta$ -cyclodextrine et de ses dérivés dans l'encapsulation des huiles et des polyphénols et le maintien des propriétés biologiques et pharmacologiques. En 2008, Ayala-Zavala et al [130] ont encapsulé l'huile de feuille de cannelle et l'huile d'ail riche en composés organosulfurés dans la  $\beta$ -CD par la méthode de mélange physique dont le but d'évaluer l'activité antifongique. Par contre en 2011, Wang et al [74] ont décrit la préparation du complexe d'inclusion entre la  $\beta$ -CD et l'huile d'ail par la méthode de co-précipitation dont le but de contrôler le taux de libération de l'huile d'ail. En 2011, Wang et al [131] ont encapsulé l'eugénol dans la  $\beta$ -CD par un autre méthode d'encapsulation, dont le but de déterminer l'activité antibactérienne d'eugénol encapsulé. Alors que, en 2013 Hill et al [73] ont encapsulé quatre plantes différentes (l'extrait d'écorce de cannelle, le trans-cinnamaldéhyde, l'extrait de bourgeon de clou de girofle, l'eugénol et un mélange (trans-cinnamaldéhyde : eugénol) en utilisant la  $\beta$ -CD comme une membrane dont le but d'évalué leur activité antimicrobienne contre les agents pathogènes d'origine alimentaire. En 2014, Wang et al [28] ont formulé un complexe d'inclusion entre la lécithine de soja et la  $\beta$ -CD dont le but d'améliorer la stabilité thermique de la lécithine de soja encapsulé. Dans la même année, Dima et al [20] ont formulé un complexe d'inclusion entre la  $\beta$ -CD et l'huile essentielle de coriandre par la méthode de co-précipitation dont le but d'évaluer l'activité antimicrobienne et l'activité antioxydante d'huile essentielle encapsulé. En 2015 García et al [132] ont encapsulé deux huiles différentes (d'origan et de sauge) par la technique de polymérisation interfaciale en utilisant la polyurée comme une membrane. Ils ont montré que l'huile de l'origan et la sauge ont des propriétés antimicrobiennes. Alors que, en 2017 Kotronia et al [133] ont décrit la formulation de l'huile essentielle d'origan dans la  $\beta$ -CD par un autre méthode d'encapsulation (co-précipitation) dont le but de déterminer l'efficacité et étudier le profile de la libération d'origan encapsulé. En 2015, Guimarães et al [134] ont formulé du complexe d'inclusion du carvacrol dans la  $\beta$ -CD par deux procédés différents (inclusion en suspension, mélange physique) dont le but d'évaluer l'effet de



l'encapsulation du carvacrol pour le traitement de la douleur cancéreuse. Dans la même année Santos et al[29] ont formulé des complexes d'inclusion de  $\beta$ -CD-carvacrol par d'autre méthode d'encapsulation (inclusion par pétrissage) dont le but d'évaluer l'activité antimicrobienne et l'activité antioxydante de cette l'huile encapsulé. En 2017 Rakmai et al[135] ont formulé un complexe d'inclusion entre l'huile essentielle de poivre noir et HP- $\beta$ -CD. Dans la même ils ont formulé un autre complexe d'inclusion entre l'huile essentielle d'achillée millefeuille avec la même membrane [24] alors que, en 2018, ils ont encapsulé l'huile essentielle de feuille de goyave [136] dont le but de protéger les composés actifs et évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle encapsulé. En 2015, Pasrija et al [137] ont encapsulé du polyphénol extrait de thé vert par deux méthodes différentes en utilisant trois membranes différents tels que maltodextrine,  $\beta$ -CD et combinaison de deux membranes dont le but d'améliorer la stabilité du polyphénol d'extrait de thé vert. Par contre 2016 Pasukamonset et al[138] ont encapsulé l'extrait phénolique de l'extrait de fleur de pétale de *clitoria ternatea* en utilisant l'alginate comme membrane par la méthode d'extrusion dont le but d'améliorer la stabilité et évaluer l'activité biologique du polyphénol encapsulé. Dans la même année, Vlaia et al [139] ont encapsulé du polyphénol d'extrait de la propolis dans 2HP- $\beta$ -CD dont le but d'obtenir un matériau stable, efficace et facile à traiter. Alors que, en 2017 Diamanti et al [140] ont encapsulé l'extrait aqueux du fruit de grenade entier par la  $\beta$ -CD pour améliorer l'efficacité de l'extraction aqueuse de cette plante qu'est riche en composés phénoliques. À notre connaissance aucune étude n'a été réalisée sur l'encapsulation de l'huile et de polyphénol de graines de *M. azedarach* par le polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine.

## CHAPITRE V

### MATERIELS ET METHODES

#### 4.1. Introduction

La  $\beta$ -cyclodextrine native présente un spectre d'application étroite due à sa faible solubilité dans l'eau. De ce fait, la modification chimique de cette macromolécule, semble donner une extension prometteuse du point de vue pratique et appliqué. Dans ce contexte,  $\beta$ -cyclodextrine a été modifiée par l'épichlorohydrine pour ensuite l'utiliser comme molécule cage dans la protection de l'huile et des polyphénols de graines de *Melia. azedarach* contre les facteurs environnementaux externes, garder sa stabilité et conserver ses propriétés biologiques initiales.

Pour ce faire, cette partie présente des étapes ayant pour objectifs, à savoir :

- Extraction de l'huile et des polyphénols de graines de *M. azedarach* et leur caractérisation physico-chimique et par des techniques spectroscopiques (GC-MS, HPLC, FTIR et RMN<sup>1</sup>H).
- La modification chimique de la  $\beta$ -CD par l'épichlorohydrine dans un milieu alcalin (NaOH) et leur caractérisation par des méthodes spectroscopiques (FTIR, MEB et RMN<sup>1</sup>H).
- Encapsulation de l'huile et des polyphénols extraits des graines de *M. azedarach* dans le polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine et leur caractérisation par des méthodes spectroscopiques (UV-vis, FTIR, MEB et RMN<sup>1</sup>H).
- Evaluation de l'activité biologique de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* et de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés dans le système.

#### 4.2. Matériels utilisés

##### 4.2.1. Matériel végétal

Les fruits de *Melia. azedarach*. L ont été récoltés dans la région d'Ouled yaich wilaya de Blida. Ces fruits ont été nettoyés, immergés dans l'eau pendant 24 h afin de séparer la pulpe charnue des graines. Les graines obtenues ont été

séchés à l'air et à l'ombre. Ensuite, broyées. La poudre a été conservée à température ambiante à l'abri de la lumière.

#### 4.3. Produits chimiques

La  $\beta$ -cyclodextrine utilisé comme matière première pour la synthèse de polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP) a été fournie Sigma-Aldrich.

Les autres produits chimiques usuels sont mentionnés en appendice A.

A noter que ces produits n'ont subi aucune purification supplémentaire.

#### 4.4. Extraction et caractérisation de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach*

##### 4.4.1. Extraction et caractérisation de l'huile des graines de *M. azedarach*

###### A. Extraction des huiles des graines de *M. azedarach*

100 g de poudre de graines de *M. azedarach* sont introduits dans des cartouches, qui sont elles-mêmes placées dans un appareil à soxhlet de 500 mL. Les ballons utilisés sont des ballons de 1L, placés dans des chauffe-ballons adaptés et reliés à un système de réfrigération. Avant cela, 600 mL d'éther de pétrole (60-80°C) ont été ajoutés dans les ballons en tant que solvants en raison de leur point d'ébullition assez étroit, alors que le temps d'extraction total est de 8 h. Et finalement, l'éther de pétrole est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60 °C. Tandis que l'huile extraite est donc stockée dans un congélateur pour des analyses physico-chimiques ultérieures[4].

###### B. Détermination de la teneur en acides gras

Le principe de cette technique est basé sur la transformation des acides gras en dérivés d'esters d'acides gras ou esters méthyliques ou éthyliques. L'estérification est effectuée par le méthanol en présence d'un acide fort HCl. Les différentes étapes de cette technique peuvent être résumées comme suit : Dans un ballon de 250 mL, introduire 10 g de l'huile des graines de *M. azedarach*, en ajoutant 50 mL d'une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium (0,5 N) sous agitation pendant 1h. La solution a été refroidie et 100 mL d'eau ont été ajoutés. Après cela, la solution a été extraite soigneusement trois fois (3 fois) en utilisant d'abord 50 mL d'éther diéthylique et l'extrait a été lavé trois fois avec l'eau.

La solution a été acidifiée par l'addition d'acide chlorhydrique (6N) et extraite également trois fois (3 fois) avec 50 mL d'éther diéthylique. Les échantillons extraits d'acides gras libres ont été récupérés et séchés par  $\text{MgSO}_4$  anhydre et enfin, un mélange d'acides gras libres est obtenu par évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif[141].

#### C. Caractérisation de l'acide gras par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)

La composition en acides gras a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) (système informatisé Hewlett-Packard comprenant un chromatographe en phase gazeuse 6890 couplé à un spectromètre de masse 5973A) en utilisant une colonne capillaire en silice fondue avec Stabilwax. PEG (diamètre interne de 60 m x 0,25 mm x épaisseur de film de 0,25  $\mu\text{m}$ ). La température du four a été programmée à 120 °C pendant 2 min, puis élevée à 200 °C à 10 °C.  $\text{min}^{-1}$  et maintenue à cette température pendant 15 min, puis élevée à 240 °C pendant 2 min. Le gaz porteur était de l'hélium. Débit de 0,5  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Le mode d'ionisation utilisé était l'impact électronique à 70 eV[142].

#### 4.4.2. Extraction et caractérisation de polyphénol de graines de *M. azedarach*

##### A. Extraction de polyphénol de graines de *M. azedarach*

Les poudres de graines de *M. azedarach* issus de l'extraction sont soumises au même processus d'extraction que précédemment. Il consiste à extraire les lipides pour éliminer les composants hydrophobes et les pigments dans le but de simplifier l'extraction phénolique[3]. L'échantillon dégraissé a été séché. L'extraction a été réalisée avec le même processus d'extraction en utilisant cette fois-ci le méthanol au lieu de l'éther de pétrole.

## B. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

L'analyse qualitative des composés phénoliques des graines de *M. azedarach* a été réalisée par HPLC. L'appareil utilisé est un chromatographe en phase liquide Clarity YL Young Line YL9100, équipé d'une pompe quaternaire YL 9110, un dégazeur à vide de type YL 9101 avec 4 canaux, un détecteur UV-vis YL 9120 et un four YL 9131. La colonne utilisée est de type Agilent eclips XDB-C18 (150 mm × 4,6 mm × 5µm). La phase mobile utilisée est un mélange de méthanol et d'eau acidifiée à un débit de 1 mL.min<sup>-1</sup>. Le volume d'injection est de 20 µl.

### 4.5. Synthèse et caractérisation du polymère β-cyclodextrine-épichlorohydrine (β-CD-EP)

#### 4.5.1. Synthèse du polymère β-cyclodextrine-épichlorohydrine (β-CD-EP)

Le polymère β-cyclodextrine-épichlorohydrine (β-CD-EP) a été préparé selon le protocole proposé par (Renard et al)[143-145]. Le rapport molaire EP/β-CD est 14,43. 0,88 Mmol de β-CD a été ajoutée sous agitation à 5 mL de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (10 % (p/p)). L'agitation a été maintenue pendant 24 h à 25 °C moyennant un agitateur magnétique. 12,7 Mmol d'épichlorohydrine (EP) ont été ajoutés rapidement et le mélange a été agité à 60 °C pendant 4 h. La réaction de polymérisation a été arrêtée par ajout de 15 mL d'acétone. Après décantation de cette dernière, la solution obtenue a été maintenue dans l'étuve à 50 °C pendant une nuit. Après refroidissement, la solution a été neutralisée par addition de l'acide chlorhydrique HCl (6N). La solution a été mise dans l'étuve à 50 °C pendant 12 h. 25 mL d'acétone ont été ajoutés au résidu résultant conduisant à la formation d'un précipité blanc. La solution a été décantée et le produit blanc a été séché dans l'étuve à 50 °C pendant 24 h.

#### 4.5.2. Caractérisation de polymère β-cyclodextrine-épichlorohydrine (β-CD-EP)

La caractérisation de β-CD et de polymère β-CD-EP a été réalisée par des méthodes spectroscopiques telles que la spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR), la résonance magnétique nucléaire (RMN<sup>1</sup>H) et la microscopie électronique à balayage (MEB).

#### A. Spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR)

Les spectres FTIR de la  $\beta$ -CD et du polymère ( $\beta$ -CD-EP) ont été enregistrés dans un domaine de nombres d'ondes compris entre 400 et 4000  $\text{cm}^{-1}$ . L'appareil utilisé est un spectromètre BRUKER TENSOR II avec une résolution de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### B. Résonance magnétique nucléaire (RMN<sup>1</sup>H)

La caractérisation des échantillons de la  $\beta$ -CD et du polymère ( $\beta$ -CD-EP) par RMN<sup>1</sup>H a été effectuée avec un spectromètre Bruker Ascend™ (400MHz). Les échantillons ont été dissous dans une solution de DMSO à 30 °C.

#### C. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La morphologie de  $\beta$ -CD et du polymère ( $\beta$ -CD-EP) a été identifiée à l'aide d'un microscope électronique à balayage JEOL JSM-6360LV avec une tension d'accélération de 15 kV. Les images ont été enregistrées avec 100, 950 et 2000X fois de grossissement.

### 4.6. Encapsulation et caractérisation de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach*

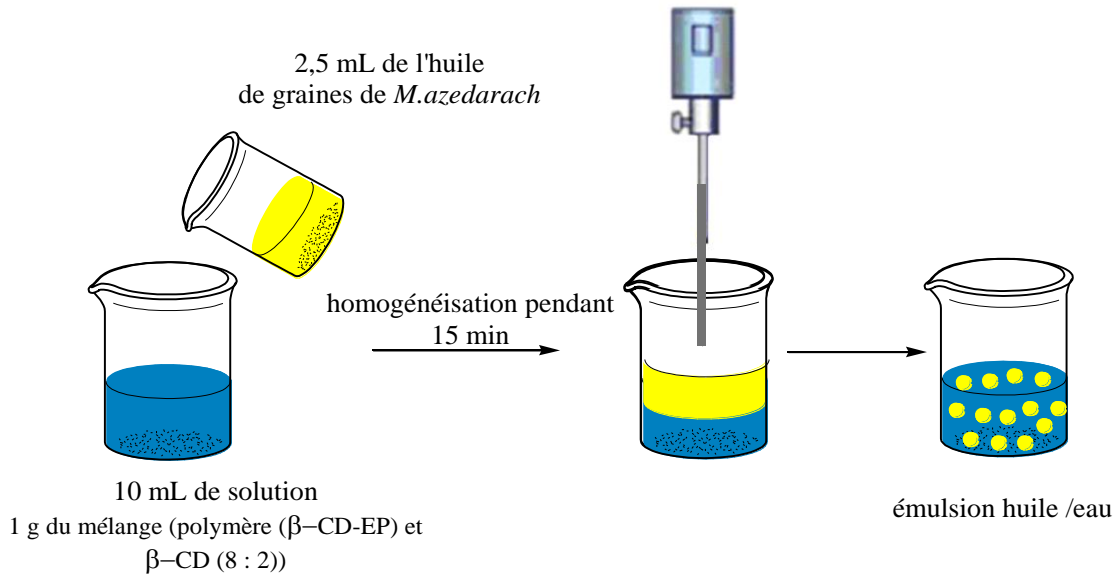
#### 4.6.1. Encapsulation de l'huile de graines de *M. azedarach*

L'encapsulation de l'huile des graines de *M. azedarach* a été réalisée en deux étapes (préparation de l'émulsion et lyophilisation).

##### 1<sup>er</sup>étape : Préparation d'émulsion

##### Mode opératoire

2,5 mL d'huile de graines de *M. azedarach* ont été ajoutés à 10 mL d'eau distillée qui contenait 1 g du mélange (polymère ( $\beta$ -CD-EP) et  $\beta$ -CD (8 : 2)). Puis les deux phases liquides ont été homogénéisées dans un mélangeur à fort cisaillement (Ultra-Turrax digital IKA-T25) pendant 15 min pour obtenir une émulsion simple (Figure 4.1)[79].



**Figure 4. 1 :** Présentation schématique de formulation d'une émulsion huile dans eau (H/E).

#### 2<sup>ème</sup> étape : Lyophilisation

Les émulsions obtenues sont ensuite lyophilisées pendant 24 h à l'aide d'un lyophilisateur (Figure 4. 2).

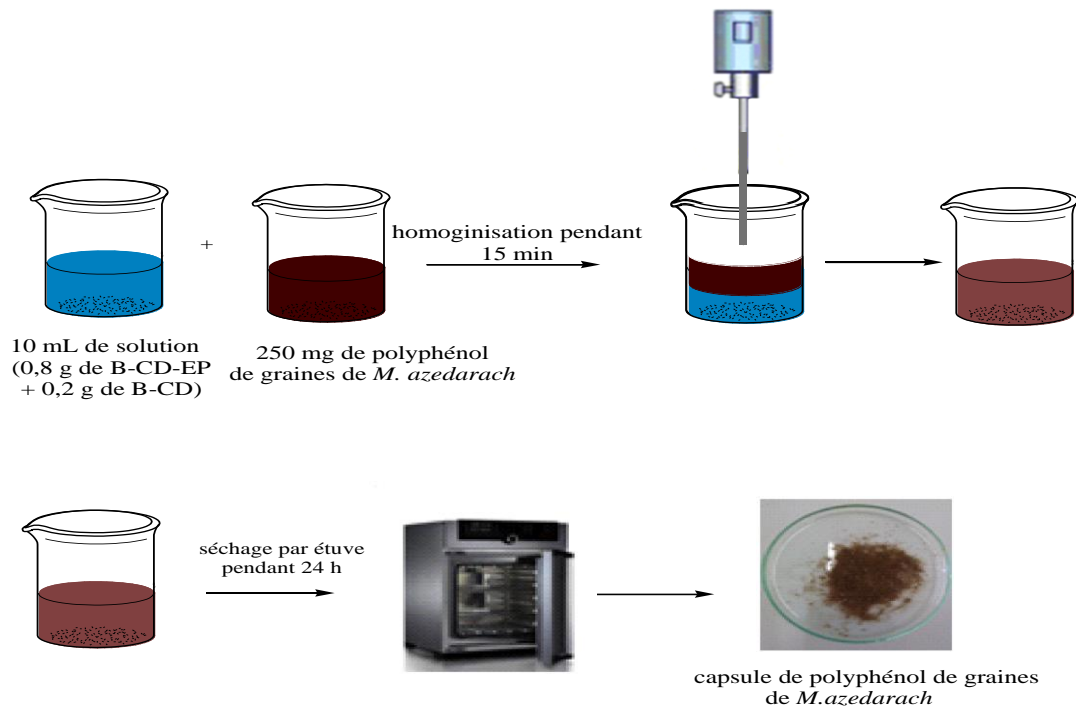


**Figure 4. 2 :** Présentation schématique d'encapsulation d'huile de graines de *M. azedarach*.

#### 4.6.2. Encapsulation des polyphénols des graines de *M. azedarach*

##### Mode opératoire

250 mg de polyphénol de graines de *M. azedarach* a été mis en suspension dans un 10 mL de la solution aqueuse contenant 1 g du mélange (polymère (β-CD-EP) et β-CD (8 : 2)). La suspension a été agitée dans un mélangeur à cisaillement élevé (Ultra-Turrax numérique IKA-T25) pendant 15 min (Figure 4. 3). Enfin elle a été séchée dans l'étuve pendant 24 h pour obtenir des capsules[146].



**Figure 4. 3 :** Présentation schématique d'encapsulation des polyphénols des graines de *M. azedarach*.

#### 4.6.3. Caractérisation de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulé

La caractérisation de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés a été réalisée par des méthodes spectroscopiques telles que la spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR), la résonance magnétique nucléaire (RMN<sup>1</sup>H), microscopie électronique à balayage (MEB), caractéristique rhéologique, microscopie optique, spectrophotomètre UV-vis, mesure de taille des particules et l'indice de polydispersité.

##### A. Caractéristique rhéologique

Le rhéomètre utilisé est « Anton Paar MCR 302 » muni d'un logiciel pour le traitement des résultats. Ce test permet de caractériser le comportement rhéologique de l'émulsion et de suspension. Le taux de cisaillement est de  $10^{-3}$  à  $10^3 \text{ s}^{-1}$ .



## B. Microscopie optique

La microscopie optique est une technique simple pour visualiser la taille des gouttes d'une émulsion et identifier le type simple ou multiple d'une émulsion. Le microscope utilisé est Axio équipé d'une caméra vidéo AxioCam MRc 5 Zeiss.

## C. Spectrophotomètre UV-vis

### C.1. Analyse UV-vis de l'huile des graines de *M. azedarach* et de l'huile des graines de *M. azedarach* encapsulée

Les spectres d'absorption UV-vis d'huile de graines de *M. azedarach* et d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulés ont été enregistrés dans la gamme de longueur d'ondes allant de 210 nm à 350 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-1800 de marque SHIMADZU.

#### Mode opératoire

0,5 g.mL<sup>-1</sup> de l'huile de graines de *M. azedarach* ont été dissoute dans l'heptane. 5 mg.mL<sup>-1</sup> d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulés ont été dissoutes aussi dans le même solvant, puis le mélange a été secoué par un secoueur pendant 10 min. Le surnageant obtenu a été séparé par une centrifugeuse 500 tr.min<sup>-1</sup> pendant 10 min puis dilué dans l'heptane [147, 148].

### C.2. Analyse UV-vis de polyphénol de graines de *M. azedarach* et de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulés

Les spectres d'absorption UV-vis des polyphénols des graines de *M. azedarach* sans et avec encapsulation ont été enregistrés dans la gamme de longueurs d'ondes de 255 nm à 500 nm.

#### Mode opératoire

0,2 mg.mL<sup>-1</sup> de polyphénol de graines de *M. azedarach* ont été dissoutes dans de DMSO. 1 mg.mL<sup>-1</sup> de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulé ont été dissoutes aussi dans le DMSO.

#### D. Mesure de taille des particules et l'indice de polydispersité d'huile et de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulé

La mesure de taille des particules et de l'indice de polydispersité (PDI) d'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulé a été effectuée par la technique de la diffusion de lumière statique (SZ-100, HORIBA Scientific).

##### Mode opératoire

35 mg de d'huile ou de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulé ont été dissous dans 5 mL d'eau distillée. La solution a été mesurée à T=25 °C avec un angle de diffusion 90 °C[149].

#### E. Etude du profil de libération contrôlée de l'huile et des polyphénols

L'étude de la libération d'huile ou de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulé a été effectuée en suivant la concentration par un spectrophotomètre UV-vis.

##### Mode opératoire

66,66 mg de capsules ont été dispersées dans 20 mL du milieu de dissolution acide 0,01 N HCl (pH 1,5) à 37 °C pendant 8 h pour la libération de l'huile et 6 h pour la libération de polyphénol [150]. L'homogénéisation a été assurée par un agitateur magnétique. À des intervalles de temps fixes. Des échantillons de 3 mL ont été prélevés, filtrés, puis analysés par UV-vis afin d'étudier la cinétique de libération.

## 4.7. Test biologique

### 4.7.1. Insectes

L'étude a porté sur deux Coléoptères : *Sitophilus Oryzae* (Linné) et *Rhyzopertha dominica* (Fabricius). Ces insectes ont été obtenus auprès de l'OAIC (Office Interprofessionnel Algérien des Céréales). Ils ont été conservés dans l'obscurité à une température comprise entre 24 et 28 °C avec une humidité relative de 70 %.

#### A. Description de deux principaux Coléoptères des denrées stockées

*Sitophilus oryzae* (Linné.) et *Rhyzopertha dominica* (Fabricius.) sont les principaux ravageurs des denrées stockées. Ces deux espèces appartiennent aux Coléoptères.

##### A.1. *Sitophilus oryzae* (S. oryzae)

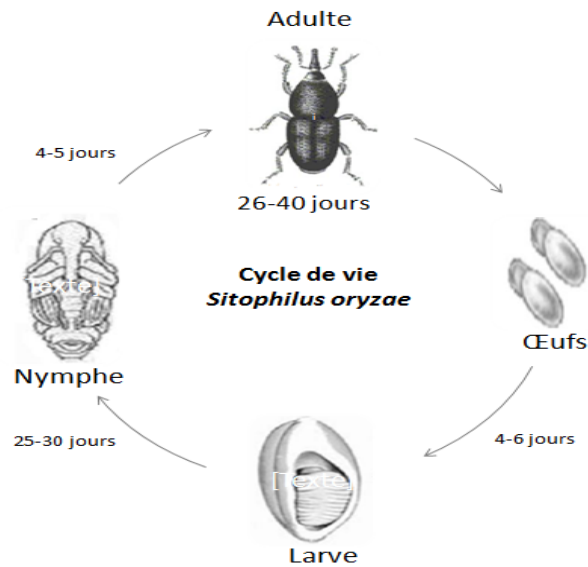
*Sitophilus oryzae* (S. oryzae) appelé aussi charançon du riz.

#### Classification

- Règne : Animalia
- Embranchement : Arthropoda
- Classe : Insecta
- Ordre : Coleoptera
- Famille : *Curculionidae*
- Genre : *Sitophilus*
- Espèce : *oryzae*



C'est une espèce appartenant à la famille des curculionidés. *S. oryzae* appelée charançon du riz (Figure 4. 4). C'est un petit Coléoptère appartenant au genre *Sitophilus*. L'adulte mesure 2,5 à 4,5 mm, de couleur brun à brun noirâtre avec quatre grosses tâches orangées sur les élytres qui sont ponctuées et striées. Il est muni d'ailes bien développées et peut de ce fait voler, donc de se disséminer dans les champs.



**Figure 4. 4 :** Cycle de vie de *Sitophilus oryzae* (*S. oryzae*).

La durée de développement varie en fonction de la température et de la teneur en eau. Les conditions optimales de développement pour *S. oryzae* sont une température de 30°C et 70 % d'humidité relative. Ils s'alimentent et se multiplient aux dépens de nombreuses céréales comme le blé, le riz, le maïs..., etc. Les dégâts de *S. oryzae* sont surtout causés par les larves. Durant leur vie, *S. oryzae* consomment la moitié ou le tiers de l'endosperme d'un grain de blé [151, 152].

#### A.2. *Rhyzopertha dominica* (Fabricius)

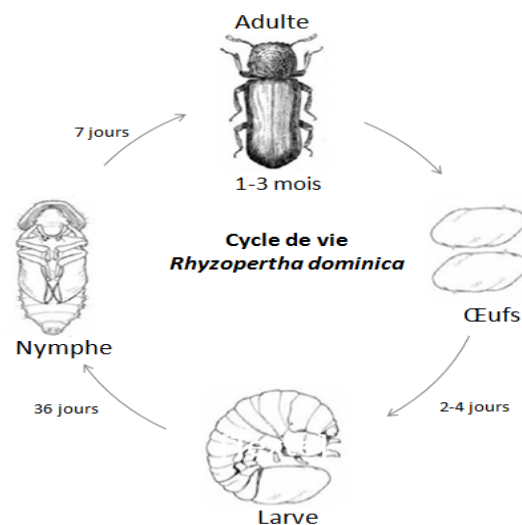
Le *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) appelé aussi capucin des grains.

#### Classification

- Règne : Animalia
- Embranchement : Arthropoda
- Classe : Insecta
- Ordre : Coleoptera
- Famille : *Bostrichidae*
- Genre : *Rhyzopertha*
- Espèce : *dominica*



*R. dominica* fréquemment appelé capucin des grains (Figure 4. 5) est un petit coléoptère appartenant à la famille des *Bostrichidae*. L'adulte mesure 2,2 à 3 mm, de couleur brun plus ou moins rougeâtre avec un prothorax qui couvre entièrement la tête. *Rhyzopertha dominica* est considéré comme le plus ennemi des grains. Ce sont les adultes qui causent le plus de dégâts. Ils attaquent directement les grains à l'aide de leurs mandibules et arrivent à les vider complètement de leur contenu. Les conditions optimales de développement pour *R. dominica* sont de 28 à 30 °C et 70 % d'humidité relative [151, 152].



**Figure 4. 5** : Cycle de vie de *Rhyzopertha dominica* (Fab.).

#### 4.7.2. Souches bactériennes

Toutes les souches testées ont été fournies par le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* et d'huile sans et avec encapsulation, cinq souches bactériennes et une souche fongique ont été testées : (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *enterobacter faecalis*, *Candida Albicans* et *Aspergillus niger*).

**Tableau 4. 1** : Description et pouvoir pathogène des souches testées.

<b>Groupe de germe</b>	<b>Espèces</b>	<b>Codes de références</b>	<b>Habitat préférentiel</b>	<b>Infections hospitalières les plus fréquentées</b>
<i>Bacille Gram-</i>	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	-Matières fécales -Aliments contaminés -Eaux usées	-Infections urinaires -Plaies -Septicémies -Infections respiratoires
	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	ATCC 27853	-Sol, eau, plantes -Voies respiratoire -Matières fécales -Réfrigérateurs -Appareils sanitaire	-Infections pulmonaires et urinaires -Brûlures -Plaies -Septicémies
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 4352	-Matières fécales -Aliments contaminés -Voies aériennes supérieures	-Infections pulmonaires et urinaires -Plaies -Septicémies

<i>Cocci Gram(+)</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	-Peaux, cheveux, -Nasopharynx -Périnée -Poussière, air -Aliments contaminées	-Infections cutanées -Plaies, brûlures, -Abscesses -Ostéites -Ostéomyélites -Endocardites -Septicémies -Infections pulmonaires, Intoxication alimentaire
	<i>Levures</i>	<i>Candida albicans</i>	ATCC 24433	-Tube digestif -Septicémies et infections viscérales -Candidoses superficielles

**Tableau 4. 2:** Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition[153].

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	Diamètre < 8mm
Sensible(+)	Diamètre compris entre 9-14 mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 -19 mm
Extrêmement sensible (+++)	Diamètre >20 mm

#### 4.7.3. Test insecticide de l'huile des graines de *M. azedarach* encapsulés

##### Mode opératoire

Le test d'activité insecticide a été effectué par contact direct sur deux espèces d'insectes ravageurs : le charançon du riz (*Sitophilus oryzae*) et le capucin du grain (*Rhizopertha dominica*). Des quantités appropriées de capsules d'huile de graines de *M. azedarach* (0,01, 0,03, 0,05, 0,1, 0,3 et 1 g) ont été déposées directement sur la surface des boîtes de pétri (5,0 cm de diamètre, 1,5 cm). Dans chaque boîte de pétri, dix insectes étaient enfermés à l'intérieur. Les essais ont été réalisés à température ambiante et humidité relative de 70 %. Le pourcentage de mortalité a été estimé par dénombrement des insectes morts pendant 24 h[154].

Le pourcentage de mortalité a été corrigé en utilisant la formule de Schneider-Orelli[155].

$$M_c(\%) = \left( \frac{M - M_t}{100 - M_t} \right) \times 100 \dots \dots \dots (3)$$

$M_c$  : Pourcentage de mortalité corrigé

$M$  : Mortalité dans la population traitée

$M_t$  : Mortalité dans la population témoin.

#### 4.7.4. Détermination de la teneur totale en composés phénoliques

##### A. La teneur totale en composés phénoliques de l'huile de graines de *M. azedarach* et d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé

##### Principe

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif « Folin-Ciocalteu ». Ce dernier est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) qui se réduit. La coloration produite, dont la réduction par l'action des polyphénols donne un mélange de complexes de sels de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) de couleur bleu. Cette solution absorbe à une longueur

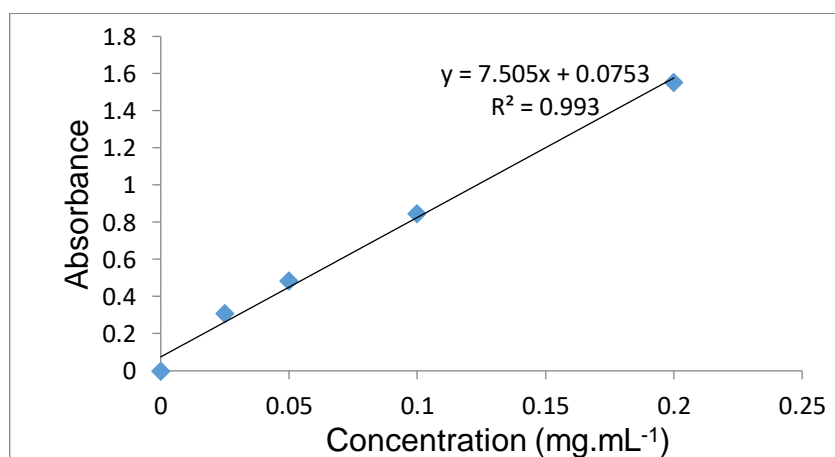


d'onde est au voisinage de 750 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux. La quantification des polyphénols totaux a été déduite à partir d'une courbe d'étalonnage, réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme étalon. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalents de l'acide gallique par gramme de matière végétale sèche en poudre (mg EAG.g<sup>-1</sup> d'extrait).

#### Mode opératoire

Les teneurs en composés phénoliques d'huile de graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulés ont été déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu [3]. 100 µL d'extrait (10 mg.mL<sup>-1</sup>) ont été ajoutés à 500 µL du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 5 min de repos, 400 µL de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7,5 % ont été ajoutés. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance des échantillons a été mesurée à 750 nm par UV-Vis. La teneur en composés phénoliques est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique. Les valeurs des teneurs en composés phénoliques ont été exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique / g d'extrait (mg de EAG. g<sup>-1</sup> d'extrait).

La gamme d'acide gallique est tracée pour des concentrations comprises entre 0 et 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> (Figure 4. 6).



**Figure 4. 6** : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

La teneur en composés phénoliques des échantillons analysés (huile de graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé) est calculée par la formule suivante :

$$TCP = C \times \frac{V}{m} \dots \dots \dots (4)$$

C : Concentration de l'extrait.

V : Volume de solvant utilisé pour l'extraction.

m : Masse en gramme de prise d'essai.

#### B. La teneur totale en composés phénoliques de polyphénol de graines de *M. azedarach* et de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulée

##### Mode opératoire

Le même protocole que précédemment a été adopté avec juste quelques modifications pour déterminer la teneur totale en composés phénoliques de polyphénol de graines de *M. azedarach* et de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulé [3]. 100 µL d'extrait (1 mg.mL<sup>-1</sup>) ont été ajoutés à 500 µL du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 5 min de repos, 400 µL de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7,5 % ont été ajoutés. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance des échantillons a été mesurée à 750 nm en utilisant la lumière UV-vis.

#### 4.7.5. Evaluation de l'activité antioxydante

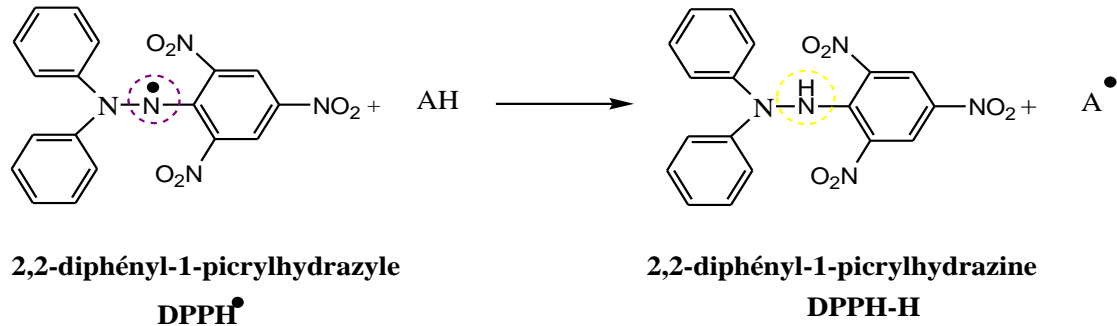
##### A. Tests d'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile de graines de *M. azedarach* et de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée

L'activité antioxydante de l'huile de graines de *M. azedarach* et d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée a été évaluée par la mesure du piégeage du radical DPPH.

##### Principe

Le 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH<sup>\*</sup>) est un radical libre stable et de couleur violette. Il possède une coloration violette et une absorption maximale à 515 nm dans le méthanol. Le 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH<sup>\*</sup>) est réduit en

2, 2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H) en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH). Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune (Figure 4. 7). La réduction du DPPH<sup>•</sup> est suivie par la mesure de la diminution de son absorbance à 515 nm [156].



**Figure 4. 7 :** Structure du DPPH et de sa forme réduite.

### Mode opératoire

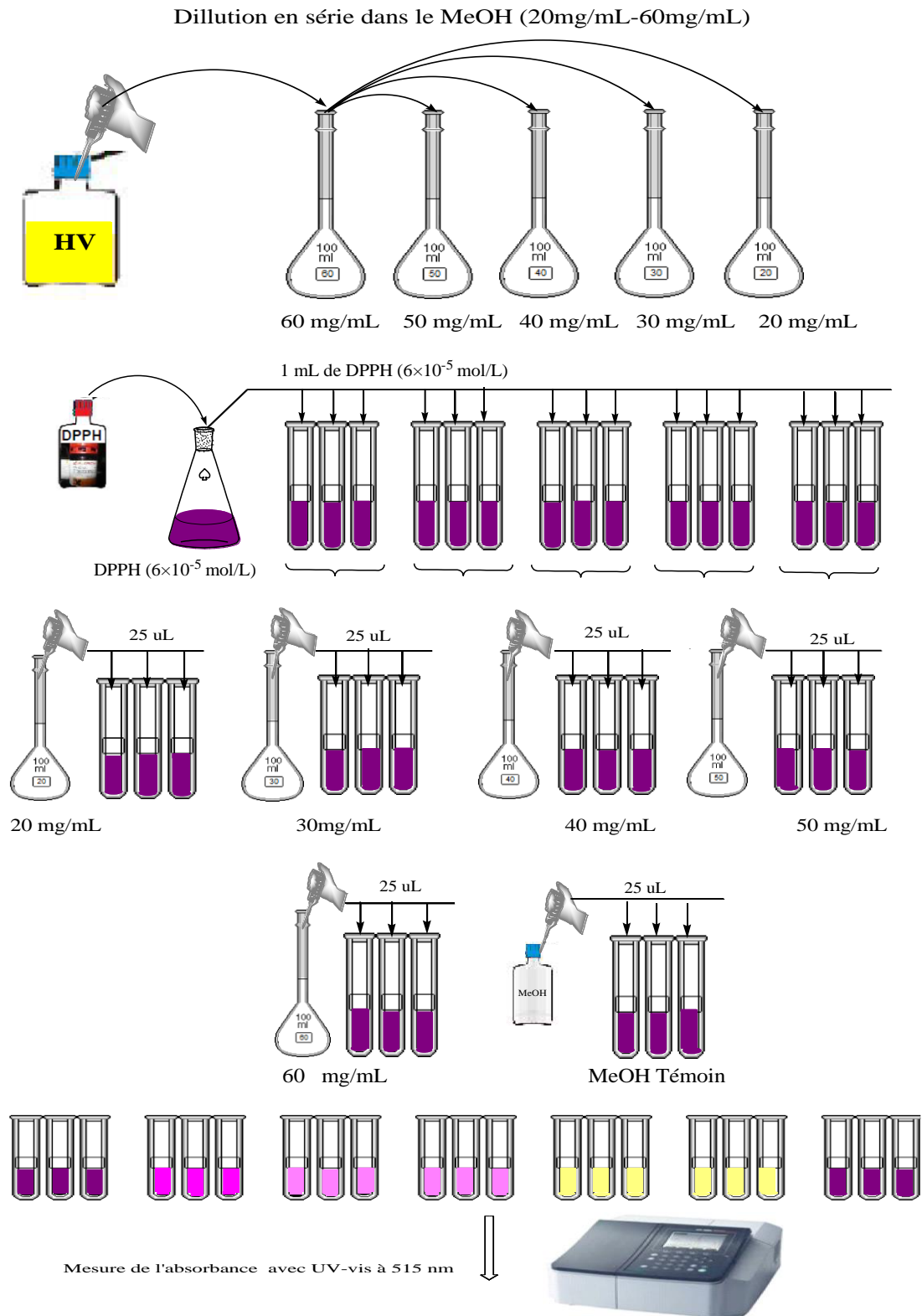
Pour évaluer l'activité antioxydante d'huile de graines de *M. azedarach* et huile de graines de *M. azedarach* encapsulée, la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH a été utilisée selon Chenni et al avec modification[157]. L'huile de graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé ont été diluées en série dans le méthanol pour obtenir différentes concentrations (20, 30, 40, 50 et 60 mg.mL<sup>-1</sup>). 25 µL de chaque solution ont été ajoutés à 1 mL de solution de DPPH (6×10<sup>-5</sup> mol.L<sup>-1</sup> dans le méthanol). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 20 min à température ambiante. Les diminutions de l'absorbance de DPPH ont été enregistrées dans un spectrophotomètre UV-Vis à 515 nm pendant 20 min. La capacité de chaque antioxydant a été comparée au standard hydroxyanisole butylé (BHA) en utilisant la même méthode pour différentes concentrations (1, 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50 et 60 mg.mL<sup>-1</sup>) (Figure 4. 8). Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$I(\%) = \frac{(A_0 - A_i)}{A_0} \dots\dots\dots(5)$$

I : Pourcentage d'inhibition des radicaux libres

A<sub>0</sub> : Absorbance de la solution DPPH sans antioxydant

$A_i$  : Absorbance de la solution DPPH après réaction avec l'huile de graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée.



**Figure 4. 8 :** Schéma représente le protocole de détermination de test antioxydant par DPPH.

## B. Tests d'évaluation de l'activité antioxydante de polyphénol de graines de *M. azedarach* et de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulée

### Mode opératoire

L'activité antioxydante des échantillons testés a été déterminée en utilisant le test de piégeage des radicaux DPPH selon la méthode décrite par Hajji et al avec quelques modifications [158]. Les polyphénols et les polyphénols encapsulés ont été dilués en série dans du méthanol pour obtenir différentes concentrations (0,2, 0,4, 0,6, 0,8 et 1 mg.mL<sup>-1</sup>). 25 µl de chaque solution ont été ajoutés à 1 mL de solution de DPPH (6×10<sup>-5</sup> mol.L<sup>-1</sup> dans le méthanol). Le mélange a été laissé à l'obscurité pendant 20 min à température ambiante. Les diminutions de l'absorbance de DPPH ont été enregistrées avec un spectrophotomètre UV-vis à 517 nm pendant 20 min. La capacité de chaque antioxydant a été comparée au standard hydroxyanisole butylé (BHA) en utilisant la même méthode pour différentes concentrations (0,2, 0,4, 0,6, 0,8 et 1 mg.mL<sup>-1</sup>).

### 4.7.6. Test d'activité antimicrobienne

#### A. Test d'activité antimicrobienne de l'huile de graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé

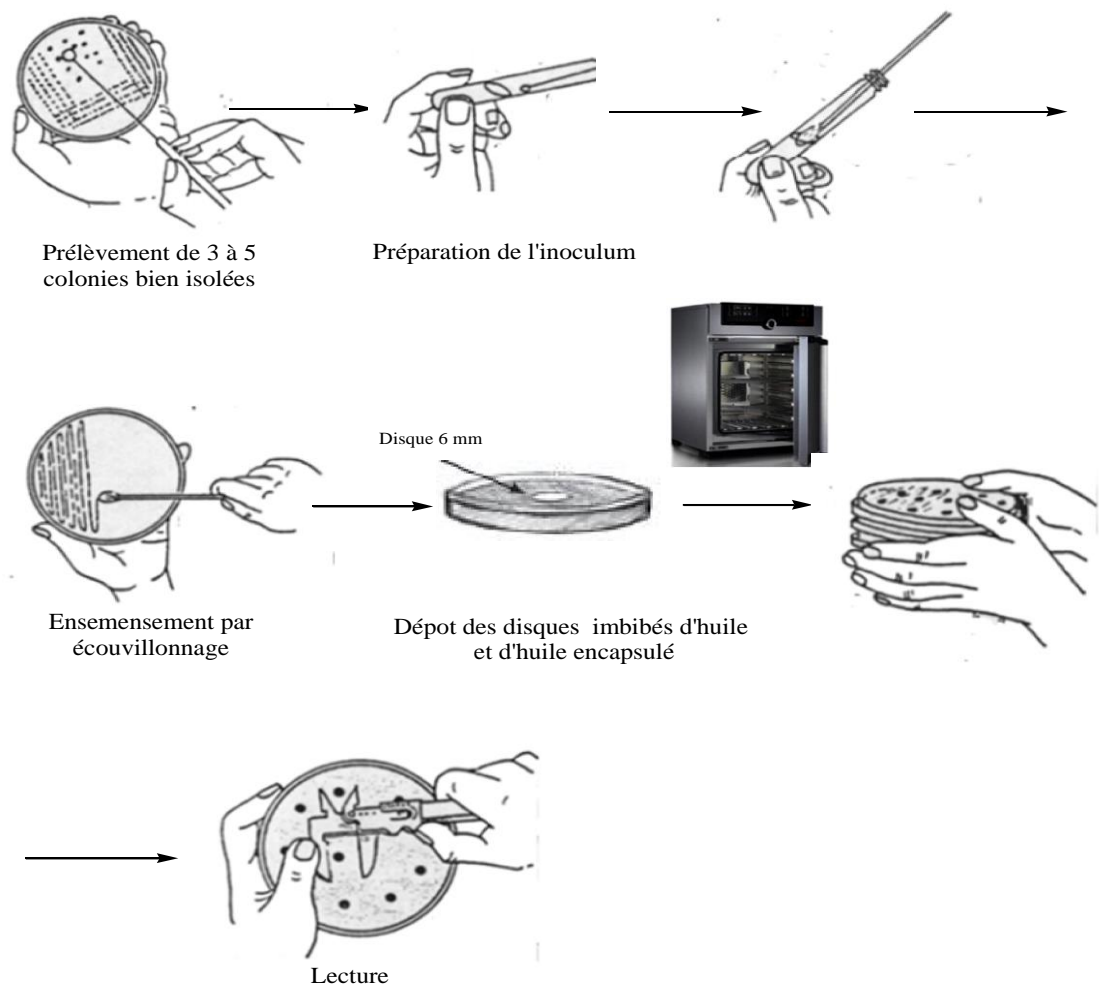
### Mode opératoire

L'évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile de graines de *M. azedarach* et d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée est réalisée par la méthode de diffusion sur disques pour tester la sensibilité des souches microbiennes.

La méthode d'aromatogramme a été utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile de graines de *M. azedarach* et d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé (Figure 4. 9).

La gélose de Mueller Hinton stérile est coulée dans des boîtes de pétri à raison de 20 mL par boîte. Ensuite ces dernières ont été laissées pendant 30 min avant de les ensemercer pour se refroidir. Environ 1 mL de l'inoculum bactérien, ajusté à 0,5 Mc Farland et d'une concentration de 10<sup>7</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, est frotté sur la totalité de la surface de Mueller Hinton. À l'aide d'une pince stérile, les disques de 6 mm qui sont déjà stérilisés dans l'autoclave à T= 120 °C imprégnés d'une quantité de 5, 10, 20 et 40 mg.mL<sup>-1</sup> d'huile de graines de *M. azedarach* et d'huile

de graines de *M. azedarach* encapsulée préalablement dissouts dans le DMSO ont été déposés sur la surface des boîtes de pétri ensemencées par les souches à tester. Les boîtes sont mises à l'étuve à une température de 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et 48 h pour les levures. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque en mm.



**Figure 4. 9 :** Schéma représentatif du protocole de l'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode des disques.

**B. Test d'activité antimicrobienne de polyphénol de graines de *M. azedarach* et de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulée**

Nous avons suivi le même protocole que précédemment pour évaluer l'activité antimicrobienne de polyphénol de graines de *M. azedarach* et de

polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulé. La méthode utilisée est la même que celle décrite précédemment.

#### 4.8. Etude statistique

Les résultats obtenus lors de l'évaluation du test insecticide à l'aide de la technique ANOVA. Ceux de l'évaluation de la teneur en composés phénoliques et de test d'évaluation de l'activité antioxydante ont fait l'objet d'une analyse statistique à l'aide de logiciel ORIGIN.

## CHAPITRE VI

### RESULTAT ET DISCUSSION

Dans ce chapitre sont présentés les principaux résultats auxquels cette étude a pu aboutir avec une discussion. Ces résultats ont été structurés dans un ordre suivant les étapes expérimentales, il s'agit de :

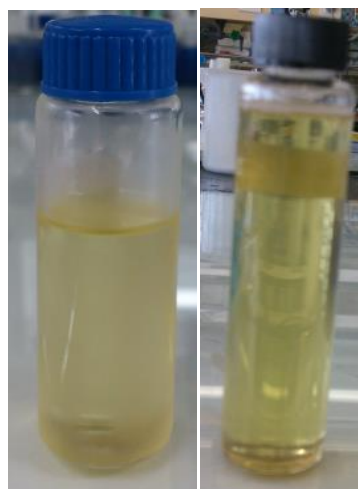
- ✓ Extraction des huiles et des polyphénols des graines et leur caractérisation par des méthodes physico-chimiques et spectroscopiques.
- ✓ Réactions de modification de la cyclodextrine et caractérisation du nouveau polymère obtenu.
- ✓ Encapsulation des huiles et polyphénols dans la matrice polymérique.
- ✓ Evaluation des activités biologiques des systèmes obtenus (antimicrobienne, insecticide et antioxydante).

#### 5.1. Extraction de l'huile et des polyphénols de graines de *M. azedarach* et caractérisations

##### 5.1.1. Caractérisation d'huile de graines de *M. azedarach*

###### A. Rendement d'huile de graines de *M. azedarach*

Le rendement de matière grasse de graines de *M. azedarach* est 35,2 %. Il est assimilable à celui trouvé par Bachheti et al[6]. Huile de graines de *M. azedarach* est un liquide jaune très fort avec une odeur d'ail et un goût extrêmement amer (Figure 5.1).



**Figure 5.1 :** L'huile de graines de *M. azedarach*.



## B. Caractérisation physico-chimique d'huile des graines de *M. azedarach*

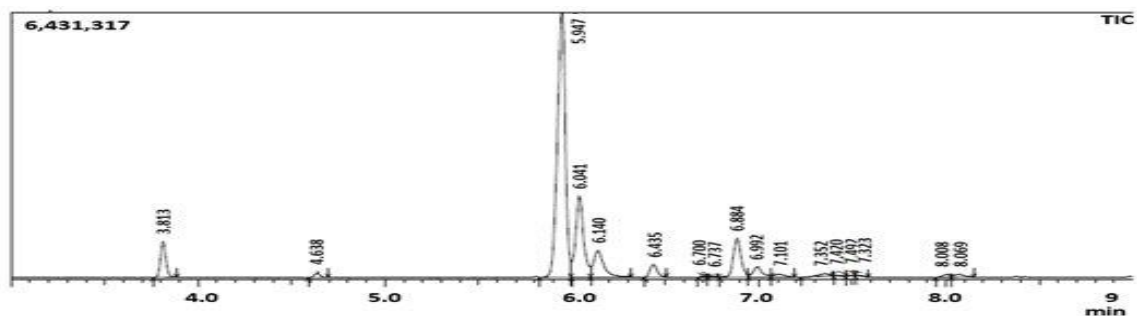
Caractéristiques physico-chimique et organoleptiques de l'huile de graines de *M. azedarach* sont légèrement différentes comparativement à celles de l'huile de graines de *M. azedarach* d'origines marocaines[159]. Les techniques d'extraction et le mode de conservation peuvent avoir des influences sur les caractéristiques physico-chimiques de cette l'huile végétale. Les résultats obtenus par des analyses physico-chimiques effectuées sur l'huile de graines de *M. azedarach* sont présentées dans le tableau 5. 1.

**Tableau 5. 1** : Quelques caractéristiques physico-chimiques de l'huile de graines de *M. azedarach*.

	Huile de graines de <i>M. azedarach</i>	Huile de graines de <i>M. azedarach</i> d'origine marocaine
Indice de réfraction à 20°C	1,474	1,47242
Indice d'acide (mg.g <sup>-1</sup> )	7,293	4,5
Indice de saponification (mg.g <sup>-1</sup> )	188,008	259,4

## C. Détermination de la composition en acides gras

L'huile de graines de *M. azedarach* appartient au groupe de l'acide linoléique-acide oléique. Les constituants dérivés des acides gras issus de l'extraction ont été identifiés par GC-MS. La Figure 5. 2 représente les résultats obtenus par l'analyse GC-MS.



**Figure 5. 2** : Chromatogramme d'analyse GC-MS de l'acide gras de l'huile de graines de *M. azedarach*.

Quatre composés ont été détectés et représentent 97,50 % des extraits totaux (Tableau 5. 2). Les principaux constituants identifiés sont résumés comme suit : linoléique (62,38 %), oléique (26,95 %) palmitique (5,8 %) et stéarique (2,37 %).

**Tableau 5. 2:** Composition en acides gras (%) de l'huile de graines de *M. azedarach*.

		[4]	[6]	[160]
<b>Acide gras</b>	<b>Teneur (%)</b>	<b>Teneur (%)</b>	<b>Teneur (%)</b>	<b>Teneur (%)</b>
Acide palmitique (C16 : 0)	05,80	06,7	05,68	18,80
Acide linoléique (C18 : 2)	62,38	69,2	74,57	16,10
Acide oléique (C18 : 1)	26,95	18,9	16,39	02,90
Acide stéarique (C18 : 0)	02,37	03,3	03,33	03,00

### 5.1.2. Caractérisation des polyphénols de graines de *M. azedarach*

#### A. Rendement de polyphénol de graines de *M. azedarach*

Le rendement d'extraction de polyphénol par la méthode de soxhlet en utilisant le méthanol comme solvant est de l'ordre de 6,13 %. En effet, le rendement d'extraction de polyphénol varie selon la méthode de solvant utilisé (Figure 5.3).

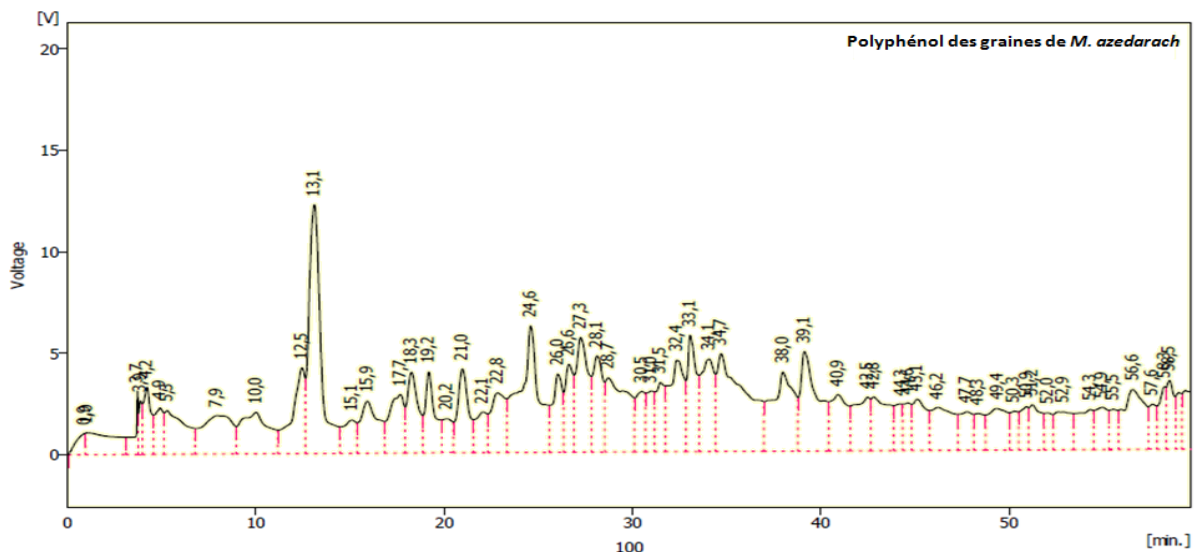


**Figure 5. 3:** Polyphénol de graines de *M. azedarach*.

## B. Quantification et identification des composés phénoliques par HPLC

Le résultat de l'analyse HPLC des polyphénols des graines de *M. azedarach* à permis l'identification de onze (11) composés phénoliques (tableau 5. 3). Elle a révélée la présence d'acide ascorbique, d'acide gallique, d'acide caféique, d'acide syringique, d'acide vanilline, d'acide férulique, d'acide salicylique, d'acide M-anisique, d'acide cinnamique, d'acide trans 2.4 dimetoxo cinamique, et d'acide oxalique. Selon Aoudia et al[2], onze (11) composés phénoliques ont été identifiés et sont les suivantes : l'acide nicotinique, acide malique, acide p-coumarique, acide vanillique, acide gallique, acide caféique, acide férulique, la protocatéchine, acide p-hydroxybenzoïque, acide chlorogénique et rutine. L'analyse HPLC a montré que les polyphénols des graines de *M. azedarach* sont riches en molécules connues pour leur activité antioxydante.

La Figure 5. 4 illustre le chromatogramme obtenu par l'analyse HPLC.



**Figure 5. 4 :** Chromatogramme des polyphénols des graines de *M. azedarach*.

Le Tableau 5. 3 ci-dessous résume les principaux composés phénoliques des graines de *M. azedarach*.

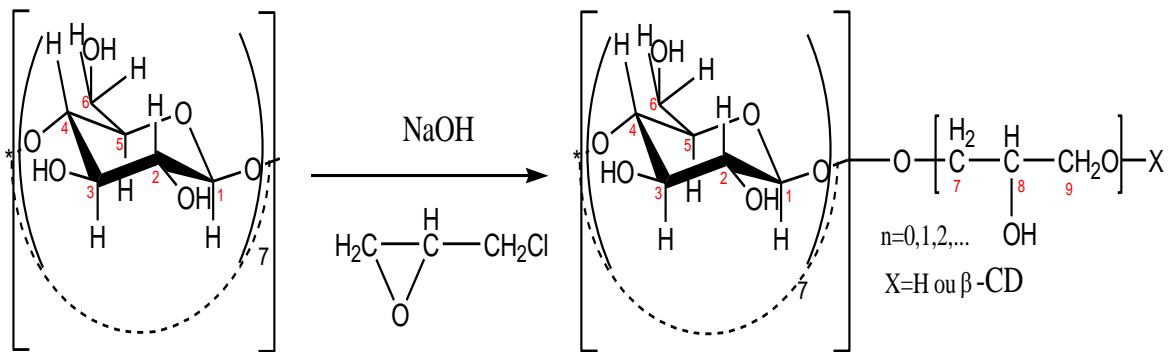
**Tableau 5. 3:** Les principaux composés phénoliques des graines de *M. azedarach*.

	Composés	t <sub>R</sub> (min) étalon	t <sub>R</sub> (min) polyphénol
1	Acide Ascorbique	3,4	3,720
2	Acide gallique	7,0	7,930
3	Acide caféique	20,5	20,970
4	Acide syringique	22,0	22,057
5	Acide vanillique	22,7	22,847
6	Acide férulique	26,6	26,627
7	Acide salicylique	30,7	30,507
8	Acide M-anisique	33,0	33,067
9	Acide cinnamique	37,0	37,990
10	Acide trans 2.4 dimétoxy cinamique	39,3	39,133
11	Acide oxalique	50,2	50,250

## 5.2. Synthèse et caractérisation du polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP)

### 5.2.1. Synthèse du polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP)

Le polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP) a été obtenu par polycondensation de la  $\beta$ -cyclodextrine et l'épichlorohydrine dans des conditions fortement alcalines (NaOH) (Figure 5.5). D'après Ncube et al[161] les rapports EP/ $\beta$ -CD compris entre 4 et 20 conduisent à des polymères solubles dans l'eau tandis que les rapports supérieurs à 20 donnent des polymères durs et insolubles dans l'eau.

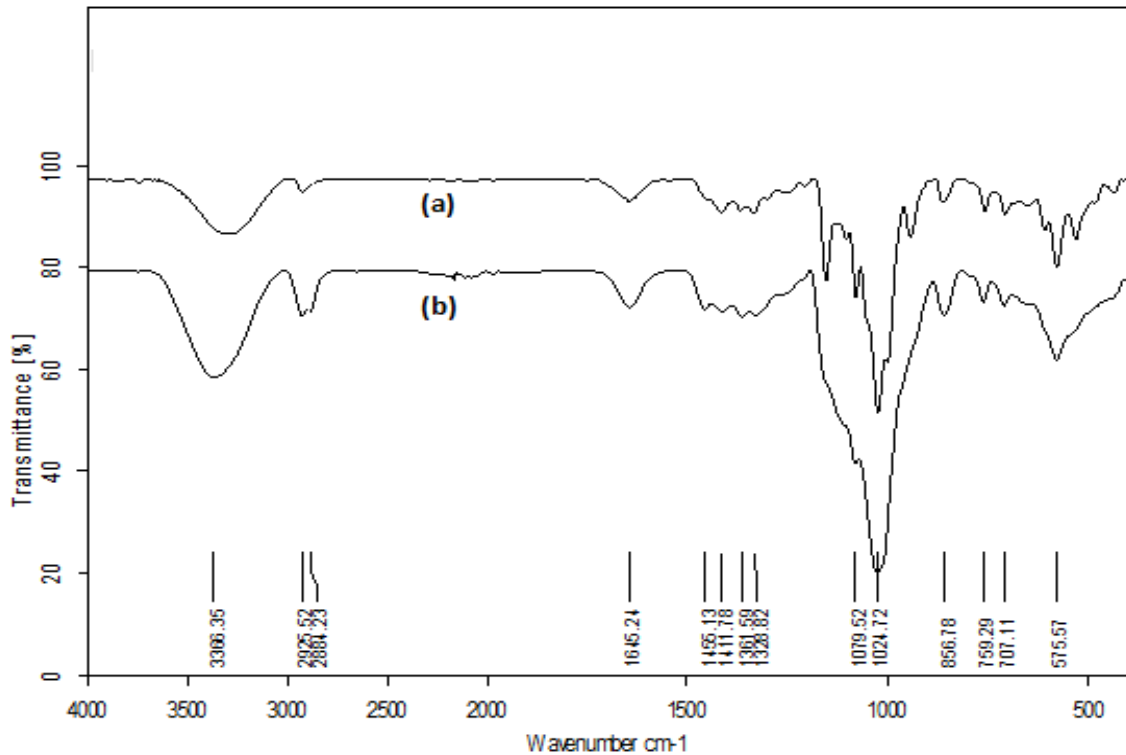


**Figure 5. 5 :** Réaction de polycondensation entre la  $\beta$ -CD et l'épichlorohydrine.

### 5.2.2. Caractérisation du polymère $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine ( $\beta$ -CD-EP)

#### A. Par spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR)

Le spectre FTIR de la  $\beta$ -CD représente une bande à  $3285,58 \text{ cm}^{-1}$  associée à la vibration d'élongation des groupes OH, une autre bande à  $2924,64 \text{ cm}^{-1}$  est celle de la vibration de l'élongation de C-H, tandis que les pics  $1077,26 \text{ cm}^{-1}$  sont les vibration d'élongation C-O[162, 163]. L'insertion de la molécule d'épichlorohydrine au sein du motif de glucose de la  $\beta$ -CD fournit la  $\beta$ -CD-EP modifiée, le spectre infrarouge de la  $\beta$ -CD est caractérisé par la présence d'une bande des OH à  $3366,35 \text{ cm}^{-1}$  pour les signaux de vibrations et des pics de déformations des liaisons C-O et C-O-C à  $1079,52 \text{ cm}^{-1}$ (Figure 5. 6. a). Ces bandes et pics ont été conservés dans le polymère  $\beta$ -CD-EP avec une augmentation des pics de vibrations des liaisons OH, C-H des groupes méthylènes et méthyles localisés respectivement à  $3366,35$  et  $2925,52\text{-}2884,23 \text{ cm}^{-1}$ . Il faut signaler que les pics sont plus étalés à  $3020 \text{ cm}^{-1}$  à cause de la liaison C-H du groupe méthylène (Figure 5. 6. b).



**Figure 5. 6 :** Spectre FTIR de  $\beta$ -CD (a) et du polymère  $\beta$ -CD-EP (b).

### B. Analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN<sup>1</sup>H)

La (Figure 5. 7. a) illustre le spectre RMN<sup>1</sup>H de la  $\beta$ -CD dans le DMSO, tous les protons actifs de la  $\beta$ -CD apparaissant dans le DMSO. Ainsi, les groupes hydroxyles attachés aux atomes de carbone 2, 3 à l'intérieur du cycle de  $\beta$ -CD ont été assignés respectivement à des pics à  $\delta$  5,695 ppm (1d, 1H, j = 5,6Hz) et  $\delta$  5,651 ppm (1d, 1H, j=5,6Hz), le groupe hydroxyle en C6 correspond au pic à  $\delta$  4,437 ppm (1t, 1H, j = 5,6Hz), et l'hydrogène en C<sub>1</sub> au pic à  $\delta$  4,826 ppm (1d, 1H, j = 3,2Hz). Les 2 hydrogènes du carbone 6 et l'hydrogène du carbone 3 sont localisés à 3,63 ppm. Cependant l'hydrogène du carbone 5 est visible à 3,56 ppm. Par contre l'hydrogène du carbone 4 et celui du carbone 2 sont situés à 3,17 ppm [164, 165]. L'addition de l'épichlorohydrine à la  $\beta$ -CD a conduit à l'insertion de cette dernière au sein de la structure de la  $\beta$ -CD (Figure 5.7.b). Ce produit est confirmé sur le spectre RMN<sup>1</sup>H où les hydroxyles ont diminué d'intensité et surtout l'hydroxyle du carbone 6 qui a totalement disparu indiquant ainsi sa substitution totale.

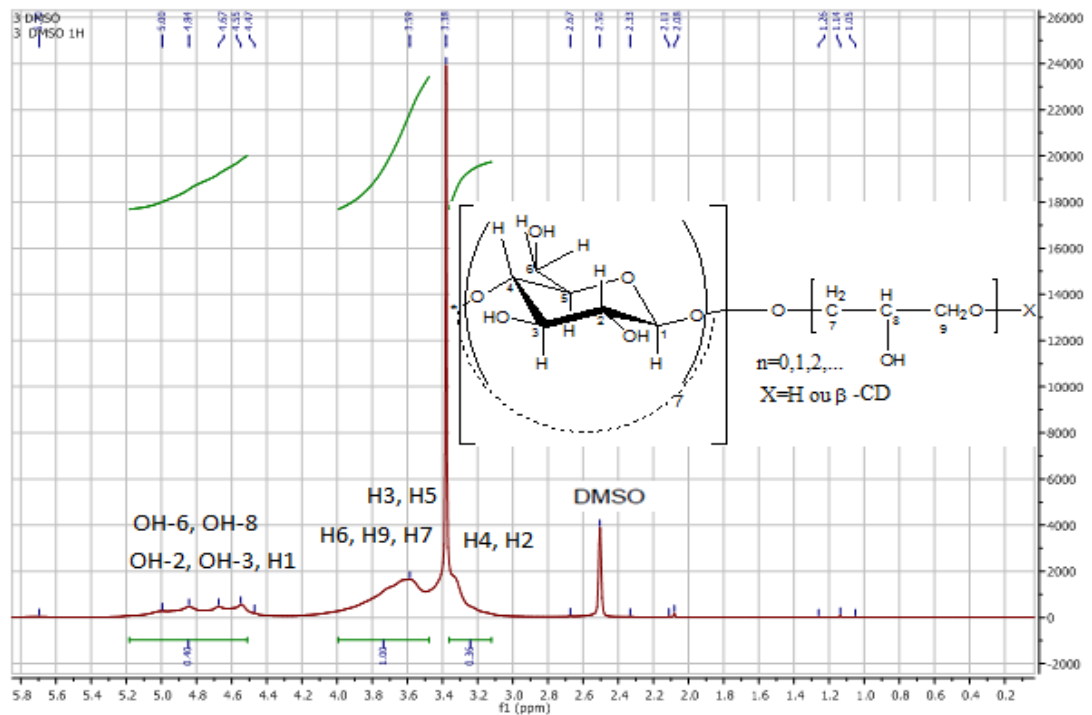
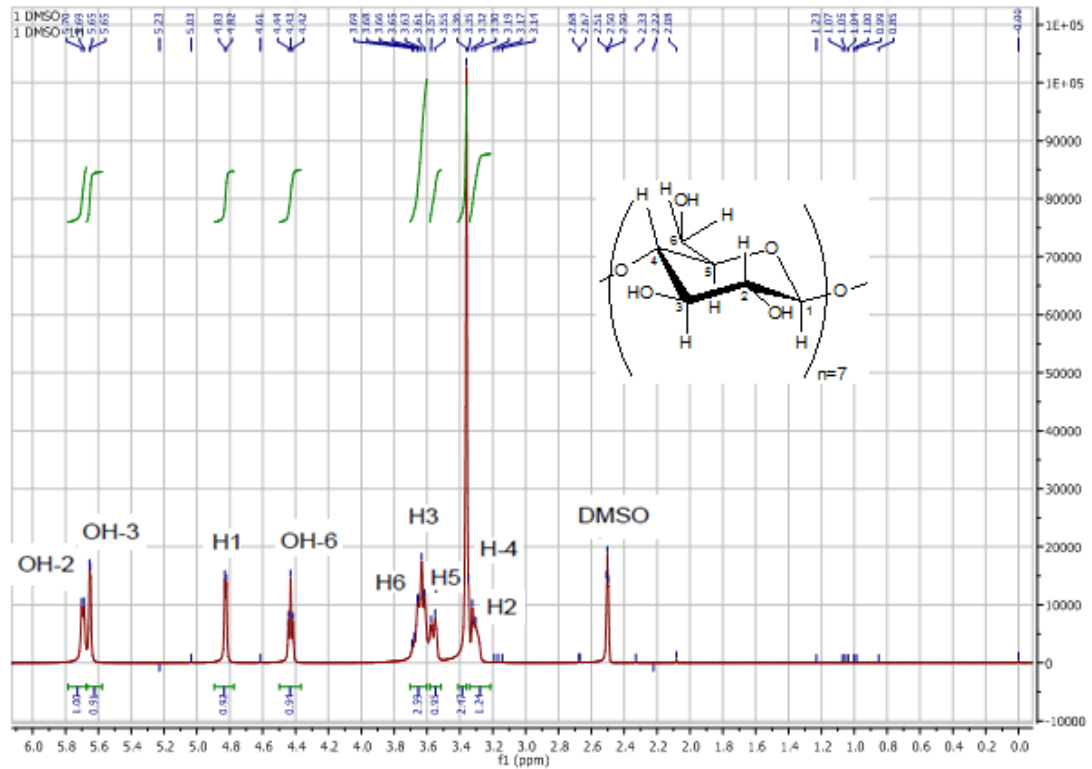
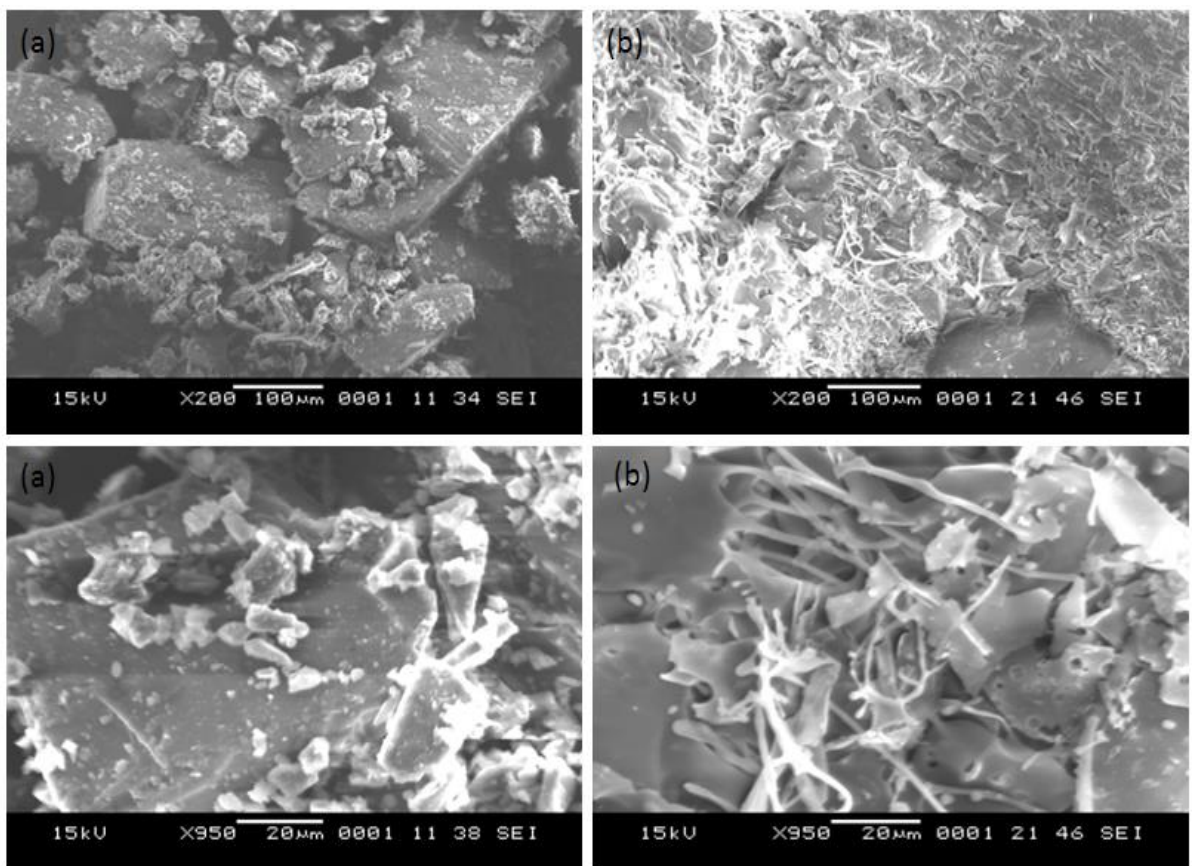


Figure 5. 7 : Spectres RMN<sup>1</sup>H de la  $\beta$ -CD et du polymère  $\beta$ -CD-EP dans le DMSO.

### C. Images par microscopie électronique à balayage (MEB)

La morphologie de surface de la  $\beta$ -CD et du polymère  $\beta$ -CD-EP a été identifiée par microscopie électronique à balayage (MEB). Comme illustré sur la (Figure 5. 8. a) la  $\beta$ -CD présente différents tailles des cristaux et de formes irrégulières [134, 166]. Le polymère  $\beta$ -CD-EP (Figure 5. 8.b) présente une structure différente de celle de la  $\beta$ -CD native, la micrographie de polymère  $\beta$ -CD-EP montre des particules séparées.



**Figure 5. 8 :** Images de la microscopie électronique à balayage de  $\beta$ -CD (a) et du polymère  $\beta$ -CD-EP (b).

### 5.3. Encapsulation de d'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach*

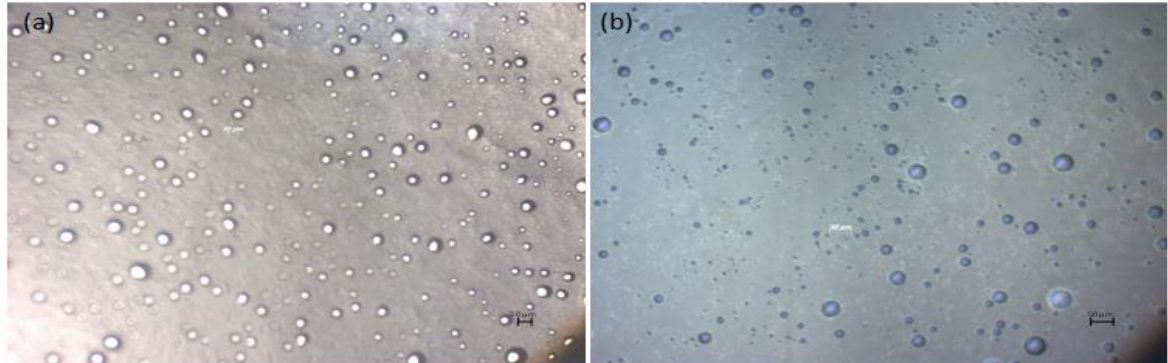
#### 5.3.1. Encapsulation de d'huile des graines de *M. azedarach*

##### A. Microscopie optique d'émulsion

Le microscope montre bien la présence d'une phase aqueuse et d'une phase discontinue huileuse composée des gouttelettes. Il nous a permis d'observer les



gouttelettes formées dans une émulsion. L'image, nous avons pu voir la distribution de la taille des gouttelettes des huiles des graines de *M. azedarach* dans la phase aqueuse (Figure 5. 9).

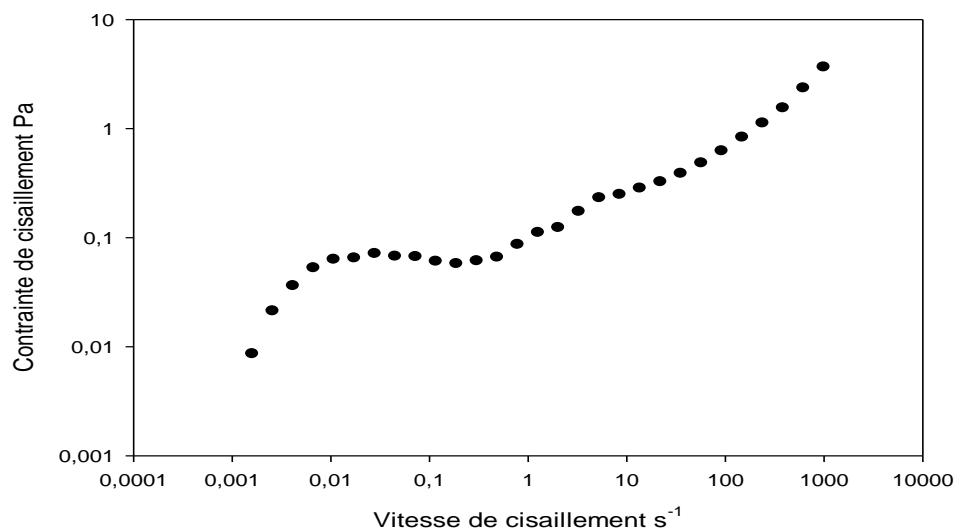


**Figure 5. 9 :** Observation au microscope optique d'une émulsion G : 5 X(a), G : 10X (b).

## B. Caractéristiques rhéologiques

### B.1.Courbe d'écoulement de l'émulsion

Sur le graphe ci-dessous, est illustrée la courbe représentant les variations de la contrainte en fonction de la vitesse de cisaillement à une échelle de double logarithmique.



**Figure 5. 10:** Courbe d'écoulement de l'émulsion, T= 25 °C.

Visiblement, la contrainte de cisaillement  $\tau$ , n'est pas proportionnelle à la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma}$ , ce qui permet de déduire que l'émulsion n'exhibe pas un comportement Newtonien. D'ailleurs, aux faibles valeurs de cisaillement,  $\tau$  semble chuter drastiquement avec le décroissement de  $\dot{\gamma}$ . Ceci présage l'absence de contrainte seuil. Aux forts cisaillements,  $\tau$  augmente, ce qui prouve qu'il n'y a pas eu de glissement du produit sur la paroi et donc pas d'artefact lors de la mesure. En résumé, nous pouvons conclure que l'émulsion se comporte comme un liquide visqueux, et cela, dans tout le domaine de cisaillement. Afin de mieux appréhender ce comportement, on se propose de représenter la courbe d'écoulement en termes de viscosité apparente,  $\eta_{app}$  en fonction de la contrainte de cisaillement (Figure 5. 11). Il apparaît clairement sur cette courbe d'écoulement deux comportements rhéologiques distincts.

Le premier est observé dans le domaine de la contrainte de cisaillement variant de 0,02 à 0,2 Pa.

- IL exhibe un comportement d'un liquide Newtonien, par la présence d'un palier (Région (1)). La viscosité, dans cette région, est constante et est de l'ordre de 8 Pa.s. Cette viscosité est assez élevée, 8000 fois supérieure à celle de l'eau. Ceci démontre que la structure d'émulsion au repos est assez cohésive mais pas pour générer un comportement d'un solide, vu l'absence de la contrainte seuil.
- A 0,05 Pa, la viscosité apparente semble chuter de manière drastique (Region (2)). Ceci laisse penser à une déstructuration qui a eu lieu et qui semblerait être sévère, au vu de la faible valeur du cisaillement déstructurant. Généralement ce sont des structures sous forme de floculats qui sont connues pour leur faible résistance aux cisaillements et donc subissent facilement une défloculation. La viscosité apparente atteint des valeurs de l'ordre de 0,1 Pa.s.
- Dans le domaine de contrainte de cisaillement compris entre 0,06 et 0,2 Pa (Région (3)), on peut constater que la viscosité s'est relativement stabilisée aux alentours de 0,06 Pa.s. Ceci correspond certainement à un deuxième palier, auquel cas l'émulsion se comporterait, encore une fois, sous une nouvelle structure défloculées, comme un liquide Newtonien. Dans cette

situation on se retrouverait avec des entités qui seraient complètement dispersées, par défloculation. Ces entités peuvent être une association entre des gouttelettes grasses avec l'agent adsorbant qui sembleraient être plus résistantes et cohésives.

Le deuxième comportement rhéologique de l'émulsion a eu lieu dans le domaine de contrainte de cisaillement compris entre 0,05 et 4 Pa. Dans cette région ce sont, en fait, ces entités, obtenues par défloculation des floculats qui y sont responsables.

- Initialement, se retrouveraient dispersées, (Région (3)) en générant un comportement Newtonien.
- A partir de 0,2 Pa jusqu'à 1 Pa, ces entités enregistrent, à leur tour, une déstructuration qui se manifeste par une nouvelle chute de la viscosité, (Région (4)) atteignant des valeurs de l'ordre de 0,005 Pa.s. On remarquera que cette viscosité est très faible (seulement 05 fois plus grande à celle de l'eau). Ceci présage une séparation ou une dispersion qui a eu lieu, au sein de l'entité, entre les gouttelettes grasses et les macromolécules de l'agent adsorbant. Dans cette situation, les globules gras se retrouveraient complètement séparés et peut-être même déformés.
- Cet état de fait est observé dans la région 5, où l'on observe une stabilisation de la viscosité à 0,003 Pa.s, dans le domaine de cisaillement variant de 1 à 4 Pa, traduisant ainsi un nouvel comportement Newtonien.

A noter que les deux courbes d'écoulement associées aux floculats et aux entités structurelles ont été modélisées par le modèle constitutif de Cross d'écriture :

$$\eta - \eta_{\infty} = \frac{\eta_{\infty} - \eta_0}{1 + (K \cdot \dot{\gamma})^n} \dots \dots \dots (6)$$

Où

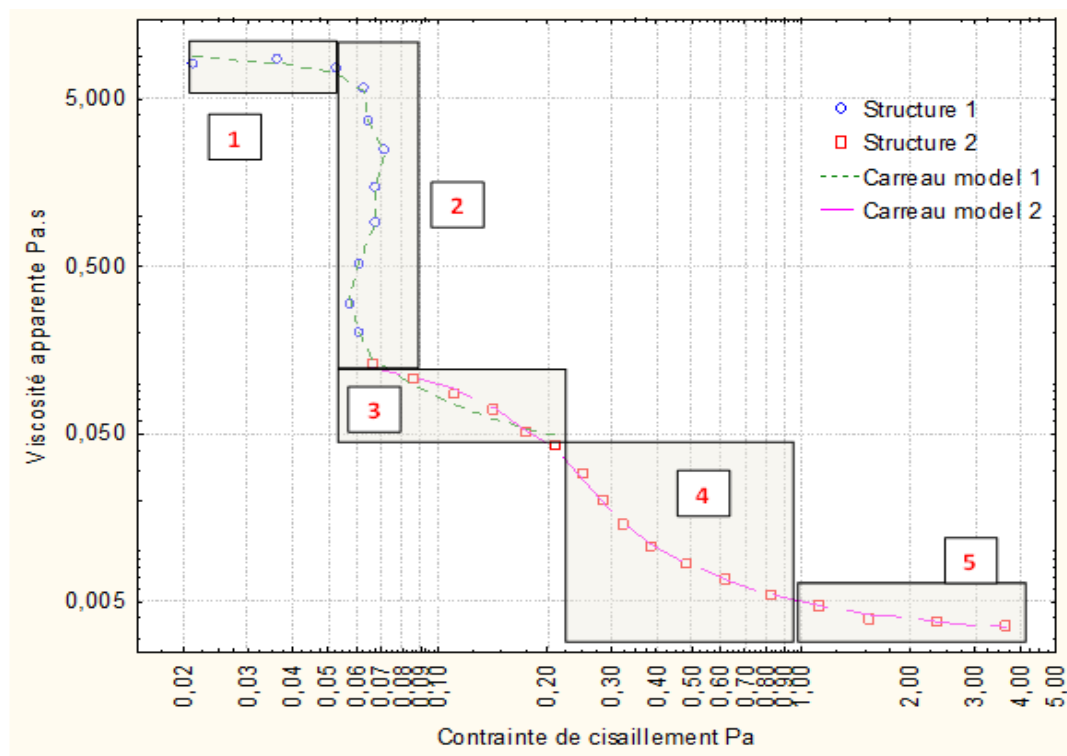
K est le temps caractéristique nécessaire pour obtenir un début de déstructuration et donc un comportement rhéofluidifiant de l'émulsion.

$\eta_0$  : La viscosité du palier Newtonien à faible taux de cisaillement

$\eta_{\infty}$  : La viscosité du deuxième plateau Newtonien à taux de cisaillement élevé,

$n$  : Indice de loi de puissance,

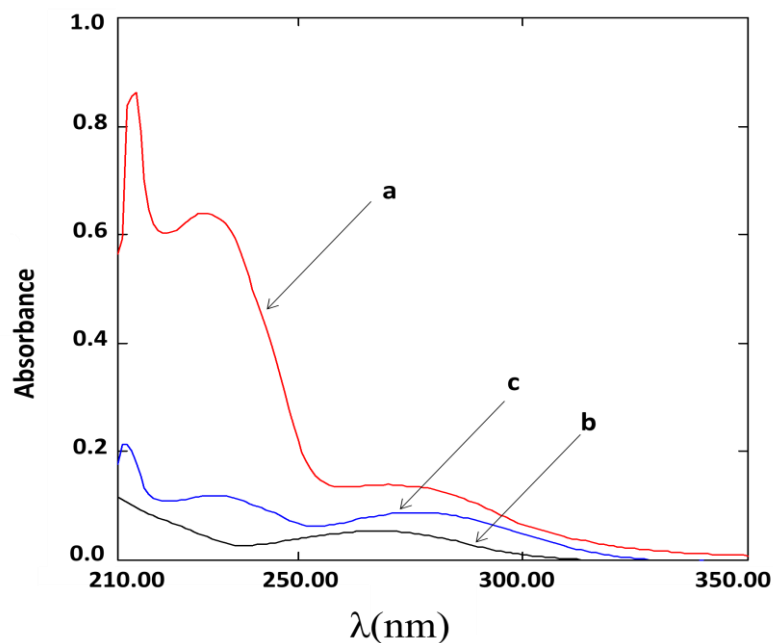
Les résultats ont été très satisfaisants, avec des valeurs du coefficient de détermination,  $R^2 > 0,98$ . Ceci peut faire l'objet également d'un argument d'appui pour justifier le comportement structural de l'émulsion. Dickinson et al. [167] ont identifié ce mécanisme de floculation par déplétion, dans le cas des émulsions stabilisées par des protéines douées d'une activité de surface. Hemar Y. et al. [168] ont également trouvé ce même phénomène de floculation par déplétion dans les cas des émulsions contenant du caséinate de sodium comme agent d'adsorption et du xanthane, comme viscosifiant. La floculation par déplétion, selon ces deux auteurs, est le résultat de la présence en excès des macromolécules de l'agent adsorbant qui va occuper la phase continue. Cet état de fait générerait une zone de déplétion (appauvrissement) au niveau des espaces étroits inter-globules gras qui, par effet de différence de pression osmotique, vont flocculer.



**Figure 5. 11:** Courbe d'écoulement exprimant la variation de la viscosité en fonction de la contrainte de cisaillement de l'émulsion, T = 25 °C.

### C. Analyse par spectrophotométrie UV-visible

La figure 5.12 présente les spectres d'adsorption de l'huile de graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée. Nous avons observé que l'huile de graines de *M. azedarach* absorbe principalement entre 200 et 325 nm. Le spectre UV-visible d'huile de graines de *M. azedarach* a montré des bandes à 213 nm et 230 nm, ces bandes représentent la transition électronique  $\pi \rightarrow \pi^*$  des liaisons (C = C). Une bande caractéristique du groupe cétone (C = O) à 282 nm correspond à la transition électronique  $n \rightarrow \pi^*$  (figure 5. 12. a). Le spectre d'huile des graines de *M. azedarach* encapsulée est compatible avec celui de l'huile des graines de *M. azedarach* (figure 5. 12. c). Ces résultats confirment que l'huile des graines de *M. azedarach* a été entièrement encapsulée dans le cœur du polymère  $\beta$ -CD-EP.

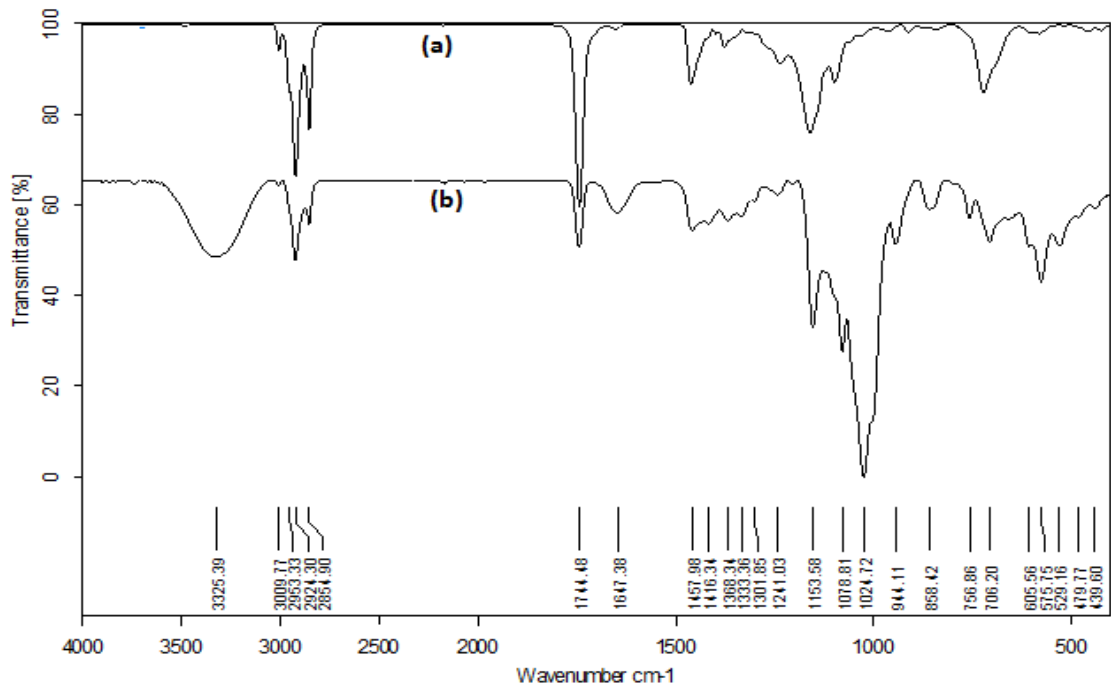


**Figure 5. 12 :** Spectres UV d'huile de graines de *M. azedarach* (a), polymère  $\beta$ -CD-EP (b) et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée (c).

### D. Par spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR)

Le spectre infrarouge de l'huile de graines de *M. azedarach* dans le polymère  $\beta$ -CD-EP (Figure 5. 13. b) est constitué des pics déjà identifié ultérieurement avec tous les pics caractéristiques de l'huile des graines de *M. azedarach* comme le pic localisé à  $3009,37 \text{ cm}^{-1}$  spécifique à la vibration de la liaison C–H de l'alcène et

spécialement le linoléate et l'oléate. Les pics de vibrations des liaisons C–H des groupes méthényles, méthylènes et méthyles en quantités plus importantes dans l'huile des graines de *M. azedarach* (Figure 5.13. a) sont plus visibles par contre le point le plus important et le plus caractéristique est le pic carbonyle C=O des fonctions esters plus présents dans l'huile de graines de *M. azedarach* et situé à  $1744\text{ cm}^{-1}$ .

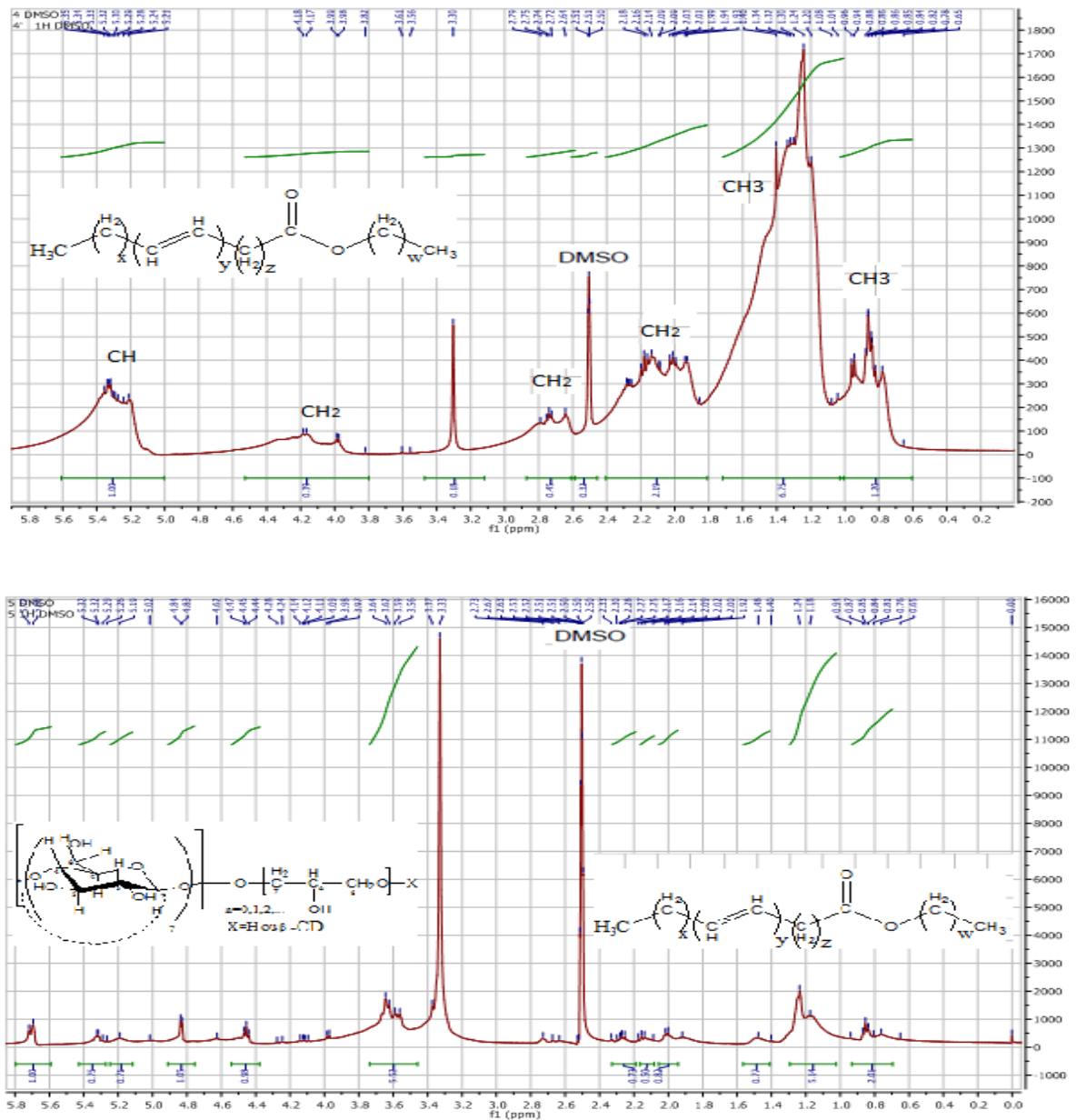


**Figure 5. 13 :** Spectre FTIR de l'huile de graines de *M. azedarach* (a) et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée (b).

### E. Résonance magnétique nucléaire (RMN<sup>1</sup>H)

Le spectre RMN<sup>1</sup>H de l'huile des graines de *M. azedarach* (figure 5. 14. a) dénote la présence des signaux spécifiques aux groupes CH relatifs aux insaturations des acides linoléiques et oléiques identifiés dans la composition de l'huile des graines de *M. azedarach*. Les groupes méthylènes CH<sub>2</sub> et méthyles sont naturellement présents au sein de la structure des composés de l'huile des graines des *M. azedarach*. Le spectre RMN<sup>1</sup>H de l'huile des graines de *M. azedarach* encapsulée (Figure 5. 14. b) montre deux régions totalement distinctes. Pour la région des faibles déplacements chimiques, on retrouve la structure de l'huile des graines de *M. azedarach* encapsulée dans le polymère β-CD-EP par

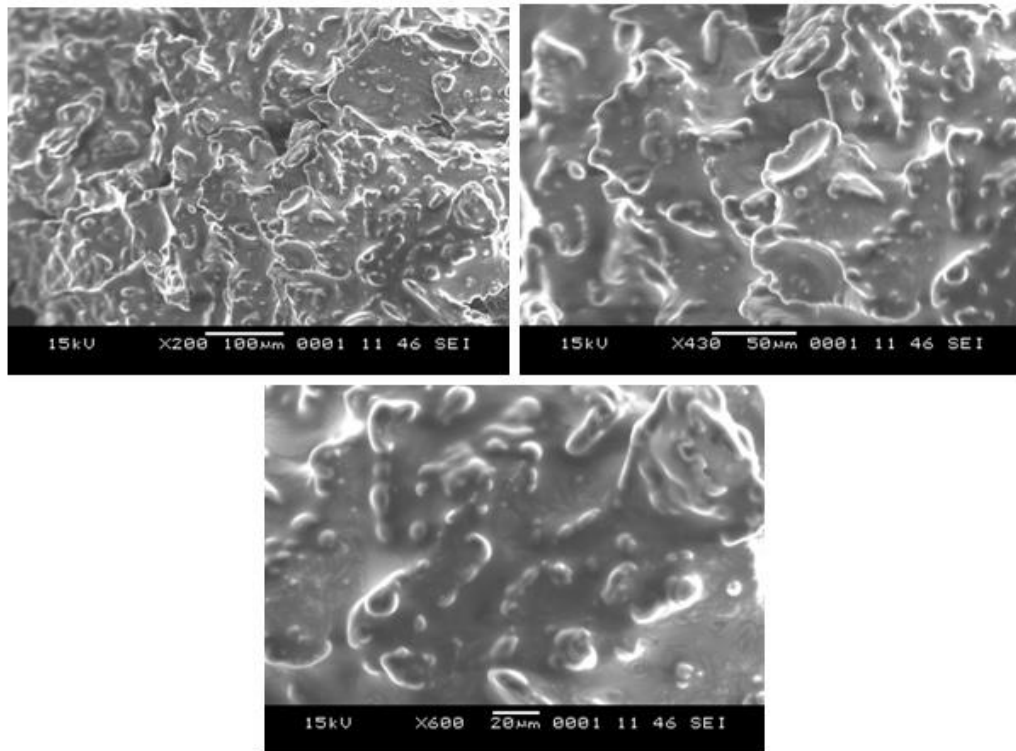
contre l'autre région permet de mettre en évidence la structure de la  $\beta$ -CD avec l'épichlorohydrine.



**Figure 5. 14:** Spectre RMN<sup>1</sup>H de l'huile de graines de *M. azedarach* et de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée dans le DMSO.

#### F. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La morphologie de surface de l'huile des graines de *M. azedarach* encapsulée a été évaluée par microscopie électronique à balayage (MEB). La (Figure 5.15) montre la morphologie des microcapsules chargées d'huile. Ces dernières semblent avoir une forme sphérique et agglomérée.

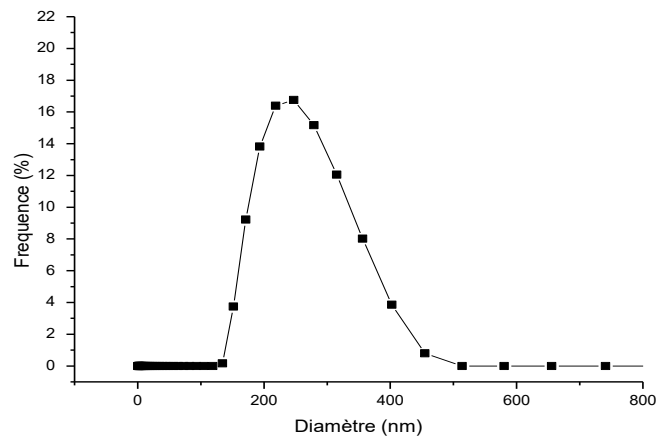


**Figure 5. 15 :** Image de la microscopie électronique à balayage d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée.

#### G.Mesure de la taille des particules et l'indice de polydispersité de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée

Dans la présente étude, l'indice de polydispersité (PDI) de l'huile des graines de *M. azedarach* encapsulée est de  $0,226 \pm 0,010$  et le diamètre de la particule (Z moyen) est de  $232,133 \pm 3,52$  nm. Les résultats obtenus sont proches de ceux rapportés dans les travaux précédents. La valeur d'indice de polydispersité de complexe d'inclusion de l'huile essentielle de clou de girofle et HP- $\beta$ -CD était de  $0,25 \pm 0,3$  et la taille des particules était de  $165,87 \pm 1,65$  nm par contre la valeur d'indice de polydispersité de complexe d'inclusion de l'eugénol- $\beta$ -CD et l'eugénol HP- $\beta$ -CD était de 0,27 et 0,44 et les tailles des particules ont été déterminées à 320 nm et 312 nm, respectivement[169]. Le résultat de cette mesure est présenté sur la figure 5.16.

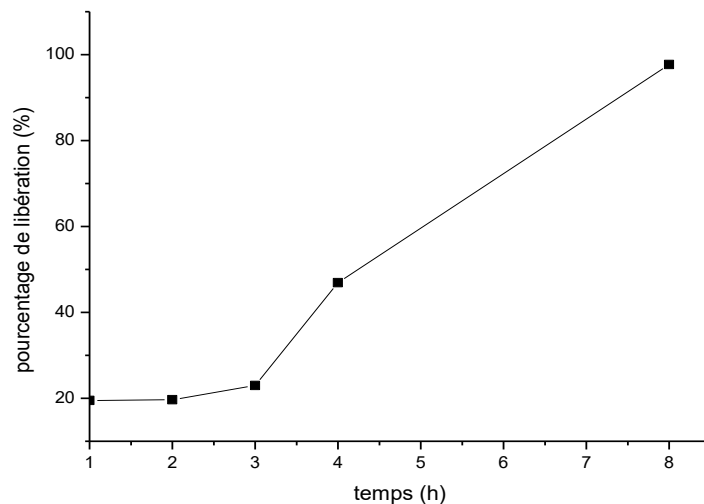




**Figure 5. 16:** Distribution de taille de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée.

#### H. Profil de libération contrôlée d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé

Le profil de libération de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée dans un milieu de dissolution acide 0,01 N HCl (pH 1,5) à 37 °C a montré que l'huile des graines de *M. azedarach* a été libérée à 19,49 % au bout de 1h. Après 2 h, la quantité de l'huile libérée a atteint 19,68 %. Elle a été libérée à 23 % au bout de 3h et en 4 h, la quantité de l'huile libérée est arrivée à environ 46,91 %. Après 8 h la libération maximale d'huile de graines de *M. azedarach* a été observée à 97,70 % (Figure 5.17).

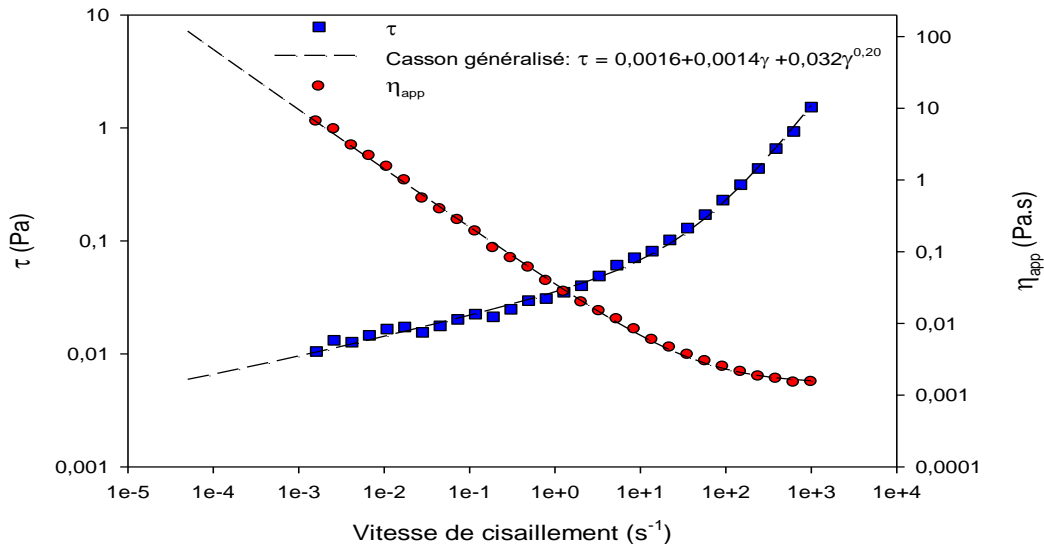


**Figure 5. 17:** Le profil de libération de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée dans un milieu de dissolution acide 0,01 N HCl (pH 1,5).

### 5.3.2. Encapsulation de polyphénol de graines de *M. azedarach*

#### A. Caractéristiques rhéologiques

##### A.1. Courbe d'écoulement de la suspension



**Figure 5.18 :** Courbes d'écoulement de la suspension en terme de contrainte de cisaillement (bleu) et de viscosité apparente (rouge) en fonction de la vitesse de cisaillement,  $T=25^{\circ}C$ .

Sur la figure 5.18 est illustrée la courbe d'écoulement de la suspension qui s'exprime par la variation de la contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement (courbe bleu) en double échelle logarithmique. Vu la non linéarité de la courbe, la suspension exhibe le comportement d'un fluide non Newtonien. A très faible cisaillement, la tendance de la contrainte est en baisse, ce qui nous oriente d'une hypothèse d'absence de la contrainte seuil. Ceci ne peut être intéressant pour la stabilité de la suspension. Afin de mieux évaluer le comportement de cette dispersion dans cette zone, à très faible cisaillement, on représente cette-fois ci la courbe d'écoulement en terme de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement. Il apparait clairement, que la viscosité, à très faible cisaillement, continue à augmenter ce qui laisse prédire le comportement d'un solide plastique. Pour quantifier les différents comportements de la suspension par rapport aux différentes échelles de cisaillement, à savoir,

faibles, moyennes et fortes valeurs, on se propose de modéliser cette tendance par le modèle de Casson généralisé, d'écriture :

$$\tau = \tau_0 + \eta_\infty \cdot \dot{\gamma} + K \cdot \dot{\gamma}^n \quad \text{Pour } \tau > \tau_0 \dots \dots \dots (7)$$

$$\dot{\gamma} = 0 \quad \text{Pour } \tau \leq \tau_0$$

$\tau_0$  est un paramètre, qui représente la contrainte seuil de la suspension, en deçà de laquelle le comportement est solide et donc la phase dispersée qui est en suspension ne subira par de mouvement, ni de flottation ni de sédimentation, par effet de différence de densité.

$\eta_\infty$  est un paramètre caractéristique de la viscosité de la suspension, lorsque celle-ci est sous cisaillement extrême. Les deux autres paramètres K et n sont appelés indice de consistance et indice de structure respectivement. Ces deux paramètres figurent dans l'expression du terme en puissance,  $K \cdot \dot{\gamma}^n$ , qui explique la zone rhéofluidifiante de la suspension au moyen cisaillement, auquel cas la viscosité apparente diminue avec l'accroissement du cisaillement.

L'ajustement de la loi de Casson généralisé a été très satisfaisant donnant, une valeur du coefficient de détermination,  $R^2$  très proche de 1. Les valeurs des quatre paramètres caractéristiques sont regroupées dans le tableau (5.4) ci-dessous.

**Tableau 5.4:** Les valeurs  $\tau_0$ ,  $\eta_\infty$ , K, n

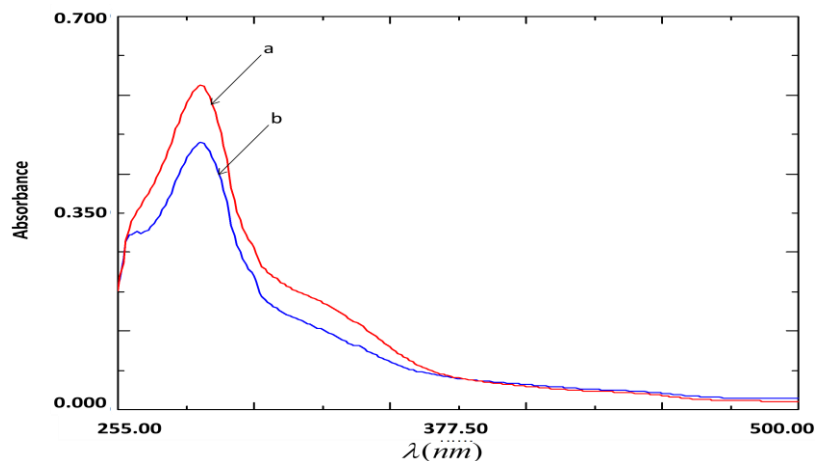
Paramètres	$\tau_0$	$\eta_\infty$	K	N	$R^2$
	Pa	Pa.s			
Valeurs	0,0014	0,0016	0,032	0,2	0,99

A la lumière de ces valeurs, on peut estimer que la contrainte seuil est très petite, résultat de la formation d'un réseau gélifié très lâche. Ce dernier est le résultat de la présence de l'association des deux substances : ( $\beta$ -CD-EP) et  $\beta$ -CD (8 : 2) qui probablement ont développé des interactions synergiques par pontage. La valeur de la viscosité infinie  $\eta_\infty$ , est très petite est presque du même ordre de grandeur que la viscosité de l'eau (0,001 Pa.s). Ceci montre que la taille des colloïdes, en suspension, est très faible. Une valeur de K de 0,032 illustre la faible consistance

de la suspension à moyen écoulement, par contre la faible valeur de  $n$  (0,2) montre que la structure formée par les éléments en suspension est relativement complexe, éloignant le comportement de la suspension, au moyen écoulement, du comportement Newtonien (inversement, si la valeur  $n$  tendait vers 1, alors le fluide aurait un comportement proche du Newtonien).

### B. Spectrométrie UV-visible

La figure 5.19 illustre les spectres d'adsorption des polyphénols des graines de *M. azedarach* et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulée. Le spectre UV-vis des polyphénols des graines de *M. azedarach* montre une absorbance à 285 nm (figure 5. 19. a). Le spectre de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulée est similaire avec celui des polyphénols de graines de *M. azedarach* (figure 5. 19. b). Ces résultats confirment que les polyphénols ont été encapsulés dans le polymère  $\beta$ -CD-EP.

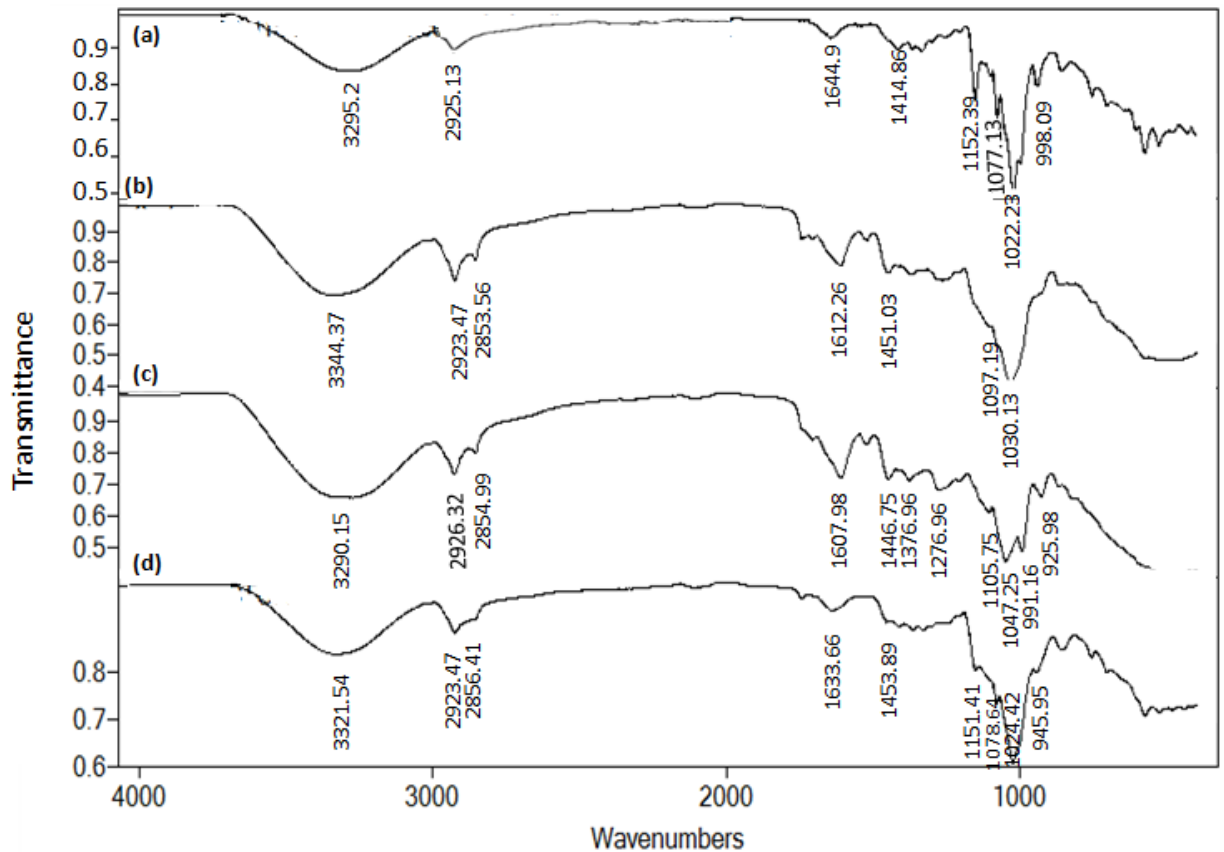


**Figure 5. 19:** Spectres UV-vis des polyphénols des graines de *M. azedarach* et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés.

### C. Spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR)

Le spectre des polyphénols des graines de *M. azedarach* (Figure 5. 20. a) présente une bande du groupement phénol à  $3271,61 \text{ cm}^{-1}$ . Les pics à  $2926,33$  et  $2854,99 \text{ cm}^{-1}$  proviennent de la vibration des liaisons C–H des groupes méthoxyles aromatiques et des groupes méthyle et méthylène de la chaîne latérale. Le pic  $1047,26 \text{ cm}^{-1}$  est indicatif pour la fonction alcoolique. Le spectre infrarouge des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés (Figure 5.

20. b) est constitué des pics déjà identifiés dans le spectre infrarouge du polymère  $\beta$ -CD-EP. Les pics de vibrations des liaisons C–H des groupes méthoxyles aromatiques et groupes méthényles, méthylènes et méthyles en quantités plus importantes dans les polyphénols sont plus visibles par contre le point le plus important et le plus caractéristique est le pic OH plus présent dans les polyphénols et situé à  $1078,65\text{cm}^{-1}$ .

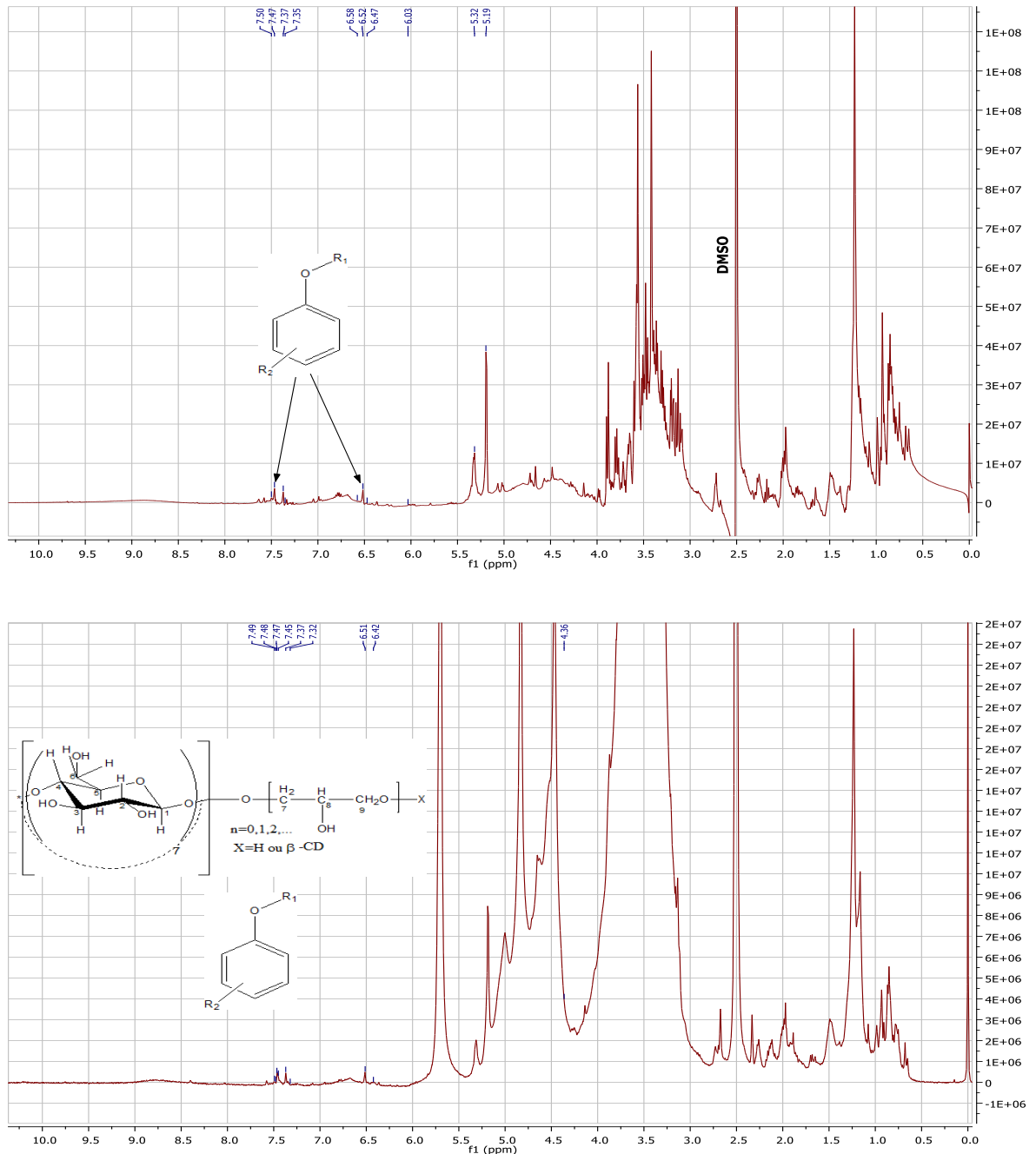


**Figure 5. 20 :** Spectre FTIR de  $\beta$ -CD (a), du polymère  $\beta$ -CD-EP (b), des polyphénols des graines de *M. azedarach* (c) et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés (d).

#### D. Résonance magnétique nucléaire (RMN<sup>1</sup>H)

Le spectre RMN<sup>1</sup>H des polyphénols des graines de *M. azedarach* (figure 5. 21. a) dans le DMSO est constitué de plusieurs types de protons comme les protons méthyles situés dans la région 0,8-1,46 ppm suivi des protons méthylènes dans la région 3,56-4,63 ppm et des protons méthynes aliphatiques entre 5,01-5,70 ppm. Mais le plus important dans ce spectre est la présence des protons aromatiques localisé dans la région 6,5-7,5 ppm caractéristiques de la structure

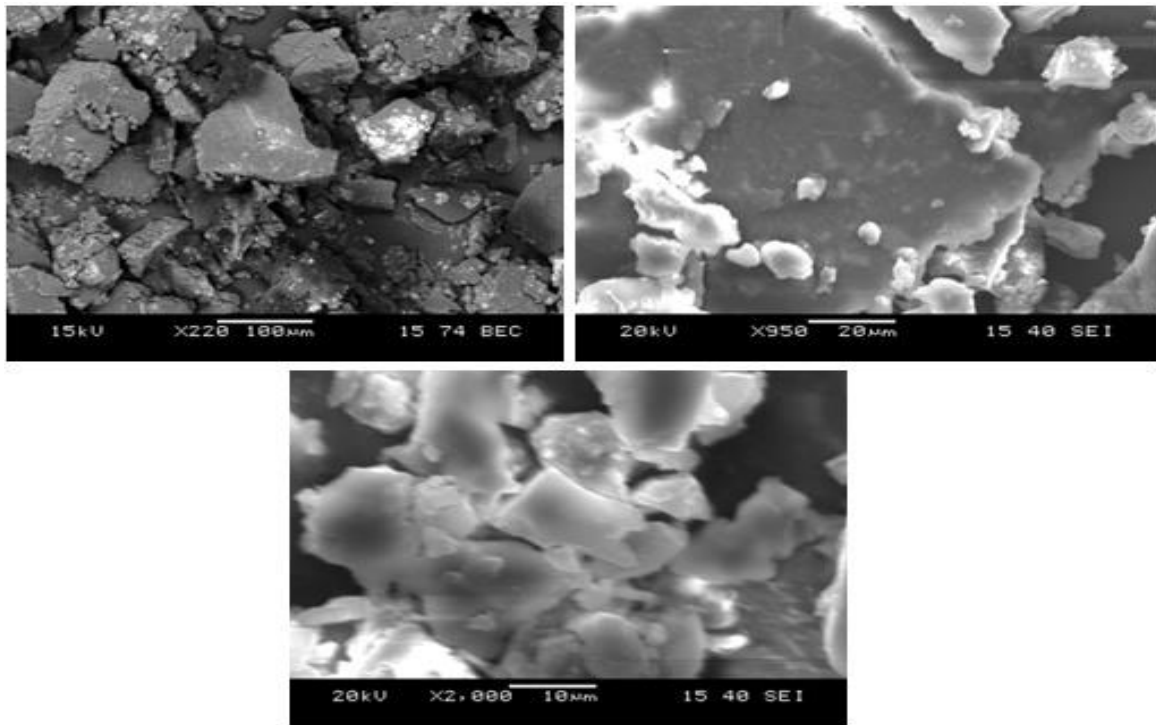
phénolique de ce mélange d'après l'analyse HPLC. Cependant le spectre RMN<sup>1</sup>H des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés (figure 5. 21. b) dans le polymère  $\beta$ -CD-EP est très riche en signaux, en plus que ceux de polymère  $\beta$ -CD-EP, l'encapsulation des polyphénols des graines de *M. azedarach* est identifiée surtout par les signaux des protons aromatiques localisés entre 6,31 et 7,93 ppm.



**Figure 5. 21:** Spectre RMN<sup>1</sup>H des polyphénols des graines de *M. azedarach* et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés dans le DMSO.

### E. Microscopie électronique à balayage (MEB)

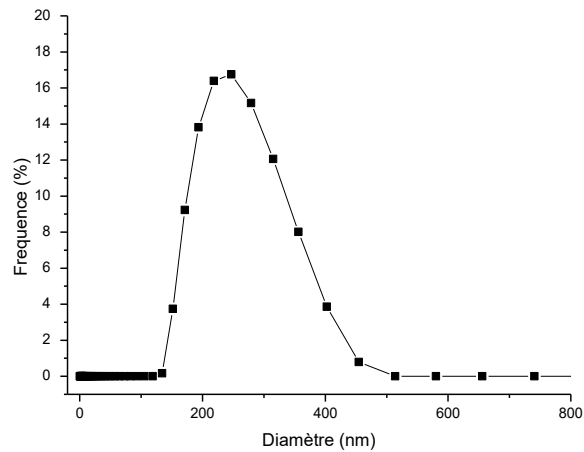
La morphologie de surface des polyphénols encapsulés a été identifiée par l'analyse des images obtenues par microscopie électronique à balayage (MEB). La figure 5. 22 représente l'image MEB des microparticules de polyphénols et montrent une forme irrégulière.



**Figure 5. 22:** Images au microscope électronique à balayage des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulé.

### F. Mesure de taille des particules et l'indice de polydispersité des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulé

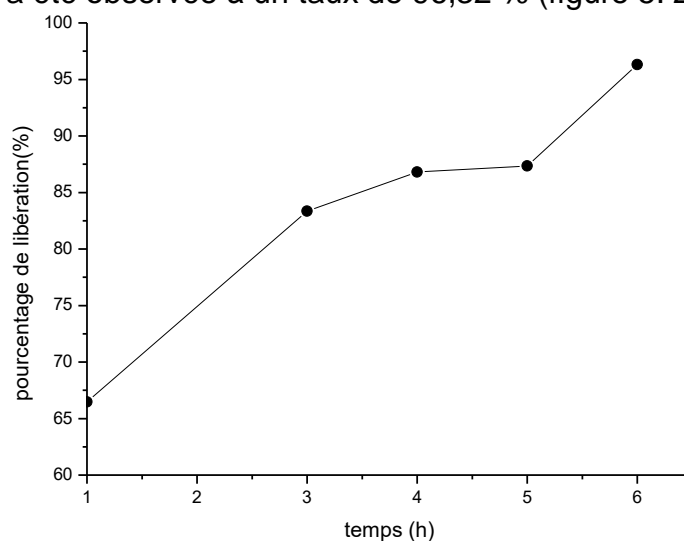
La valeur de l'indice de polydispersité des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés est de  $0,449 \pm 0,185$  et le diamètre des particules (moyenne-Z) est de  $142,6 \pm 0,1$  nm (Figure 5. 23).



**Figure 5. 23 :** Distribution de taille des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés.

#### G. Profil de libération contrôlée des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés

Le profil de libération des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés a été établi dans un milieu de dissolution acide 0,01 N HCl (pH 1,5) à 37 °C. La libération de polyphénol de graines de *M. azedarach* au bout de 1 h s'est révélée être de 66,48 %. En 3 h, la quantité des polyphénols libérée a atteint les 83,35 %. En 4 h la quantité de polyphénol est de 86,81 % et en 5 h, la quantité est de 87,35 %. En 6 h la libération maximale des polyphénols des graines de *M. azedarach* a été observée à un taux de 96,32 % (figure 5. 24).



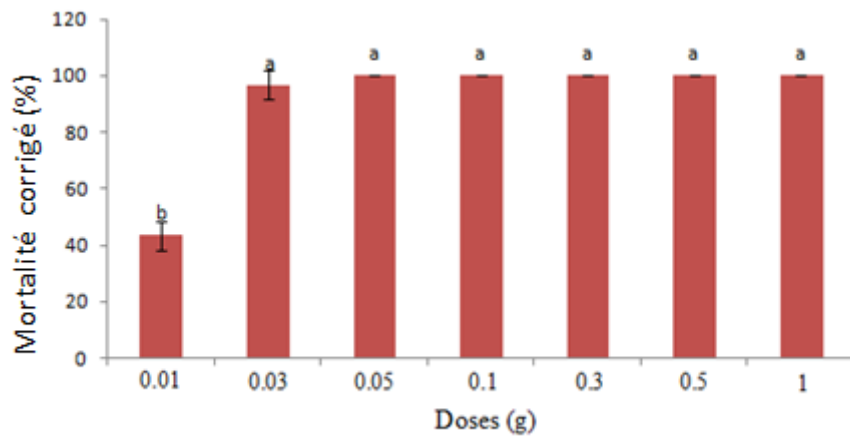
**Figure 5. 24:** Le profil de libération de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulée dans un milieu de dissolution acide 0,01 N HCl (pH 1,5).



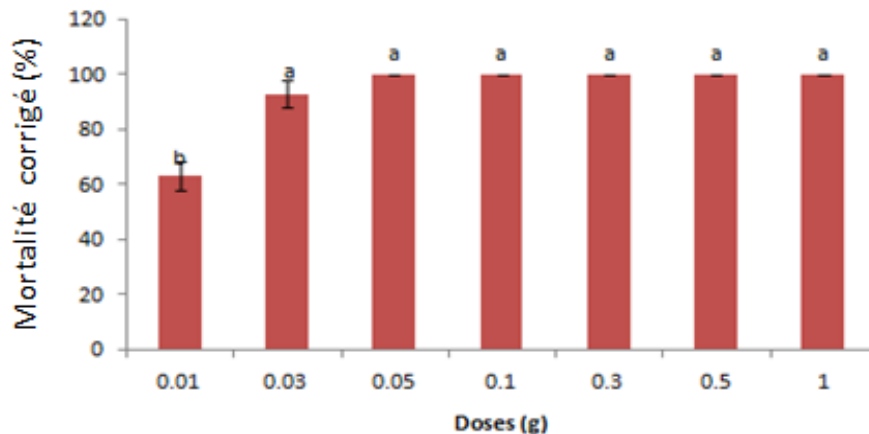
## 5.4. Evaluation des activités biologiques des extraits

### 5.4.1. Activité insecticide de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée

Les résultats de l'activité insecticide par l'effet de contact direct montre que l'huile des graines de *M. azedarach* encapsulée a causé une mortalité de 100 % pour *Rhyzopertha dominica* (F) et *Sitophilus Oryzae* pour les doses suivantes (0,05, 0,1, 0,3 et 1g) par contre les faibles doses (0,03 g et 0,01g) de cette huile a causé une mortalité de  $96,66 \pm 3,33$  % et  $43,33 \pm 3,33$  % pour *Rhyzopertha dominica* (F) (Figure 5. 25) et  $93,33 \pm 4,44$  % et  $63,33 \pm 4,44$  % pour *Sitophilus Oryzae* (Figure 5. 26) respectivement.



**Figure 5. 25:** Evaluation de l'activité insecticide (*Rhyzopertha dominica* (F)) de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée par l'effet de contact direct.



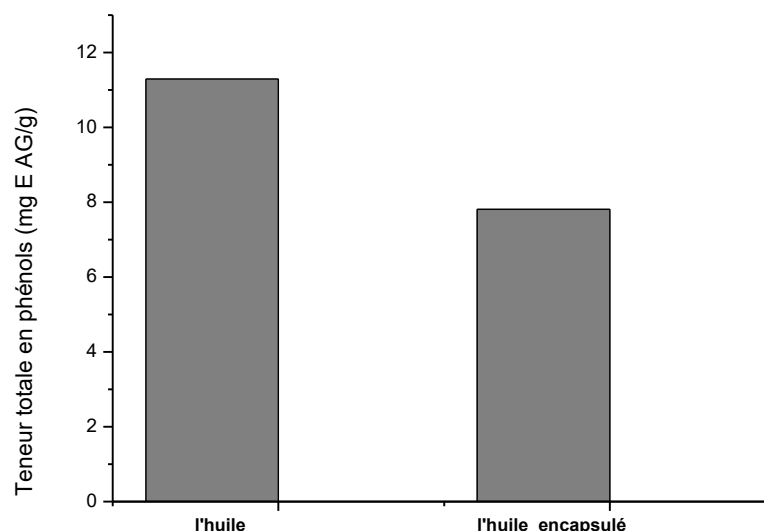
**Figure 5. 26:** Evaluation de l'activité insecticide (*Sitophilus Oryzae*) de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée par l'effet de contact direct.

Les résultats de cette étude montrent que la mortalité des insectes (*Rhyzopertha dominica* (F) et *Sitophilus Oryzae*) augmente avec l'augmentation de la dose d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée. La forte activité insecticide de cette huile est due à la présence des triterpénoïdes qui présentent un effet antinutritionnel. Ils inhibent la prise alimentaire des insectes phytophages et provoquent la mort et des malformations chez les futures générations. Les limonoïdes (tetranortriterpénoïdes) sont capables d'inhiber le développement, l'alimentation des insectes et la survie de plusieurs espèces d'insectes [170-172].

#### 5.4.2. La teneur totale en composés phénoliques

##### A. La teneur totale en composés phénoliques de l'huile de graines de *M. azedarach* et d'huile de graines de *M. azedarach* encapsulés

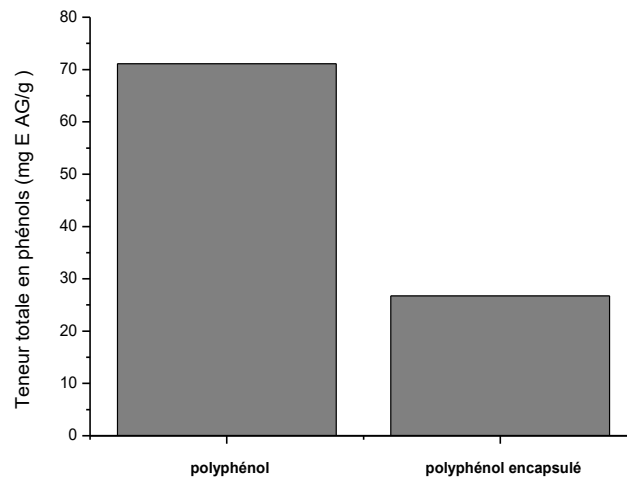
La teneur totale en composés phénoliques de l'huile de graines de *M. azedarach* et de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu en utilisant l'acide gallique comme étalon. La teneur totale en composés phénoliques de l'huile de graines de *M. azedarach* a été déterminée à 11,29 mg EAG.g<sup>-1</sup> alors que la teneur total en composés phénolique de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulés a été estimé à 7,807 mg EAG.g<sup>-1</sup> (Figure 5. 27).



**Figure 5. 27:** La teneur totale en composés phénoliques de l'huile de graines de *M. azedarach* et de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé.

B. La teneur totale en composés phénoliques de polyphénol de graines de *M. azedarach* et de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulés

La teneur totale en composés phénoliques des polyphénols de graines de *M. azedarach* et des polyphénols de graines de *M. azedarach* encapsulés a été déterminée en utilisant la même méthode citée précédemment. La teneur totale en composés phénoliques de polyphénol des graines de *M. azedarach* a été évaluée à 71,08 mg EAG.g<sup>-1</sup> par contre la teneur total en composés phénoliques à l'état encapsulé a été estimée à 26,72 mg EAG.g<sup>-1</sup> (Figure 5. 28).



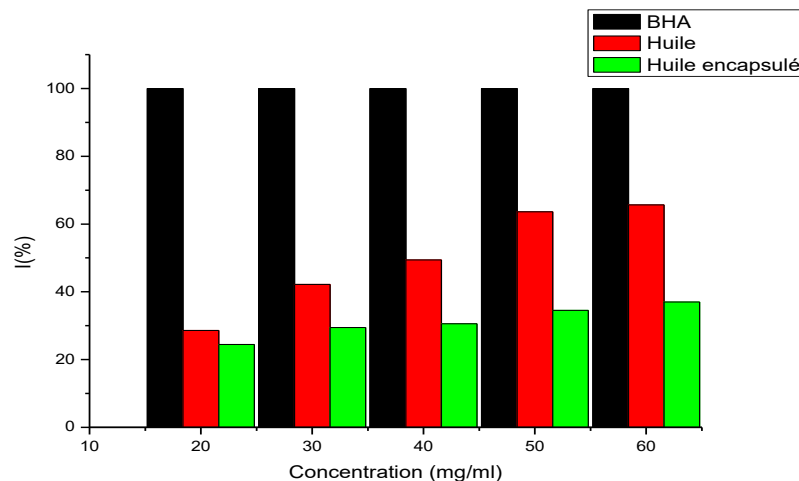
**Figure 5. 28:** La teneur totale en composés phénoliques de polyphénol de graines de *M. azedarach* et de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulés.

La teneur totale en composés phénoliques de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulé est déterminée comme étant inférieure à celui de polyphénol de graines de *M. azedarach*. On estime que le contenu phénolique total de polyphénol était protégé dans la capsule. Teixeira et al[173] ont encapsulé de l'oléorésine de poivre noir par HP-β-CD et ont déclaré que le contenu phénolique total du poivre était protégé dans le complexe d'inclusion l'oléorésine de poivre noir-HP-β-CD alors que Li et al [174] ont encapsulé l'extrait phénolique de prune et ils ont montré que l'extrait phénolique riche en composé phénolique. Mais les agents d'enrobage réduisaient la concentration de l'ingrédient actif dans la capsule.

### 5.4.3. Evaluation de l'activité antioxydante

#### A. Détermination de l'activité antioxydante de l'huile des graines de *M. azedarach* et de l'huile des graines de *M. azedarach* encapsulé

La figure 5. 29 représente l'activité antioxydante en termes de capacité de piégeage de radicaux libres DPPH (%) de l'huile des graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé par rapport à hydroxyanisole butylé (BHA) à différentes concentrations [20-60 mg.mL<sup>-1</sup>]. La capacité de piégeage des radicaux libres DPPH de l'huile des graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée augmente avec l'augmentation des concentrations d'échantillons.

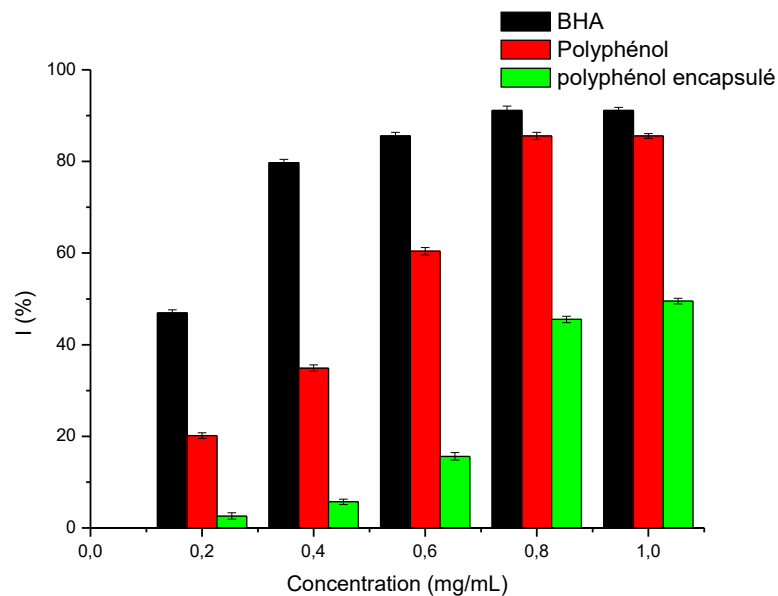


**Figure 5. 29:** Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile de graines de *M. azedarach* et de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée.

L'huile de graines de *M. azedarach* présente une activité antioxydante de 65,63 % de piégeage des radicaux DPPH à 60 mg.mL<sup>-1</sup>, par contre l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée a montré une activité antioxydante plus faible que l'activité antioxydante de l'huile des graines de *M. azedarach* estimée à 37 % de piégeage des radicaux DPPH à 60 mg. mL<sup>-1</sup>). Les résultats de cette étude montrent que le polymère  $\beta$ -CD-EP constitue une barrière et peut bloquer les composés actifs de l'huile des graines de *M. azedarach* lors de la réaction avec les radicaux DPPH [24, 101, 136].

## B. Test d'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques de graines de *M. azedarach*

La figure 5. 30 représente l'activité antioxydante des graines de *M. azedarach* et polyphénol des graines de *M. azedarach* encapsulés par rapport à hydroxyanisole butylé (BHA) à différentes concentrations [0,2-1 mg.mL<sup>-1</sup>].



**Figure 5. 30:** Evaluation de l'activité antioxydante des polyphénols des graines de *M. azedarach* et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés.

Les polyphénols des graines de *M. azedarach* présentent une forte activité antioxydante (85,58 % de piégeage des radicaux DPPH à 1 mg.mL<sup>-1</sup>) par contre les polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés ont présenté une activité antioxydante plus faible que celle des polyphénols des graines de *M. azedarach* (49,52 % de piégeage des radicaux DPPH à 1 mg. mL<sup>-1</sup>).

### 5.4.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne

#### A. Test d'activité antimicrobienne de l'huile de graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée

L'activité antimicrobienne de l'huile des graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée a été déterminée par la méthode des disques, qui exprime la mesure des diamètres des zones d'inhibition, les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

L'huile des graines de *M. azedarach* a montré une activité antibactérienne contre les bactéries testées (*Escherichia. Coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *staphylococcus aureus*) à toutes les concentrations. Une activité antifongique (*Candida Albicans*) était observée seulement à 10 mg.mL<sup>-1</sup>. Aucune activité n'a été observée contre *Klebseilla pneumoniae*, *Enterobacter faecalis* et *Aspergillus niger*.

La plus grande inhibition est observée pour *Escherichia. Coli* avec une zone d'inhibition (14 mm pour la concentration de 10 mg.mL<sup>-1</sup>). Par contre *Pseudomonas Aeruginosa* présente une zone d'inhibition (10 mm pour la concentration de 5 mg.mL<sup>-1</sup>). Alors que *Staphylococcus aureus* présente une zone d'inhibition (9 mm pour la concentration de 10 mg.mL<sup>-1</sup>). Pour *Candida Albicans* présente une zone d'inhibition (13 mm pour la concentration de 10 mg.mL<sup>-1</sup>).

Pour l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulée, nous avons observé une diminution de l'effet inhibiteur pour les bactéries testés. Les résultats de cette étude ont montré que le polymère  $\beta$ -CD peut protéger l'huile des graines de *M. azedarach*.

**Tableau 5. 5:** Diamètre des zones d'inhibition des micro-organismes testés vis-à-vis de l'huile de graines de *M. azedarach* et l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé.

C (mg.mL <sup>-1</sup> )	Zone d'inhibition (mm)					
	<i>Candida Albicans</i> ATCC 24433		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538G(+)		Pseudomonas Aeruginosa ATCC 27853G (-)	
	Huile	Huile encapsulé	Huile	Huile encapsulé	Huile	Huile encapsulé
40	-	-	-	-	07	07
20	-	-	-	-	08	08
10	13	11	09	07	09	07
5	-	-	08	07	10	07

2,5	-	-	08	08	07	07
C (mg.mL <sup>-1</sup> )	<i>Escherichia. Coli</i> ATCC 25922 G(-)					
	Huile	Huile encapsulé				
40	10	07				
20	10	09				
10	14	10				
5	12	10				
2,5	11	10				

B. Test de l'activité antimicrobienne des polyphénols des graines de *M. azedarach* et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés

Les polyphénols des graines de *M. azedarach* ont montré une activité antibactérienne contre les bactéries testées (*Escherichia.Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) à toutes les concentrations. Où une activité antifongique (*Candida Albicans*) était observée seulement à 10 mg.mL<sup>-1</sup>. Aucune activité n'a été observée contre *staphylococcus aureus*, *klebseilla pneumoniae*, *enterobacter faecalis* et *Aspergillus niger* pour toutes les concentrations testées.

La plus grande inhibition est observée pour *Escherichia. Coli* avec une zone d'inhibition (15 mm pour la concentration de 10 mg.mL<sup>-1</sup>). *Pseudomonas Aeruginosa* présente une zone d'inhibition (10 mm pour la concentration de 20 mg.mL<sup>-1</sup>). Pour *Candida Albicans*, il présente une zone d'inhibition (10 mm pour la concentration de 10 mg.mL<sup>-1</sup>). Pour les polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés, nous avons observé une diminution de l'effet inhibiteur pour les bactéries testées. Les résultats de cette étude montrent aussi que le polymère  $\beta$ -CD peut protéger les polyphénols.

**Tableau 5. 6:** Diamètre des zones d'inhibition des micro-organismes testés vis-à-vis de polyphénol de graines de *M. azedarach* et polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulé.

C (mg.mL <sup>-1</sup> )	Zone d'inhibition (mm)					
	<i>Candida Albicans</i> ATCC 24433		Pseudomonas Aeruginosa ATCC 27853G (-)		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 G(-)	
	p-phénol	p-phénol encapsulé	p-phénol	p-phénol encapsulé	p-phénol	p-phénol encapsulé
40	-	-	7	7	07	07
20	-	-	10	7	08	08
10	10	9	8	7	15	10
5	-	-	8	7	10	09
2,5	-	-	8	8	08	-

### 5.5. Conclusion

Les résultats de cette étude montrent que les graines de *Melia. azedarach* très riche en huile végétale et en composé phénolique. L'huile et le polyphénol de graines de *M. azedarach* présente des capacités insecticide, antioxydante et antimicrobienne marquantes. L'encapsulation de l'huile et de polyphénol a été caractérisée par différentes analyses comme MEB, FTIR, RMN<sup>1</sup>H, etc. Nous avons constaté que la méthode d'encapsulation est très efficace pour fixer les composés bioactifs de l'huile et de polyphénol et conserver leur activité dans la matrice encapsulée.



## CONCLUSION GENERALE

La protection des huiles molécules sensibles aux facteurs externes telles que les extraits des graines de *M. azedarach* dans le cœur des cyclodextrines modifiés était l'objectif principal de cette thèse. Pour y parvenir, des disciplines clés dans le domaine chimique ont été adoptées à savoir; l'extraction des huiles, la réactivité chimique, les méthodes analytiques de caractérisation, les méthodes d'encapsulation et enfin des applications dans le secteur biologique.

Dans la première partie de nos travaux, la composition en acides gras a été déterminée, les différents composés phénoliques des graines de *M. azedarach* ont été identifiés. Cette partie a mis en évidence la richesse des graines de *M. azedarach* en acides gras et en composés phénoliques avec des rendements de 35,2 % et 6,13 % en huile et polyphénols respectivement.

La composition en acides gras évaluée par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS) a révélée que les principaux acides gras sont les acides linoléique, oléique, palmitique et stéarique.

Les acides dénommés; ascorbique, gallique, caféique, syringique, vanilline, férulique, salicylique, M-anisique, cinnamique, trans 2,4 dimétoxy cinamique et oxalique sont les polyphénols identifiés.

Dans la deuxième étape, la  $\beta$ -cyclodextrine a été modifiée par l'épichlorohydrine dans le but d'améliorer la solubilité de ce polymère. La caractérisation du matériau  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine obtenu a été réalisée par différentes techniques analytiques telles que la résonance magnétique nucléaire (RMN<sup>1</sup>H), la spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR), la microscopie électronique à balayage (MEB). Les spectres obtenus ont montré que le polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine était comparable à ceux obtenus par des travaux antérieurs similaires avec les mêmes structures, groupements fonctionnels et morphologies.

L'encapsulation de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* dans le polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine a fait l'objet de l'étape suivante.

Ainsi, les capsules obtenues ont été caractérisées par différentes techniques analytiques telles que la résonance magnétique nucléaire (RMN<sup>1</sup>H), la spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR), la microscopie électronique à balayage (MEB), la spectroscopie UV-vis et la mesure des tailles des particules et l'indice de polydispersité. Les résultats ont montré que l'encapsulation de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* présentes des caractérisations physico-chimiques différentes selon la molécule invitée encapsulée (huile ou polyphénols).

Le comportement rhéologique d'émulsion et de suspension formulée a été étudié. L'émulsion se comporte comme un liquide visqueux par contre la suspension se comporte comme un solide plastique.

Afin d'envisager des applications pratiques capsules formulées, le profil de libération contrôlée de l'huile et des polyphénols de graines de *M. azedarach* a été suivi par spectroscopie UV-vis.

Dans la dernière partie, les activités biologiques de l'huile et des polyphénols de graines de *M. azedarach* (activité antioxydante, insecticide et antimicrobienne) ont été évaluées, ainsi que la teneur totale en composés phénoliques.

Les résultats de cette étape ont montré que l'huile des graines de *M. azedarach* présente des efficacités insecticides remarquables contre le charançon du riz (*Sitophilus oryzae*) et le capucin du grain (*Rhizopertha dominica*).

La capacité d'élimination des radicaux DPPH de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* encapsulés est plus stable que celle de l'huile et de polyphénol de graines de *M. azedarach*, ce qui signifie que le complexe d'inclusion avec le polymère  $\beta$ -CD-EP pourrait conserver la qualité et la durabilité des composants actifs de l'huile et des polyphénols. En outre, l'encapsulation de l'huile et de polyphénol de graines de *M. azedarach* a également diminué l'activité antibactérienne d'huile et de polyphénol de graines de *M. azedarach* contre les bactéries testées.

Les résultats de cette étude ont montré que l'utilisation du polymère  $\beta$ -cyclodextrine-épichlorohydrine en tant que matrice peut créer une barrière de protection autour de l'huile et des polyphénols des graines de *M. azedarach* pour

protéger les composés les plus actifs contre les dommages environnementaux et assurer une longue durée de conservation.

Enfin, l'espèce végétale ayant fait l'objet de cette thèse pourrait être une alternative aux pesticides chimiques réputés pour leurs toxicités et les dangers qu'ils présentent pour la santé.

Ce travail est loin d'être achevé, et ouvre plusieurs perspectives pour la continuité des travaux dans cet axe de recherches pluridisciplinaire:

- Mettre en évidence les activités thérapeutiques telles que l'activité anti-inflammatoire, antidiabétique et anticancéreuse et envisager des formes pharmaceutiques innovantes à libération prolongée.
- Améliorer les procédés d'extractions d'huile et de polyphénol de graines de *M. azedarach* en utilisant la stratégie de la planification expérimentale.
- Diversifier les natures des molécules étudiées des autres parties de cette plante (feuille et fruit) en évaluant leurs potentiels actifs.
- Déterminer des nouveaux composés bioactifs dans cette espèce végétale comme les limonoïdes et autres.
- Améliorer la caractérisation et l'identification de composés phénoliques de graines de *M. azedarach* par la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse.

Enfin, les complexes d'inclusion sont des systèmes innovants pour protéger les molécules sensibles. Les procédés mis au point pour la modification et l'encapsulation sont d'actualité et prometteurs. La valorisation de cette espèce végétale permet de contribuer à la résolution des problèmes de déchets agricoles encombrants pour l'environnement.

## APPENDICE A

### Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

AG : Acide gallique

BHA : hydroxyanisole butylé

CD : Cyclodextrine

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EP : Epichlorohydrine

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de fourier

g : Gramme

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

h : Heure

HCl : Acide chlorhydrique

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

L: Litre

M. azedarach : Melia. azedarach

MEB : Microscopie électronique à balayage

mg: Milligramme

mL : Millilitre

mm :Milimètre

mn : Minute

NaOH : Hydroxyde de sodium

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: Carbonate de sodium

PDI : Indice de polydispersité

ppm : Partie par million.

R<sup>•</sup>: Radical libre

R: Rendement

RMN <sup>1</sup>H: Résonance magnétique nucléaire proton

T : Température

UFC: Unité Formant colonies

UV-Vis : Ultra violet –visible

°C : Degré Celsius.

% : Pourcentage

## APPENDICE B

### Produits chimiques

Tableau : Produit chimique utilisés

Produits	Origine
2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Sigma Aldrich
Ether de pétrole (60-80 °C)	Panreac quimica sau,
Hydroxyde de sodium	Biochem Chemopharma
Acétone	Biochem Chemopharma
DMSO	Biochem Chemopharma
Acide chlorhydrique	Prolabo
Épichlorohydrine	Fluka
Ethanol	Prolabo
Heptane	Riedel-de Haen
Folin-ciocalteu's	Panreac
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Panreac Applichem
Acide gallique	Merk
Acide caféique	Merk
Acide ascorbique	Merk
Acide syringique	Merk
Acide 2, 4-diméthoxy cinnamique	Merk
Acide oxalique	Merk
Acide férulique	Merk
Acide salicylique	Merk
Acide vanilline	Merk

## APPENDICE C

### Résultats supplémentaire

#### 1. Caractérisation physico-chimique d'huile de graines de *M. azedarach*

##### Calcul du rendement

Le rendement en huile végétale et en polyphénol est le rapport entre le poids de l'huile végétale ou de polyphénols extraits et le poids de la biomasse végétale à traiter.

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \left( \frac{m}{m_0} \right) \times 100$$

R(%) : Rendement d'huile végétale ou polyphénol exprimé en (%).

m : masse en gramme d'huile végétale ou de polyphénol obtenue.

m<sub>0</sub> : masse en gramme de la prise d'essai de la matière végétale.

##### Indice de réfraction

L'indice de réfraction (I<sub>R</sub>) est une caractéristique importante des huiles. L'indice de réfraction d'un milieu à une longueur d'onde donnée mesure le facteur de réduction de la vitesse de phase de la lumière dans le milieu par rapport au vide. La mesure d'indice de réfraction a été faite à la température de 25 °C avec un réfractomètre par lecture directe.

L'indice de réfraction de l'huile de graines de *M. azedarach* a été mesuré par la lecture directe de l'angle de réfraction à l'aide d'un réfractomètre Abbe de marque Carl Zeiss à une température ambiante puis ramenés à la température de 20 °C par la formule suivante :

$$\eta_D^{20} = \eta_D^t + 0,00045 (t-20)$$

$\eta_D^{20}$  : Indice de réfraction à 20 °C

$\eta_D^t$  : Indice de réfraction à la température ambiante ou de mesure

t : Température ambiante en °C

### Indice d'acide

L'indice d'acide ( $I_A$ ) correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un gramme de corps gras (AFNOR T60-204).

### Mode opératoire

- Dans un erlenmeyer de 250 mL, introduire 2 g d'huile de graines de *M. azedarach*
- Ajouter 50 mL de solvant (25 mL d'éthanol + 25 mL d'éther d'éthylique)
- Ajouter 2 gouttes de phénophtaléine
- Titrer la solution avec KOH (0,1N)

L'indice d'acide en mg KOH est calculé selon par la formule suivante :

$$I_A = \frac{5,61 \times V}{m}$$

V : le volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé en (mL)

M : la masse de la prise d'essai en (g)

5,61 : Le nombre de mg de potasse équivalent à 1 mL de soude à 0,1N.

### Indice de saponification

L'indice de saponification ( $I_S$ ) correspond à la masse d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et pour saponifier les acides gras combinés dans un gramme de corps gras (AFNOR T60-206).

### Mode opératoire

Une quantité entre 0,2-0,3 g d'huile de graines de *M. azedarach* est saponifiée à reflux par 20 mL de KOH éthanolique (0,1N) pendant 30 min. L'excès du KOH est neutralisé par l'acide hydrochlorique HCl (0,1N) en présence de phénophtaléine comme indicateur coloré. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions sans l'huile. L'indice de saponification est calculé par la relation suivante :



$$I_S = \frac{(V_0 - V) \times N \times M_{KOH}}{m}$$

$I_S$  : indice de saponification ( $\text{mg.g}^{-1}$ )

$V_0$  : le volume de HCl titrant le blanc (mL)

$V$  : le volume de HCl titrant l'échantillon (mL)

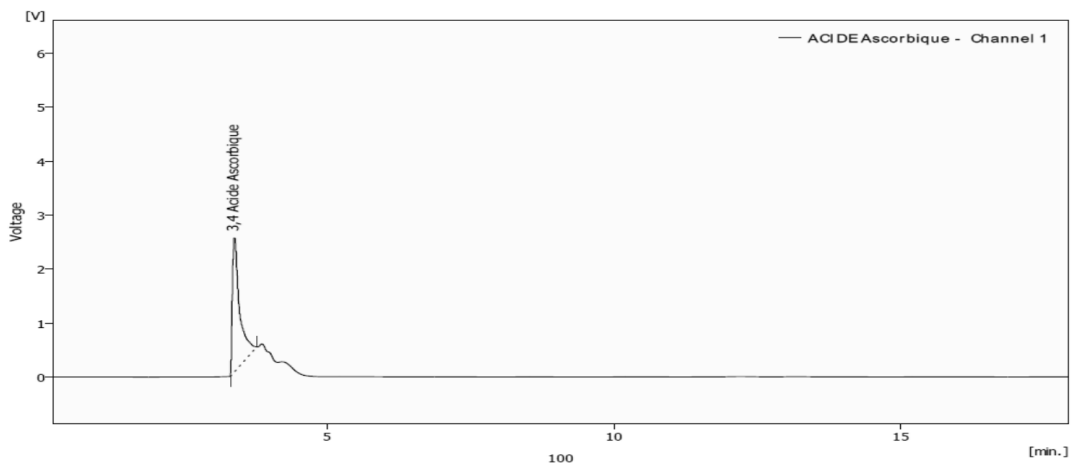
$N$  : la normalité de l'acide chlorhydrique ( $\text{mol.L}^{-1}$ )

$M_{KOH}$  : la masse molaire de KOH  $56,1 \text{ g.mol}^{-1}$

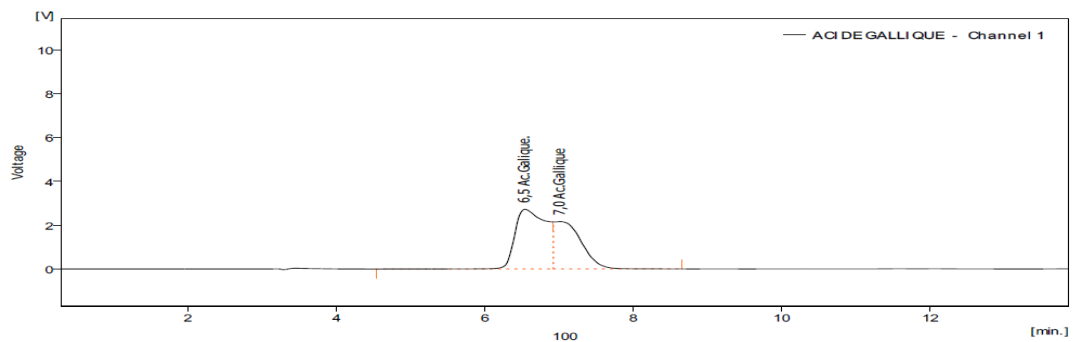
$m$  : la masse d'huile exactement pesée (g)

## 2. Chromatogrammes des standards

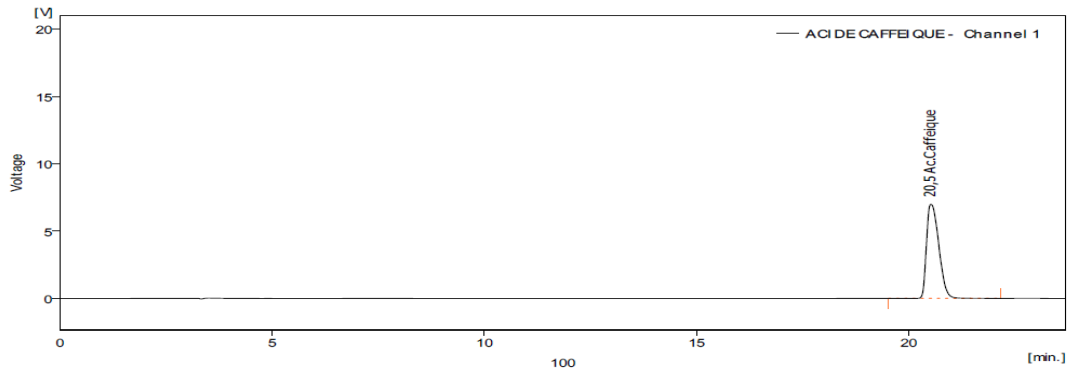
### Acide ascorbique



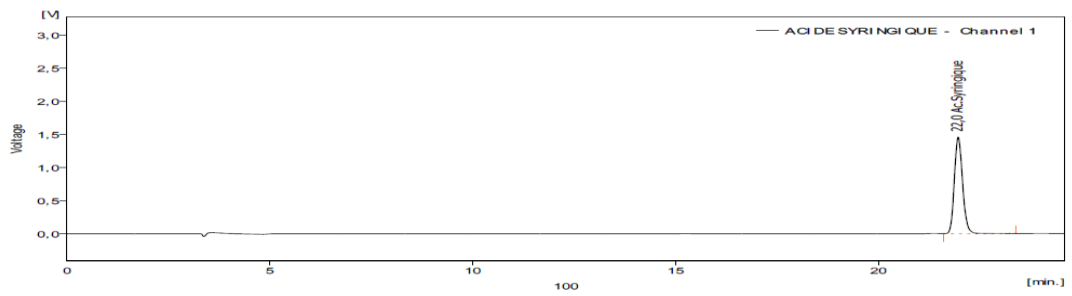
### Acide gallique



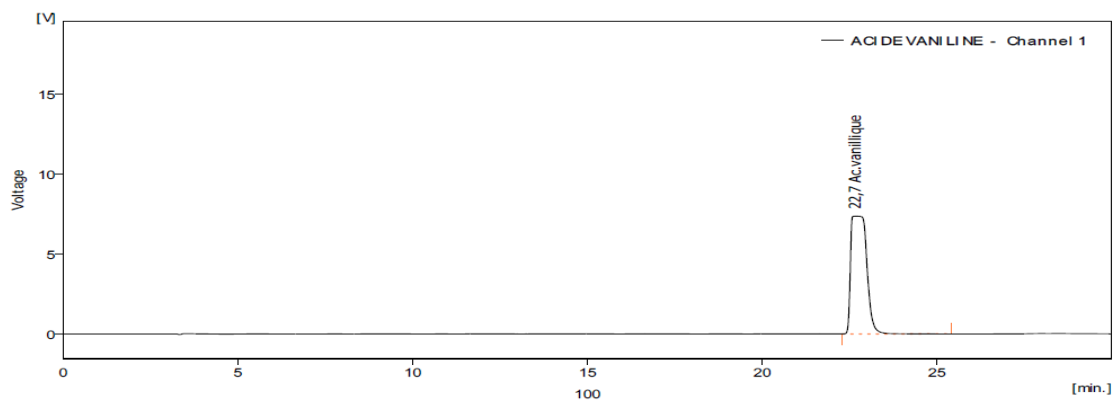
### Acide caféique



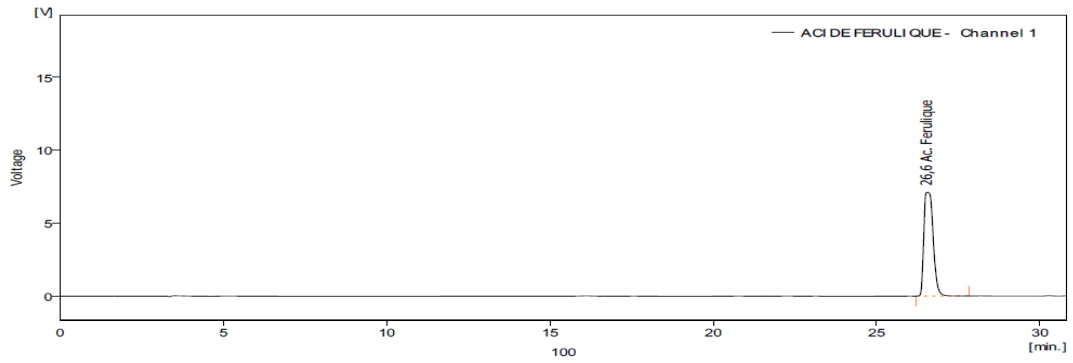
### Acide syringique



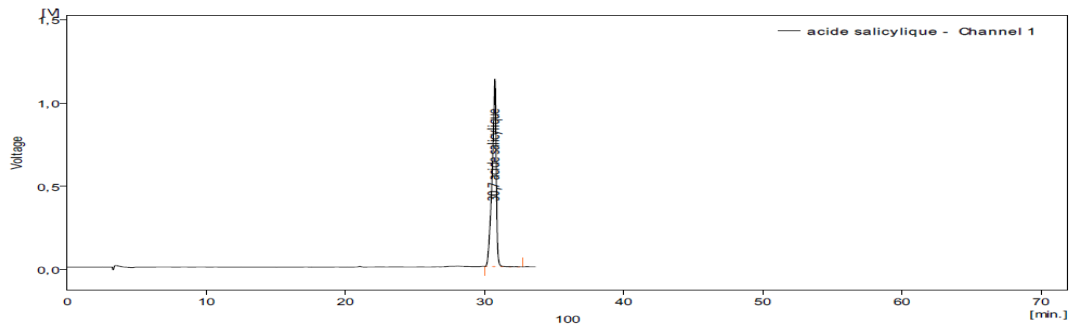
### Acide vanilline



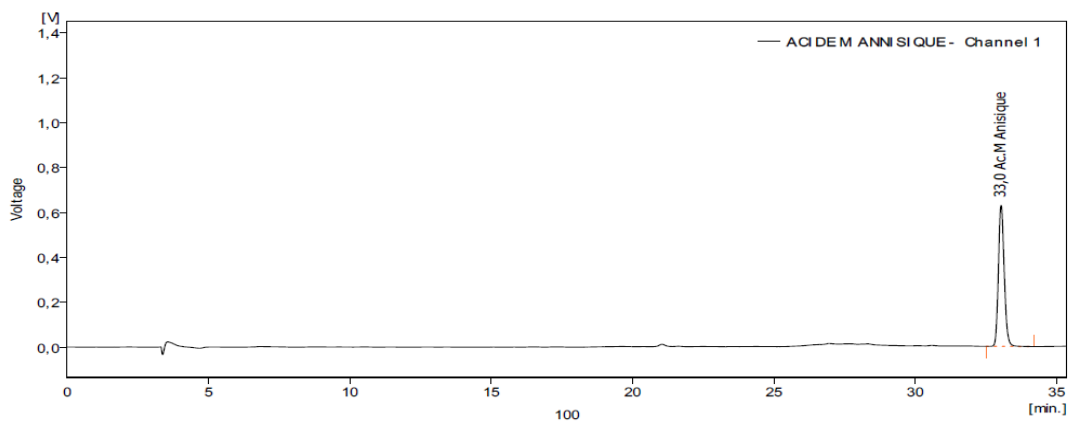
## Acide férulique



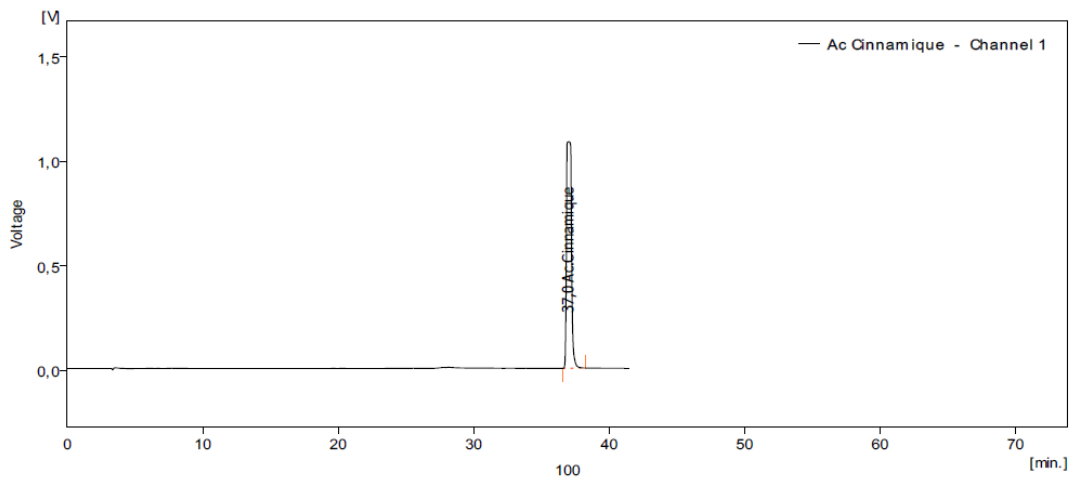
## Acide salicylique



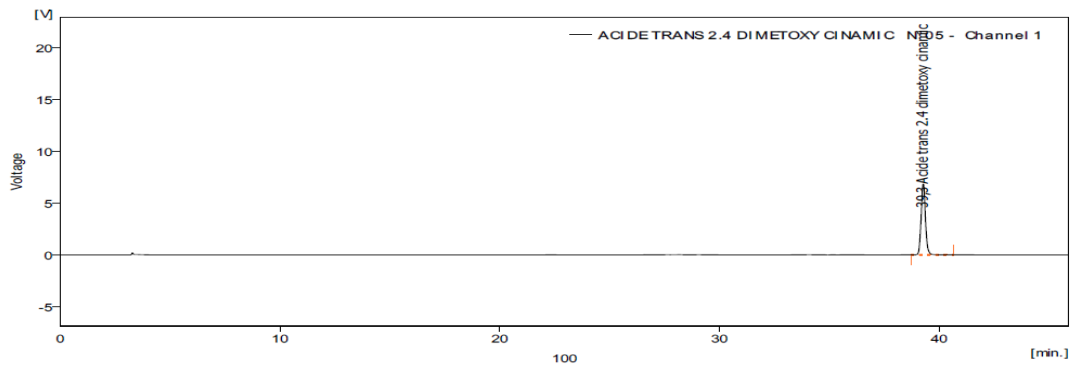
## Acide M-anisique



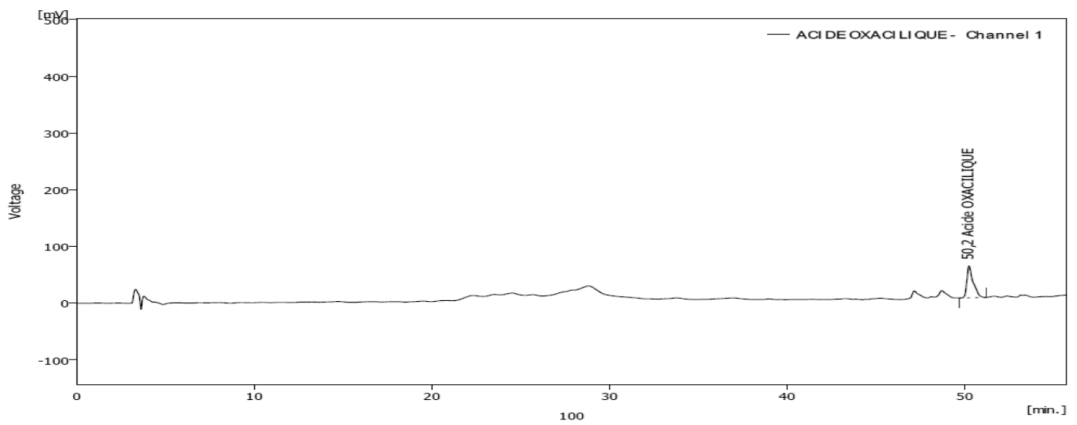
### Acide cinnamique



### Acide trans 2.4 dimetoxy cinamique

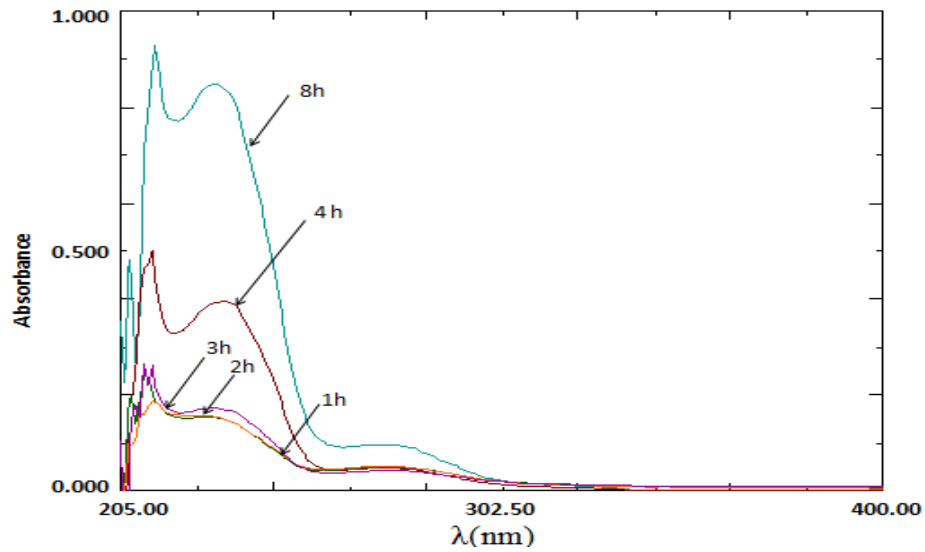


### Acide oxalique

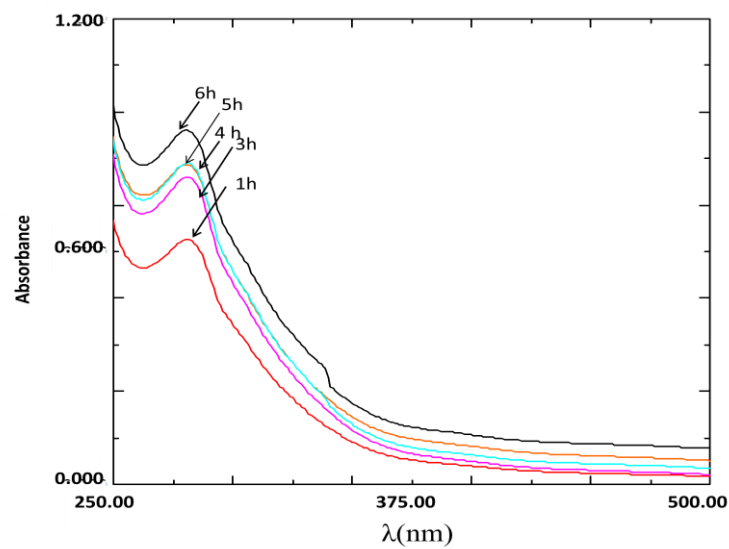


### 3. Spectroscopie UV-vis de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé.

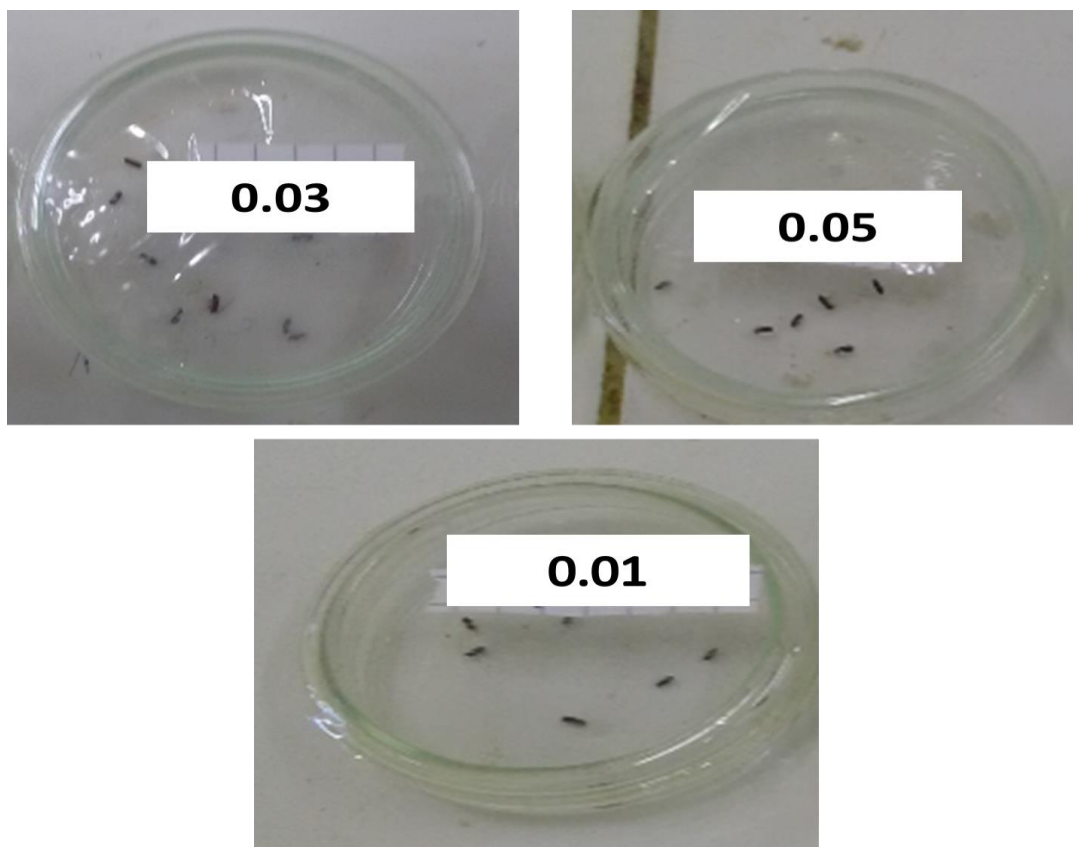
Spectroscopie UV-vis de l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé.



Spectroscopie UV-vis de polyphénol de graines de *M. azedarach* encapsulé.



### 4. Traitement des insectes par la technique de toxicité par contact direct avec l'huile de graines de *M. azedarach* encapsulé



## Références

1. Ben Ghnaya, A., L. Hamrouni, and M. Hanana, *Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur Melia azedarach L.* Phytothérapie, 2013. **11**(5): p. 284-288.
2. Aoudia, H., et al., *Nematotoxic Phenolic Compounds From Melia azedarach Against Meloidogyne incognita.* Vol. 60. 2012.
3. M'rabet, Y., et al., *Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of Melia azedarach L. leaves and fruits at two stages of maturity.* Industrial Crops and Products, 2017. **107**: p. 232-243.
4. A. Ismaili, S., et al., *Chemical composition of two non-conventional oils in Morocco: Melia azadirachta and Silybum marianum (L.).* Vol. 7. 2016. 2208-2213.
5. Khan, M.F., et al., *In vitro and in vivo antidiabetic effect of extracts of Melia azedarach, Zanthoxylum alatum, and Tanacetum nubigenum.* Integrative Medicine Research, 2018. **7**(2): p. 176-183.
6. Bachheti, R., et al., *CHARACTERIZATION OF FATTY ACIDS IN MELIA AZEDARACH L. SEED OIL.*
7. Orhan, I.E., et al., *Enzyme inhibitory and antioxidant activity of Melia azedarach L. naturalized in Anatolia and its phenolic acid and fatty acid composition.* Industrial Crops and Products, 2012. **37**(1): p. 213-218.
8. Khan, A.V., et al., *Antibacterial efficacy of the seed extracts of Melia azedarach against some hospital isolated human pathogenic bacterial strains.* Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2011. **1**(6): p. 452-455.
9. Maciel, M., et al., *Ovicidal and larvicidal activity of Melia azedarach extracts on Haemonchus contortus.* Veterinary Parasitology, 2006. **140**(1-2): p. 98-104.

10. Devi, N. and T.K. Maji, *Neem seed oil: Encapsulation and controlled release-search for a greener alternative for pest control*, in *Pesticides in the Modern World-Pesticides Use and Management* 2011, InTech. London. ISBN 978-953-307-459-7
11. Devi, N. and T.K. Maji, *Genipin crosslinked microcapsules of gelatin A and  $\kappa$ -carrageenan polyelectrolyte complex for encapsulation of Neem (*Azadirachta Indica A.Juss.*) seed oil*. *Polymer Bulletin*, 2010. **65**(4): p. 347-362.
12. Saokham, P., et al., *Solubility of Cyclodextrins and Drug/Cyclodextrin Complexes*. *Molecules*, 2018. **23**(5): p. 1161.
13. Li, R., S. Jiang, and Z.-T. Jiang,  *$\beta$ -Cyclodextrin Supramolecular Microcapsules and Antioxidant Activity of *Laurus nobilis* Essential Oil*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2017. **20**(6): p. 1511-1524.
14. Kumar, S., et al., *Encapsulation of Babchi Oil in cyclodextrin-Based 2 Nanosponges: Physicochemical Characterization, 3 Photodegradation and In Vitro Cytotoxicity Studies*, *Pharmaceutic*. 2018..4(10)
15. Garnero, C., et al., *Chapter 7 - Technological delivery systems to improve biopharmaceutical properties*, in *Nanoscale Fabrication, Optimization, Scale-Up and Biological Aspects of Pharmaceutical Nanotechnology*, A.M. Grumezescu, Editor 2018, William Andrew Publishing. p. 253-299.
16. Waleczek, K., et al., *Phase solubility studies of pure (-)- $\alpha$ -bisabolol and camomile essential oil with  $\beta$ -cyclodextrin*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2003. **55**(2): p. 247-251.
17. Hill, L.E., C. Gomes, and T.M. Taylor, *Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications*. *LWT-Food Science and Technology*, 2013. **51**(1): p. 86-93.
18. Liu, G., et al., *Cyclodextrin-based host-guest supramolecular hydrogel and its application in biomedical fields*. *Polymer Chemistry*, 2018.9,3436-3449.
19. Galvão, J., et al.,  *$\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes containing *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oil: An alternative to control *Aedes aegypti* larvae*. *Thermochimica Acta*, 2015. **608**: p. 14-19.
20. Dima, C., et al., *Encapsulation of coriander essential oil in beta-cyclodextrin: antioxidant and antimicrobial properties evaluation*. *Romanian Biotechnological Letters*, 2014. **19**(2): p. 9128-9140.
21. Marques, H.M.C., *A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles*. *Flavour and Fragrance Journal*, 2010. **25**(5): p. 313-326.
22. Zhang, Y., et al., *Preparation and Properties of Ginger Essential Oil  $\beta$ -Cyclodextrin/Chitosan Inclusion Complexes*. *Coatings*, 2018. **8**(9): p. 305.
23. Rakmai, J., et al., *Encapsulation of Essential Oils by Cyclodextrins: Characterization and Evaluation* 2018.
24. Rakmai, J., et al., *Encapsulation of yarrow essential oil in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: physicochemical characterization and evaluation of bio-efficacies*. *CyTA-Journal of Food*, 2017. **15**(3): p. 409-417.
25. Gidwani, B. and A. Vyas, *Synthesis, characterization and application of Epichlorohydrin- $\beta$ -cyclodextrin polymer*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014. **114**: p. 130-137.
26. Wang, D., et al., *Chitosan and  $\beta$ -Cyclodextrin-epichlorohydrin Polymer Composite Film as a Plant Healthcare Material for Carbendazim-Controlled Release to Protect Rape against *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary*. *Materials*, 2017. **10**(4): p. 343.
27. Karpkird, T., et al., *Inclusion complexes and photostability of UV filters and curcumin with beta-cyclodextrin polymers: effect on cross-linkers*. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2018. **91**(1-2): p. 37-45.

28. Wang, X., Z. Luo, and Z. Xiao, *Preparation, characterization, and thermal stability of  $\beta$ -cyclodextrin/soybean lecithin inclusion complex*. Carbohydrate Polymers, 2014. **101**: p. 1027-1032.
29. Santos, E.H., et al., *Characterization of carvacrol beta-cyclodextrin inclusion complexes as delivery systems for antibacterial and antioxidant applications*. LWT-Food Science and Technology, 2015. **60**(1): p. 583-592.
30. Jaafar, N.S., et al., *Qualitative phytochemical comparison between flavonoids and phenolic acids contents of leaves and fruits of melia azedarach (Family: Meliaceae) cultivated in Iraq by HPLC and HPTLC*. Vol. 8. 2016. 242-250.
31. Nathan, S.S., et al., *Efficacy of Melia azedarach L. extract on the malarial vector Anopheles stephensi Liston (Diptera: Culicidae)*. Bioresource Technology, 2006. **97**(11): p. 1316-1323.
32. Y Al-Rubae, A., *The Potential Uses of Melia Azedarach L. as Pesticidal and Medicinal Plant, Review*. Vol. 3. 2009. 185-194.
33. M. M, A., et al., *Pharmacological potentials of Melia azedarach L. - A review address*2013.
34. Sharma, D. and Y.P. Singla Dr, *Preliminary and pharmacological profile of Melia azedarach L.: An overview*. Vol. 3. 2013. 133-138.
35. Kanwer Shekhawat, K., D. V. Rao, and A. Batra, *Phyto-Morphological Overview of Medicinal Plant: Melia azedarach Linn*. Vol. 4. 2014. 10.
36. Khan, A.V., A.A. Khan, and I. Shukla, *In vitro antibacterial potential of Melia azedarach crude leaf extracts against some human pathogenic bacterial strains*. Ethnobotanical Leaflets, **2008**(1): p. 53.
37. Hammad, E.A.F., *Chinaberry, Melia azedarach L., A Biopesticidal Tree*, in *Encyclopedia of Entomology*, J.L. Capinera, Editor 2008, Springer Netherlands: Dordrecht. p. 850-857.
38. Morgan, E.D., *Azadirachtin, a scientific gold mine*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009. **17**(12): p. 4096-4105.
39. Pandreka, A., et al., *Triterpenoid profiling and functional characterization of the initial genes involved in isoprenoid biosynthesis in neem (Azadirachta indica)*. BMC plant biology, 2015. **15**(1): p. 214.
40. Alves, P.D., et al., *Chromatographic evaluation and antimicrobial activity of Neem (Azadirachta indica A. Juss., Meliaceae) leaves hydroalcoholic extracts*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2009. **19**(2B): p. 510-515.
41. Alam, A., et al., *Novel anti-inflammatory activity of epoxyazadiradione against macrophage migration inhibitory factor: inhibition of tautomerase and pro-inflammatory activities of macrophage migration inhibitory factor*. Journal of Biological Chemistry, 2012: p. jbc. M112. 341321.
42. Haldar, S., et al., *Expedient preparative isolation and tandem mass spectrometric characterization of C-seco triterpenoids from Neem oil*. Journal of Chromatography A, 2014. **1366**: p. 1-14.
43. G. Italo, C., H. F. Amanda, and L. R. Diego, *Physical And Chemical Characterization of Melia azedarach L. Fruit and Leaf for Use as Botanical Insecticide*. Vol. 69. 2009.
44. Abdel-Ghany, A., et al., *Insecticidal Activity of Melia azedarach L. Triterpenoids against Spodoptera littoralis (Boisd.)*. Vol. 8. 2012. 661-667.
45. Nahak, D.G. and R. Sahu, *In vitro antioxidative acitivity of Azadirachta indica and Melia azedarach Leaves by DPPH scavenging assay*. Vol. 8. 2010. 22-28.
46. Ahmad, D., et al., *Phytochemical studies and Antioxidant activity of Brassica oleracea L.var. capitata*. Vol. 4. 2012. 374 –378.
47. Saleem, R., et al., *Antibacterial effect of Melia azedarach flowers on rabbits*. Phytotherapy Research, 2002. **16**(8): p. 762-764.
48. Neycee, M., et al., *Evaluation of antibacterial effects of chinaberry (Melia azedarach) against gram-positive and gram-negative bacteria*. Vol. 3. 2012.
49. Alché, L.E., et al., *An antiviral meliacarpin from leaves of Melia azedarach L.* Zeitschrift für Naturforschung C, 2003. **58**(3-4): p. 215-219.



50. Bahuguna, D., et al., *Antiulcer activity of Melia azedarach linn in aspirin induced and pylorus ligated rats.* *Journal of Pharmacy research*, 2009.
51. Ponce Cevallos, P.A., M.P. Buera, and B.E. Elizalde, *Encapsulation of cinnamon and thyme essential oils components (cinnamaldehyde and thymol) in  $\beta$ -cyclodextrin: Effect of interactions with water on complex stability.* *Journal of Food Engineering*, 2010. **99**(1): p. 70-75.
52. Cabral, M.H.M., *A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles.* *Flavour and Fragrance Journal*, 2010. **25**(5): p. 313-326.
53. Biwer, A., G. Antranikian, and E. Heinzle, *Enzymatic production of cyclodextrins.* *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002. **59**(6): p. 609-617.
54. Challa, R., et al., *Cyclodextrins in drug delivery: An updated review.* *AAPS PharmSciTech*, 2005. **6**(2): p. E329-E357.
55. Hamoudi, M., et al., *Interactions entre les cyclodextrines et les triglycérides : de la stabilisation des émulsions à l'obtention d'un nouveau système galénique appelé « billes ».* *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 2009. **67**(6): p. 391-398.
56. Girek, T. and W. Sliwa, *Cyclodextrins: Properties and Applications* 2016.
57. Uekama, K., F. Hirayama, and T. Irie, *Cyclodextrin Drug Carrier Systems.* *Chemical Reviews*, 1998. **98**(5): p. 2045-2076.
58. Tejashri, G., B. Amrita, and D. Jain, *Cyclodextrin based nanosponges for pharmaceutical use: A review.* Vol. 63. 2013. 335-58.
59. Loftsson, T., et al., *Cyclodextrins in drug delivery.* *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2005. **2**(2): p. 335-351.
60. Vilanova, N. and C. Solans, *Vitamin A Palmitate- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes: Characterization, protection and emulsification properties.* Vol. 175. 2015. 529-35.
61. Loftsson, T. and M. Masson, *Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice.* *International Journal of Pharmaceutics*, 2001. **225**(1): p. 15-30.
62. Leclercq, L., *Interactions between cyclodextrins and cellular components: Towards greener medical applications? Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2016. **12**: p. 2644-2662.
63. Miranda, J.C.d., et al., *Cyclodextrins and ternary complexes: technology to improve solubility of poorly soluble drugs.* *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011. **47**(4): p. 665-681.
64. Jacquet, R., *Cyclodextrines hydrophiles : caractérisation et étude de leurs propriétés énantiométrique et complexante : utilisation de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse*, 2006. p. 1 vol. (184 p.).
65. Salustio, P.J., et al., *Advanced technologies for oral controlled release: cyclodextrins for oral controlled release.* *AAPS PharmSciTech*, 2011. **12**(4): p. 1276-92.
66. Francisco B. T. Pessine, A.C.a.G.L.A., *Review: Cyclodextrin Inclusion Complexes Probed by NMR Techniques* 2012
67. Janisse Crestani de Miranda, T.E.A.M., Francisco Veiga, Humberto Gomes Ferraz,, *Cyclodextrins and ternary complexes: technology to improve solubility of poorly soluble drugs.* *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011. **47**(4).
68. Weisse, S., *Complexes cyclodextrines/esther de vitamine A stabilisation, solubilisation et promotion de l'absorption cutanée*, 2002. p. 220 f.
69. Singh, M., R. Sharma, and U.C. Banerjee, *Biotechnological applications of cyclodextrins.* *Biotechnology Advances*, 2002. **20**(5-6): p. 341-359.
70. Aree, T. and N. Chaichit, *Crystal structure of  $\beta$ -cyclodextrin-benzoic acid inclusion complex.* *Carbohydrate Research*, 2003. **338**(5): p. 439-446.
71. Song, L.X., et al., *Inclusion complexation, encapsulation interaction and inclusion number in cyclodextrin chemistry.* *Coordination Chemistry Reviews*, 2009. **253**(9-10): p. 1276-1284.
72. Deunf, E., *Preparation, characterization and electrochemical activation of new metallo-capped-cyclodextrin complexes*, 2010, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.

73. Hill, L.E., C. Gomes, and T.M. Taylor, *Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications*. LWT - Food Science and Technology, 2013. **51**(1): p. 86-93.
74. Wang, J., et al., *Physicochemical and release characterisation of garlic oil- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes*. Food Chemistry, 2011. **127**(4): p. 1680-1685.
75. Khoshtinat, K., et al., *Encapsulation of Iranian Garlic Oil with  $\beta$ -cyclodextrin: Optimization and its Characterization*. Journal of Agricultural Science and Technology, 2017. **19**(1): p. 97-111.
76. Morin-Crini, N. and G. Crini, *Environmental applications of water-insoluble  $\beta$ -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers*. Progress in Polymer Science, 2013. **38**(2): p. 344-368.
77. Trichard, L., et al., *Formulation and characterisation of beads prepared from natural cyclodextrins and vegetable, mineral or synthetic oils*. International Journal of Pharmaceutics, 2008. **354**(1): p. 88-94.
78. Trichard, L., et al.,  *$\alpha$ -Cyclodextrin/oil beads as a new carrier for improving the oral bioavailability of lipophilic drugs*. Journal of Controlled Release, 2007. **122**(1): p. 47-53.
79. Bochot, A., et al.,  *$\alpha$ -Cyclodextrin/oil beads: An innovative self-assembling system*. International Journal of Pharmaceutics, 2007. **339**(1): p. 121-129.
80. Hamoudi, M., et al., *Beads made of cyclodextrin and oil for the oral delivery of lipophilic drugs: In vitro studies in simulated gastro-intestinal fluids*. International Journal of Pharmaceutics, 2011. **416**(2): p. 507-514.
81. Dardeer, H.M., *Importance of cyclodextrins into inclusion complexes*. International Journal of Advanced Research, 2014. **2**(4): p. 414-428.
82. Wang, Z., et al., *A crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin polymer used for rapid removal of a broad-spectrum of organic micropollutants from water*. Carbohydrate Polymers, 2017. **177**: p. 224-231.
83. Szente, L. and J. Szejtli, *Cyclodextrins as food ingredients*. Trends Food Sci Technol. Vol. 15. 2004. 137-142.
84. Cheong, A.M. and K.L. Nyam, *Improvement of physical stability of kenaf seed oil-in-water nanoemulsions by addition of  $\beta$ -cyclodextrin to primary emulsion containing sodium caseinate and Tween 20*. Journal of Food Engineering, 2016. **183**: p. 24-31.
85. Khan, A.R., et al., *Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins*. Chemical Reviews, 1998. **98**(5): p. 1977-1996.
86. Gidwani, B. and A. Vyas, *A Comprehensive Review on Cyclodextrin-Based Carriers for Delivery of Chemotherapeutic Cytotoxic Anticancer Drugs*. Vol. 2015. 2015. 1-15.
87. Fenyvesi, É., *Cyclodextrin polymers in the pharmaceutical industry*. Journal of inclusion phenomena, 1988. **6**(5): p. 537-545.
88. Jiang, H., et al., *Immobilization of  $\beta$ -Cyclodextrin as Insoluble  $\beta$ -Cyclodextrin Polymer and Its Catalytic Performance*. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2012. **20**(4): p. 784-792.
89. Morin-Crini, N., et al., *Water-insoluble  $\beta$ -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers for removal of pollutants from aqueous solutions by sorption processes using batch studies: A review of inclusion mechanisms*. Progress in Polymer Science, 2018. **78**: p. 1-23.
90. Gregorio, C. and M. Michel, *Synthesis and applications of adsorbents containing cyclodextrins*. Journal of Separation Science, 2002. **25**(13): p. 789-813.
91. Zhang, W., M. Chen, and G. Diao, *Preparation and electrochemical behavior of water-soluble inclusion complex of ferrocene with  $\beta$ -cyclodextrin polymer*. Electrochimica Acta, 2011. **56**(14): p. 5129-5136.
92. Nie, S., et al., *In vitro and in vivo studies on the complexes of glipizide with water-soluble  $\beta$ -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers*. Drug development and industrial pharmacy, 2011. **37**(5): p. 606-612.

93. Deveswaran R, S.H.P., Bharath S, Basavaraj BV, Madhavan V, *Development of a novel water soluble  $\beta$ -cyclodextrin epichlorohydrin polymer complex to improve aqueous solubility*. Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences, 2012. **2**(1): p. 325-330.
94. Ciobanu, A., et al., *Inclusion interactions of cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers with linalool and camphor in Lavandula angustifolia essential oil*. Carbohydrate Polymers, 2012. **87**(3): p. 1963-1970.
95. Zhang, W., et al., *Investigation of water-soluble inclusion complex of hypericin with  $\beta$ -cyclodextrin polymer*. Carbohydrate Polymers, 2013. **95**(1): p. 366-370.
96. Zhu, X. and W. Ping, *Optimization of  $\beta$ -cyclodextrin cross-linked polymer for monitoring of quercetin*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2014. **132**: p. 38-43.
97. Poornima, K.N., et al., *SYNTHESIS AND EVALUATION OF  $\beta$ -CYCLODEXTRIN-EPICHLOROHYDRIN INCLUSION COMPLEX AS A PHARMACEUTICAL EXCIPIENT*. 2015. **7**(2): p. 19.
98. Karpkird, T., et al., *Inclusion complexes and photostability of UV filters and curcumin with beta-cyclodextrin polymers: effect on cross-linkers*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2018. **91**(1): p. 37-45.
99. Madene, A., et al., *Flavour encapsulation and controlled release – a review*. International Journal of Food Science & Technology, 2006. **41**(1): p. 1-21.
100. J. Zuidam, N. and V. Nedovic, *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing* 2010.
101. Kamimura, J.A., et al., *Antimicrobial and antioxidant activities of carvacrol microencapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin*. LWT - Food Science and Technology, 2014. **57**(2): p. 701-709.
102. Tao, F., et al., *Synthesis and characterization of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications*. LWT - Food Science and Technology, 2014. **59**(1): p. 247-255.
103. Silva, P.T.d., et al., *Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology*. Ciência Rural, 2014. **44**(7): p. 1304-1311.
104. Kaushik, P., et al., *Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods*. Journal of Functional Foods, 2015. **19**: p. 868-881.
105. Hwang, J.-S., et al., *Preparation and characterization of melamine-formaldehyde resin microcapsules containing fragrant oil*. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2006. **11**(4): p. 332-336.
106. Bakry, A.M., et al., *Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2016. **15**(1): p. 143-182.
107. do Vale Morais, A.R., et al., *Freeze-drying of emulsified systems: A review*. International Journal of Pharmaceutics, 2016. **503**(1-2): p. 102-114.
108. Allen, K.E., B.S. Murray, and E. Dickinson, *Whipped cream-like textured systems based on acidified caseinate-stabilized oil-in-water emulsions*. International dairy journal, 2008. **18**(10-11): p. 1011-1021.
109. Nemichand Kale, S. and S. Deore, *Emulsion Micro Emulsion and Nano Emulsion: A Review*. Vol. 8. 2016. 39-47.
110. Sharma, N., et al., *Preparation and optimization of nanoemulsions for targeting drug delivery*. Int. J. Drug Dev. & Res, 2013. **5**(4): p. 37-48.
111. Traynor, M., et al., *Formation and stability of an oil in water emulsion containing lecithin, xanthan gum and sunflower oil*. Vol. 20. 2013. 2173-2181.
112. Koroleva, M., A. Tokarev, and E. Yurtov, *Simulation of flocculation in W/O emulsions and experimental study*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2015. **481**: p. 237-243.

113. Hamoudi, M.C., *Beads made of cyclodextrin and oil for oral delivery of lipophilic drugs*, 2012, Université Paris Sud - Paris XI.
114. Dollo, G., et al., *Spray-dried redispersable O/W emulsions to improve oral bioavailability of poorly soluble drugs*. Vol. 19. 2003. 273-80.
115. Alencar, J., et al., *Interactions and antioxidant stability of sesamol in dry-emulsions*. Journal of thermal analysis and calorimetry, 2009. **98**(1): p. 133-143.
116. Asbahani, A.E., et al., *Essential oils: From extraction to encapsulation*. International Journal of Pharmaceutics, 2015. **483**(1): p. 220-243.
117. Dange Vidya, S.S., Dr. Magdum C.S., Dr. Mohite S.K., Dr. Nitalikar M.M., *A Review: Dry Emulsion*. Asian Journal of Pharmaceutical Research, 2015. **5**(4): p. 208-210.
118. Fäldt, P. and B. Bergenståhl, *Spray-dried whey protein/lactose/soybean oil emulsions. 1. Surface composition and particle structure*. Food Hydrocolloids, 1996. **10**(4): p. 421-429.
119. Dollo, G., et al., *Spray-dried redispersible oil-in-water emulsion to improve oral bioavailability of poorly soluble drugs*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2003. **19**(4): p. 273-280.
120. Corveleyn, S. and J.P. Remon, *Formulation of a lyophilized dry emulsion tablet for the delivery of poorly soluble drugs*. International Journal of Pharmaceutics, 1998. **166**(1): p. 65-74.
121. P. Chomto, G.C., K. Tepsukon, P. Yodwandee, P. Laovanichkul, S. Kongmuang, *Formulation of Cold Pressed-Coconut Oil Dry Emulsion* Pharmaceutical Formulation and Development, 2015. **1060**: p. 91-94.
122. Pongsamart, K., P. Kleinebudde, and S. Puttipipatkachorn, *Preparation of fenofibrate dry emulsion and dry suspension using octenyl succinic anhydride starch as emulsifying agent and solid carrier*. International Journal of Pharmaceutics, 2016. **498**(1-2): p. 347-354.
123. Ge, Z., et al., *Redispersible, dry emulsion of lovastatin protects against intestinal metabolism and improves bioavailability*. Acta Pharmacol Sin, 2008. **29**(8): p. 990-7.
124. Christensen, K.L., G.P. Pedersen, and H.G. Kristensen, *Physical stability of redispersible dry emulsions containing amorphous sucrose*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2002. **53**(2): p. 147-153.
125. Haritha M, P.M., Abeda Aqther, Neeharika R, Pragati Kumar B, Nimra College of Pharmacy, Vijayawada, AP, India, *DRY EMULSION: A PROMISING DOSAGE FORM TO DELIVER LIPOPHILIC DRUG MOLECULES WITH IMPROVED STABILITY AND EFFECTIVENESS*. Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology, 2013. **1**(1).
126. Gallarate, M., et al., *Formulation of Dry Emulsion for Topical Applications*. Journal of Dispersion Science and Technology, 2009. **30**(6): p. 823-833.
127. Riyajan, S.-A. and J. Sakdapipanich, *Encapsulated neem extract containing Azadiractin-A within hydrolyzed poly(vinyl acetate) for controlling its release and photodegradation stability*. Vol. 152. 2009. 591-597.
128. Devi, N. and T.K. Maji, *Study of Complex Coacervation of Gelatin A with Sodium Carboxymethyl Cellulose: Microencapsulation of Neem (Azadirachta indica A. Juss.) Seed Oil (NSO)*. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 2011. **60**(13): p. 1091-1105.
129. Bagle, A.V., et al., *Controlled Release Study of Phenol Formaldehyde Microcapsules Containing Neem Oil as an Insecticide*. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 2013. **62**(8): p. 421-425.
130. Ayala-Zavala, J.F., et al., *Microencapsulation of cinnamon leaf (Cinnamomum zeylanicum) and garlic (Allium sativum) oils in  $\beta$ -cyclodextrin*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2008. **60**(3-4): p. 359-368.
131. Wang, T., et al., *Release characteristics and antibacterial activity of solid state eugenol/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2011. **71**(1-2): p. 207-213.

132. GARCÍA, M.F., et al. *Microencapsulation of essential oils by interfacial polymerization using polyurea as a wall material*. in *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*. 2015.5,165-177.
133. Kotronia, M., et al., *Encapsulation of Oregano (Origanum onites L.) essential oil in  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD): Synthesis and characterization of the inclusion complexes*. Bioengineering, 2017. **4**(3): p. 74.
134. Guimaraes, A.G., et al., *Encapsulation of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano, with  $\beta$ -cyclodextrin, improves the pharmacological response on cancer pain experimental protocols*. Chemico-biological interactions, 2015. **227**: p. 69-76.
135. Rakmai, J., et al., *Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin*. Food Hydrocolloids, 2017. **65**: p. 157-164.
136. Rakmai, J., et al., *Antioxidant and antimicrobial properties of encapsulated guava leaf oil in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin*. Industrial Crops and Products, 2018. **111**: p. 219-225.
137. Pasrija, D., et al., *Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality*. LWT-Food Science and Technology, 2015. **64**(1): p. 289-296.
138. Pasukamonset, P., O. Kwon, and S. Adisakwattana, *Alginate-based encapsulation of polyphenols from Clitoria ternatea petal flower extract enhances stability and biological activity under simulated gastrointestinal conditions*. Food Hydrocolloids, 2016. **61**: p. 772-779.
139. Vlaia, L.L., et al., *Preparation and Characterization of Inclusions Complexes Between Propolis Ethanolic Extracts and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin*. Rev. Chim.(Bucharest), 2016. **67**: p. 378.
140. Diamanti, A.C., et al., *Green extraction of polyphenols from whole pomegranate fruit using cyclodextrins*. Food Chemistry, 2017. **214**: p. 61-66.
141. Gossé, B., et al., *Analysis of Components of Neem (Azadirachta indica) Oil by Diverse Chromatographic Techniques*. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2005. **28**(14): p. 2225-2233.
142. Assami, K., et al., *Ultrasound-assisted aromatisation with condiments as an enabling technique for olive oil flavouring and shelf life enhancement*. Food analytical methods, 2016. **9**(4): p. 982-990.
143. E., R., et al., *Polycondensation of cyclodextrins with epichlorohydrin. Influence of reaction conditions on the polymer structure*. Macromolecular Symposia, 1997. **122**(1): p. 229-234.
144. Renard, E., et al. *Characterization and Structure of Cyclodextrin -Epichlorohydrin Polymers — Effects of Synthesis Parameters*. in *Proceedings of the Eighth International Symposium on Cyclodextrins*. 1996. Dordrecht: Springer Netherlands.
145. Renard, E., et al., *Preparation and characterization of water soluble high molecular weight  $\beta$ -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers*. European Polymer Journal, 1997. **33**(1): p. 49-57.
146. Kalogeropoulos, N., et al., *Polyphenol characterization and encapsulation in  $\beta$ -cyclodextrin of a flavonoid-rich Hypericum perforatum (St John's wort) extract*. LWT - Food Science and Technology, 2010. **43**(6): p. 882-889.
147. Rakmai, J., et al., *Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin*. Food Hydrocolloids, 2017. **65**: p. 157-164.
148. Liu, H., et al., *Physicochemical characterization and pharmacokinetics evaluation of  $\beta$ -caryophyllene/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex*. International Journal of Pharmaceutics, 2013. **450**(1): p. 304-310.
149. Santos, E.H., et al., *Characterization of carvacrol beta-cyclodextrin inclusion complexes as delivery systems for antibacterial and antioxidant applications*. LWT - Food Science and Technology, 2015. **60**(1): p. 583-592.

150. Liu, Y., et al., *Inclusion complexes of azadirachtin with native and methylated cyclodextrins: solubilization and binding ability*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2005. **13**(12): p. 4037-4042.
151. Nisrin, B., *Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées*, in *Rapport d'activité MAB et UNESCO*, P.d. recherche, Editor 2008, Faculté des sciences-rabat, Maroc
152. Nisrin, B., *Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse*, 2013, UNIVERSITÉ MOHAMMED V – AGDAL, FACULTÉ DES SCIENCES-RABAT.
153. Ponce, A.G., et al., *Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard*. LWT - Food Science and Technology, 2003. **36**(7): p. 679-684.
154. Chenni, M., *Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic « Ocimum basilicum L. » extraite par hydro-distillation et par micro-ondes* 2016, Université d'Oran.
155. Saidj, F., et al., *Chemical Composition and Insecticidal Properties of Thymus numidicus (Poiret) Essential Oil from Algeria*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2008. **11**(4): p. 397-405.
156. Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, and C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. LWT - Food Science and Technology, 1995. **28**(1): p. 25-30.
157. Chenni, M., et al., *Comparative Study of Essential Oils Extracted from Egyptian Basil Leaves (Ocimum basilicum L.) Using Hydro-Distillation and Solvent-Free Microwave Extraction*. Molecules, 2016. **21**(1): p. 113.
158. Hajji, T., et al., *Identification and characterization of phenolic compounds extracted from barley husks by LC-MS and antioxidant activity in vitro*. Journal of Cereal Science, 2018. **81**: p. 83-90.
159. Alaoui Ismaili, S., *Valorisation de deux plantes marocaines Melia azedarach et Silybum marianum*. 2016. UNIVERSITÉ MOHAMMED V – AGDAL, FACULTÉ DES SCIENCES-RABAT.
160. Hadjiakhoondi, A., et al., *Fatty Acid Composition and Toxicity of Melia azedarach L. Fruits against Malaria Vector Anopheles stephensi*. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006. **2**(2): p. 97-102.
161. Ncube, P., R.W. Krause, and B.B. Mamba, *Detection of chloroform in water using an azo dye-modified  $\beta$ -cyclodextrin-Epichlorohydrin copolymer as a fluorescent probe*. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C, 2014. **67**: p. 79-85.
162. Salgin, S., U. Salgin, and M. AyluÇtarhan, *Synthesis of  $\beta$ -Cyclodextrin-Epichlorohydrin Nanospheres: Its Application for Removal of p-nitrophenol*. Vol. 16. 2016. 1-10.
163. Hadian, Z., et al., *Preparation and Characterization of Nanoparticle  $\beta$ -Cyclodextrin: Geraniol Inclusion Complexes*. Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR, 2018. **17**(1): p. 39.
164. Zhao, R., et al., *NMR Study on the Inclusion Complexes of  $\beta$ -Cyclodextrin with Isoflavones*. Molecules, 2016. **21**(4): p. 372.
165. Zhao, R., T. Tan, and C. Sandström, *NMR studies on puerarin and its interaction with beta-cyclodextrin*. Journal of biological physics, 2011. **37**(4): p. 387-400.
166. Phunpee, S., et al., *Encapsulation of lemongrass oil with cyclodextrins by spray drying and its controlled release characteristics*. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 2017. **81**(4): p. 718-723.
167. Dickinson, E., *Structure, stability and rheology of flocculated emulsions*. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 1998. **3**(6): p. 633-638.
168. Hemar, Y., et al., *Influence of xanthan gum on the formation and stability of sodium caseinate oil-in-water emulsions*. Food Hydrocolloids, 2001. **15**(4): p. 513-519.

169. Choi, M.-J., et al., *Physical and light oxidative properties of eugenol encapsulated by molecular inclusion and emulsion–diffusion method*. Food Research International, 2009. **42**(1): p. 148-156.
170. Carpinella, M.C., et al., *Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from Melia azedarach (Meliaceae) with potential use for pest management*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. **51**(2): p. 369-374.
171. Wandscheer, C.B., et al., *Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of Melia azedarach and Azadirachta indica against the dengue mosquito Aedes aegypti*. Toxicon, 2004. **44**(8): p. 829-835.
172. Bounechada, M. and R. Arab, *Effet insecticide des plantes Melia azedarach L. et Peganum harmala L. sur Tribolium castaneum Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae)*. 2011.
173. Teixeira, B., et al., *Synthesis and Characterization of Nano-Encapsulated Black Pepper Oleoresin using Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin for Antioxidant and Antimicrobial Applications*. Vol. 78. 2013. 1913-1920.
174. Li, Y., et al., *Microencapsulation of plum (Prunus salicina Lindl.) phenolics by spray drying technology and storage stability*. Food Science and Technology, vol 38, 2017.



# Inclusion complexes of *Melia azedarach* L. seed oil/ $\beta$ -cyclodextrin polymer: preparation and characterization

Assia Benyacoub<sup>1</sup> · Abdelhak Skender<sup>1,2</sup> · Khalida Boutemak<sup>3</sup> · Amel Hadj-Ziane-Zafour<sup>1</sup>

Received: 30 May 2018 / Accepted: 20 September 2018  
© Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences 2018

## Abstract

The objective of the present study is the encapsulation of *Melia azedarach* L. seed oil by the  $\beta$ -cyclodextrin–epichlorohydrin polymer to protect it against external environmental factors and also to increase its solubility. The encapsulation of this oil was carried out by the lyophilization method. The chemical composition of the extracted oil revealed that the main components identified were: linoleic (62.38%), oleic (26.95%), palmitic (05.80%) and stearic (02.37%) acids. Characterization of the  $\beta$ -cyclodextrin–epichlorohydrin polymer determined by different analytical techniques: nuclear magnetic resonance spectroscopy (<sup>1</sup>H NMR), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM) showed that the  $\beta$ -cyclodextrin–epichlorohydrin polymer adopts inclusion complex formation with  $\beta$ -cyclodextrin, a high molecular weight and higher solubility. The encapsulation of the oil with this polymer was also characterized and showed that the capsules obtained had an average size of  $232.133 \pm 3.52$  nm with a polydispersity index of  $0.226 \pm 0.010$ .

**Keywords** *Melia azedarach* L. seed oil ·  $\beta$ -cyclodextrin–epichlorohydrin polymer · Encapsulation · Freeze-drying method · Characterization

## Introduction

*Melia azedarach* Linn. (*Meliaceae*), known as “Persian lilac” is a large tree native to Asia. It is found in China, India, South and Central America (Aoudia et al. 2012; Ben Ghnaya et al. 2013). Previous literature revealed that *Melia azedarach* (*M. azedarach*) has been successfully introduced as ornamental species because of its high tolerance to extreme environments and great potential to compete for nutrition resource as well as its high growth rate and prolific seed production (M’rabet et al. 2017). Subsequently, it was adapted in the Middle East and North Africa (Alaoui Ismaili et al. 2016). *M. azedarach* is known for its anticancer, anti-malarial, analgesic, anti-inflammatory, anti-helminthic,

antilithic, diuretic, astringent and stomachic properties (Faheem Khan et al. 2018). These therapeutic virtues are due to its richness in chemical compounds such as triterpenoids, limonoids, fatty acids and phenolic compounds (Kumazawa et al. 2013). Previous literature revealed that *M. azedarach* seed oil is composed of four important fatty acids: palmitic acid, stearic acid, oleic acid and linoleic acid (Bachheti et al. 2012). It is reported that this seed oil possesses several medicinal properties such as: anti-ulcer, anticancer, anti-diabetic, anti-inflammatory, antifungal, insecticidal, antibacterial and antioxidant (Maciel et al. 2006; Viqar Khan et al. 2011; Erdogan Orthan et al. 2012). However, its use has been limited due to its strongly bitter taste and strong odor (Devi and Maji 2011). Also, this oil is known for its thermosensitivity and may be subject to change when it is exposed to light for long periods of time or at temperature approaching 50 °C. To remedy this problem of oil instability, the encapsulation method is an effective means to protect seeds’ oil against environmental damage and ensure its shelf life (Devi and Maji 2010). Cyclodextrins have been widely used for the encapsulation of essential oils (Cabral Marques. 2010). They can create a protective barrier around the oil to protect it from environmental damage. Cyclodextrins (cyclic oligosaccharide)

✉ Amel Hadj-Ziane-Zafour  
amelzafour@yahoo.fr

<sup>1</sup> Laboratoire de Génie Chimique, Université de Blida 1,  
Route de Soumaa, B.P.270, Blida, Algeria

<sup>2</sup> Laboratoire Matériaux et Environnement, Université Yahia  
Farés, 26000 Médéa, Algeria

<sup>3</sup> Laboratoire d’analyse fonctionnelle des Procédés Chimiques,  
Université de Blida 1, Route de Soumaa, B.P.270, Blida,  
Algeria



have the ability to form inclusion complexes with hydrophobic molecules (Hill et al. 2013). The most known and used cyclodextrins are:  $\alpha$ -cyclodextrin ( $\alpha$ -CD),  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) and  $\gamma$ -cyclodextrin ( $\gamma$ -CD) composed, respectively, of six, seven and eight glucose units (Cabral Marques. 2010; Dima et al. 2014; Galvão et al. 2015).  $\beta$ -cyclodextrin is characterized by its ability to improve not only the solubility, stability and bioavailability of drugs, but can also reduce the volatility of cosmetic fragrances and mask the odors and unpleasant tastes of certain compounds. However, the use of  $\beta$ -CD is limited in formulations because of its low solubility in water (1.8 g in 100 ml of water at 25 °C) and its toxicity (Gidwani and Vyas 2014). These limitations could be eliminated as much as possible using hydrophilic and non-toxic  $\beta$ -CD polymers. The cyclodextrin–epichlorohydrin polymer is a high molecular weight compound obtained by the crosslinking reaction between  $\beta$ -cyclodextrin and epichlorohydrin in an alkaline medium. Various studies (Wang et al. 2017; Karpkird et al. 2018) have shown that this polymer can increase the solubility of the guest molecule and can be soluble or insoluble in water. Cyclodextrin molecules adopt a truncated cone-shaped structure with a hydrophobic cavity and a hydrophilic surface that forms an inclusion complex with a wide variety of guests (Wang et al. 2014; Santos et al. 2015). Previous works have already proved the effectiveness of  $\beta$ -cyclodextrin–epichlorohydrin polymer in the encapsulation and maintenance of the pharmacological properties of certain active principles such as glipizide (Nie et al. 2011), aceclofenac (Deveswaran et al. 2012) and famotidine (Poornima et al. 2015). Different techniques used for encapsulation are emulsification, spray drying, coacervation, lyophilization, in situ polymerization, etc. But, to our knowledge, there was no study reported on the encapsulation of vegetable oil by the  $\beta$ -cyclodextrin–epichlorohydrin polymer.

The aim of the present study is the encapsulation of the vegetable oil extracted from the seeds of *M. azedarach*, by the polymer  $\beta$ -cyclodextrin–epichlorohydrin polymer using the freeze-drying method, to protect seeds oil against external environmental factors, to ensure its stability and maintain its biological properties.

## Experimental

### Plant material

*M. azedarach* fruits were collected in March 2016 in Blida, Algeria (36°30'14"N, 2°51'44"E). Systematically, plant samples were identified and authenticated by the botanic laboratory of Agriculture department (University of Blida1, Algeria). Fruits were cleaned, immersed in water for 24 h to separate the fleshy pulp from the seeds. Then, the seeds

were dried in air and in the shade and were ground into fine powder. Thereafter, the powder was stored in dark bags, in a dry environment until use.

### Solvents and reagents

The solvents and reagents which have been used are as follows:  $\beta$ -cyclodextrin (Sigma-Aldrich), epichlorohydrin (purity of 99%) (Fluka), petroleum ether (60–80 °C) (Panreac Quimica Sau). Hydrochloric acid (37 °C) and ethanol (96%) (Prolabo), heptane (97–99 °C) (Riedel-de Haen), sodium hydroxide (97%), and acetone (99.5%) were purchased from Biochem Chemopharma. All chemicals have been used as they were purchased without further purification.

### Extraction of the *M. azedarach* seed oil

100 g of *M. azedarach* seeds' powder was extracted in Soxhlet apparatus with 600 ml of petroleum ether (60–80 °C) during 8 h, refluxing in a soxhlet apparatus. The extraction process is described as follows. Samples are placed into cartridges, which are themselves placed in a soxhlet apparatus of 500 ml. The balloons used were 1000 ml flasks and were placed in suitable heating mantles and connected to the refrigerating system. Before this, petroleum ether (60–80 °C) was added into the balloons as a solvent due to its fairly narrow boiling point, whereas the total extraction time is 8 h. And finally, thereafter, petroleum ether was evaporated under reduced pressure (rotary evaporator (Buchi heating bath) to obtain oil. The collected oil was stored in the freezer for further analysis.

### Characterization of *M. azedarach* seed oil

#### GC–MS analysis

Fatty acid composition was analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC–MS) (Hewlett–Packard computerized system comprising a 6890 gas chromatograph coupled to a 5973 A mass spectrometer) using fused silica capillary column with polar phase, Stabilwax, consisting of Carbowax™ PEG (60 m × 0.25 mm internal diameter × 0.25- $\mu$ m film thickness). The oven temperature was programmed at 120 °C for 2 min, then raised to 200 °C at 10 °C/min and held at this temperature, for 15 min, then raised to 240 °C for 2 min. The carrier gas was helium. Flow rate of 0.5 ml/min. The ionization mode used was electronic impact at 70 eV.

#### Chemical functionalization of $\beta$ -cyclodextrin

$\beta$ -cyclodextrin–epichlorohydrin ( $\beta$ -CD–EP) polymer has been prepared according to the protocol proposed by

(Renard et al. 1996; Renard et al. 1997a, b), with some modification. 0.88 mmol of  $\beta$ -CD was stirred with 5 ml of sodium hydroxide aqueous solution [10% (w/w)] for 24 h at 25 °C with magnetic stirrer, then 12.7 mmol of epichlorohydrin (EP) was added and the mixture was stirred at 60 °C for 4 h. In addition, 15 ml of acetone was added to inhibit the reaction. The mixture was stored at room temperature for 30 min, and then the acetone was removed by decantation and incubated overnight at 50 °C. After cooling, the solution was neutralized by adding hydrochloric acid (HCl 6N) and the solution was thereafter evaporated to dryness under a tray dryer at 50 °C. After this step, 25 ml of acetone was added to the resulting residue leading to the formation of white precipitate, and thereafter decanted, and finally the white product was dried in the oven at 50 °C for 24 h.

## Characterization of $\beta$ -cyclodextrin–epichlorohydrin polymer

### Fourier transform infrared analysis (FT-IR)

The FT-IR spectra of  $\beta$ -CD and  $\beta$ -CD–EP polymer have been recorded between 400 and 4000  $\text{cm}^{-1}$  using a BRUKER TENSOR II with a resolution of 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### $^1\text{H}$ NMR spectroscopy

NMR spectra were recorded with a Bruker Ascend 400 MHz, where the  $^1\text{H}$  NMR spectra of  $\beta$ -CD and  $\beta$ -CD–EP polymer were recorded at 400 MHz in DMSO solution at 30 °C.

### Scanning electron microscopy (SEM)

The morphology of  $\beta$ -CD and  $\beta$ -CD–EP polymer were analyzed using a Jeol JSM-6360 LV scanning electron microscopy with an LV acceleration voltage of 15 kV, and the image was recorded at 100 $\times$  magnification.

### Encapsulation of *M. azedarach* seed oil

The *M. azedarach* seed oil encapsulation was achieved by freeze-drying method. 2.5 ml of *M. azedarach* seed oil was added to 10 ml of distilled water which contained (0.8 g of  $\beta$ -CD–EP polymer and 0.2 g of  $\beta$ -CD). Then, the two liquid phases were homogenized in a high shear mixer (IKA-T25 digital Ultra-Turrax) for 15 min to obtain a homogeneous system. The obtained emulsion was then lyophilized for 24 h to remove the water.

## Characterization of *M. azedarach* seed oil encapsulated

### UV–visible analysis (UV–Vis)

The UV–visible absorption spectra of *M. azedarach* seed oil,  $\beta$ -CD–EP polymer and the encapsulated *M. azedarach* seed oil were recorded in the range of 210–350 nm using UV-1800 spectrophotometer (SHIMADZU, Japan). The samples have been prepared following the protocol described by (Liu et al. 2013; Rakmai et al. 2017) with some modifications. 5 mg/ml of  $\beta$ -CD–EP polymer was dissolved in distilled water, 0.5 g/ml of *M. azedarach* seed oil was dissolved in heptane and 5 mg/ml of encapsulated *M. azedarach* seed oil was melted in heptane, where the mixture has been shaken for 10 min. The supernatant was then separated by centrifugation at 500 rpm for 10 min and diluted in heptane.

### Dynamic light scattering (DLS)

The particle size and polydispersity index (PDI) measurements have been achieved using static light scattering technique (SZ-100, HORIBA scientific). The polydispersity index reflects the distribution of particles size in a suspension. 35 mg of encapsulated *M. azedarach* seed oil were suspended in 5 ml of distilled water and measurement was carried out at 25 °C, at a scattering angle of 90° (Santos et al. 2015).

## Results and discussion

### Determination of fatty acid composition

*M. azedarach* seed oil belongs to the linoleic–oleic acid group (Alaoui Ismaili et al. 2016). The derivatives' constituents of fatty acids resulted from extraction were identified by GC–MS. Thus, four components have been detected and representing 97.50% of the total extracts (Table 1). It should be noted, that the major constituents identified are summarized as follows: linoleic (62.38%), oleic (26.95%), palmitic (5.8%) and stearic (2.37%) acids. Elsewhere, Hadjiakhoondi

**Table 1** Fatty acid (%) composition of Algerian *M. azedarach* seed oil

Compounds of fatty acid	%
Palmitic acid (C16:0)	05.80
Oleic acid (C18:1)	26.95
Linoleic acid (C18:2)	62.38
Stearic acid (C18:0)	02.37

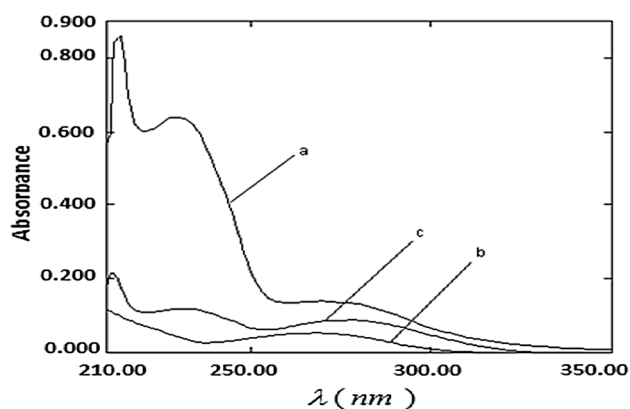


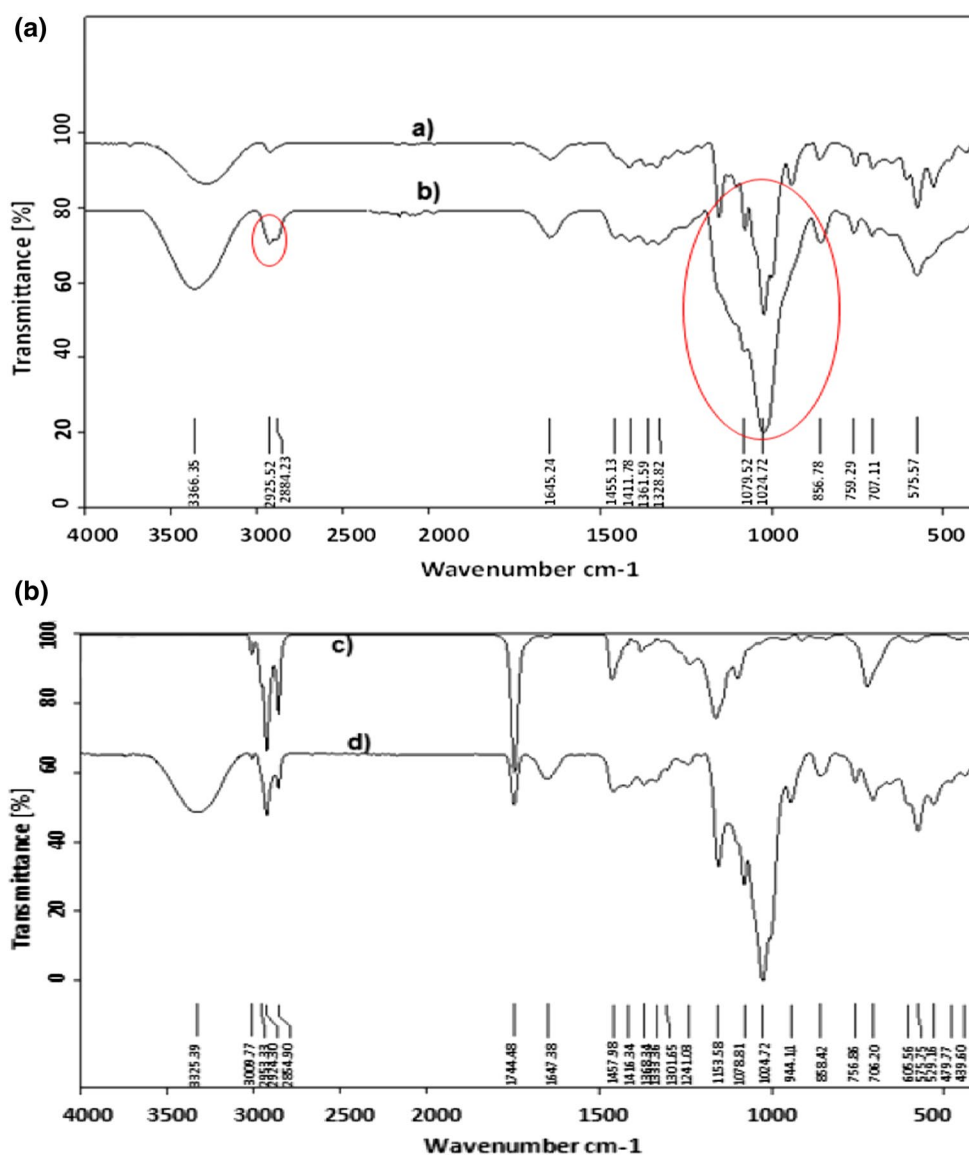
Fig. 1 UV absorption spectrum of *Melia azedarach* seed oil (a),  $\beta$ -CD-EP polymer (b), *Melia azedarach* seed oil encapsulated (c)

et al. (2006) in the same context, the authors reported the composition of thirteen fatty acids of *M. azedarach* oil of Iran, where four among them presents the main composition of the extracts. The major components were methyl linoleate (9.8%), methyl linolenate (16.1%) and methyl palmitate (18.8%). Alaoui Ismaili et al. (2016) isolated twelve fatty acids from the oil of Morocco seeds, among them, the four important fatty acids were oleic (18.9%), linoleic (69.2%), stearic (3.3%) and palmitic (6.7%).

### UV-visible spectroscopy analysis

The UV-visible spectra of the extracted oil indicates bands at 213 and 230 nm, these bands represent the electronic transition ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) of the C=C bonds. A characteristic band of the ketone group (C=O) at 282 nm corresponds to the electronic transition  $n \rightarrow \pi^*$  (Fig. 1a). However, the spectrum

Fig. 2 The FT-IR spectra of  $\beta$ -CD (a),  $\beta$ -CD-EP polymer (b), *Melia azedarach* seed oil (c) and the encapsulated *Melia azedarach* seed oil (d)



of the encapsulated oil was consistent compared to the *M. azedarach* seed oil (Fig. 1c), indicating their encapsulation in the matrix of  $\beta$ -CD-EP polymer.

### Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

The FT-IR spectra of  $\beta$ -CD,  $\beta$ -CD-EP polymer, *M. azedarach* seed oil and encapsulated *M. azedarach* seed oil are presented in Fig. 2. The FT-IR spectrum of  $\beta$ -CD (Fig. 2a) shows high absorption bands at  $3285.58\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{OH}$  stretching vibration),  $2924.64\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}-\text{H}$  stretching vibration),  $1415.49\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}-\text{H}$  deformation vibration), and  $1077.26\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}-\text{O}$  stretching vibration). However, on insertion of the epichlorohydrin molecule into the glucose unit as shown in Fig. 1b, the spectrum indicates the presence of an  $-\text{OH}$  band at  $3366.35\text{ cm}^{-1}$ , and the  $\text{C}-\text{O}$  as well as  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  bonds deformation peaks at  $1079.52\text{ cm}^{-1}$ . These bands and peaks are conserved in the  $\beta$ -CD-EP molecule, otherwise, an increase in the peaks of the  $-\text{OH}$ ,  $\text{C}-\text{H}$  bonds of the methylene and methyl groups located, respectively, at  $3366.35$  and  $2925.52\text{--}2884.23\text{ cm}^{-1}$  is seen. It should be noted that the peaks are more spread out at  $3020\text{ cm}^{-1}$  due to the  $\text{C}-\text{H}$  bond of the methyl group. The IR spectrum of the encapsulated *M. azedarach* seed oil in  $\beta$ -CD-EP polymer (Fig. 2d) indicates the peaks already identified in the IR spectrum of  $\beta$ -CD-EP polymer, and the characteristic peak of the *M. azedarach* seed oil at  $3009.37\text{ cm}^{-1}$  specific to the vibration mode of the  $\text{C}-\text{H}$  bond of the alkene and especially linoleate and oleate. The  $\text{C}-\text{H}$  vibration peaks of the methenyl, methylene

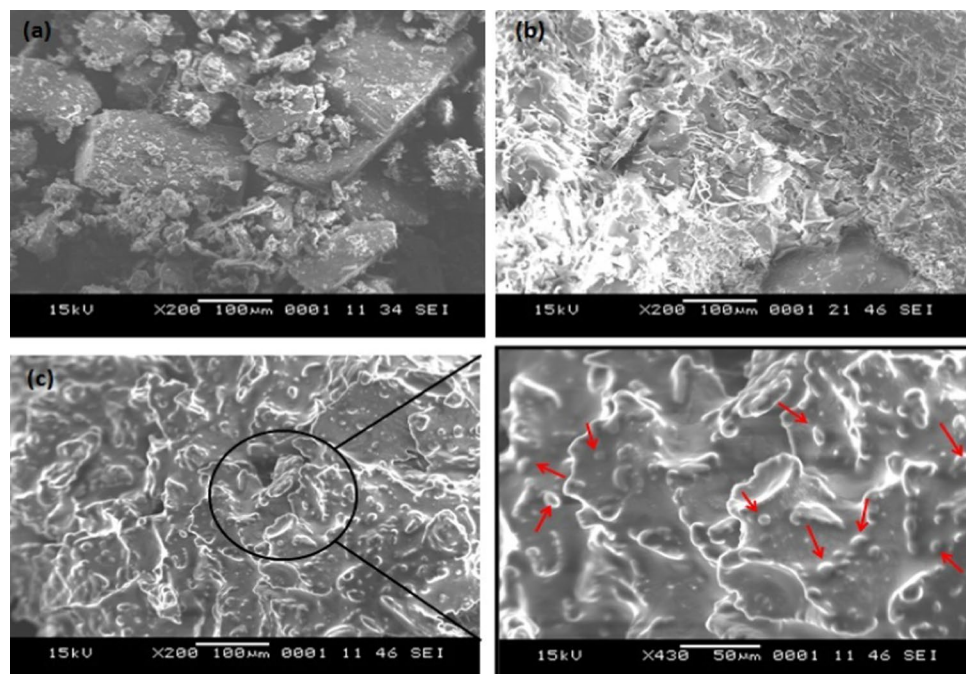
and methyl groups (Fig. 2c) are more pronounced, whereas the most important and most characteristic point is the carbonyl peak ( $\text{C}=\text{O}$ ) of the ester function which is more apparent in the *M. azedarach* seed oil located at  $1744\text{ cm}^{-1}$ .

### Scanning electron microscopy (SEM)

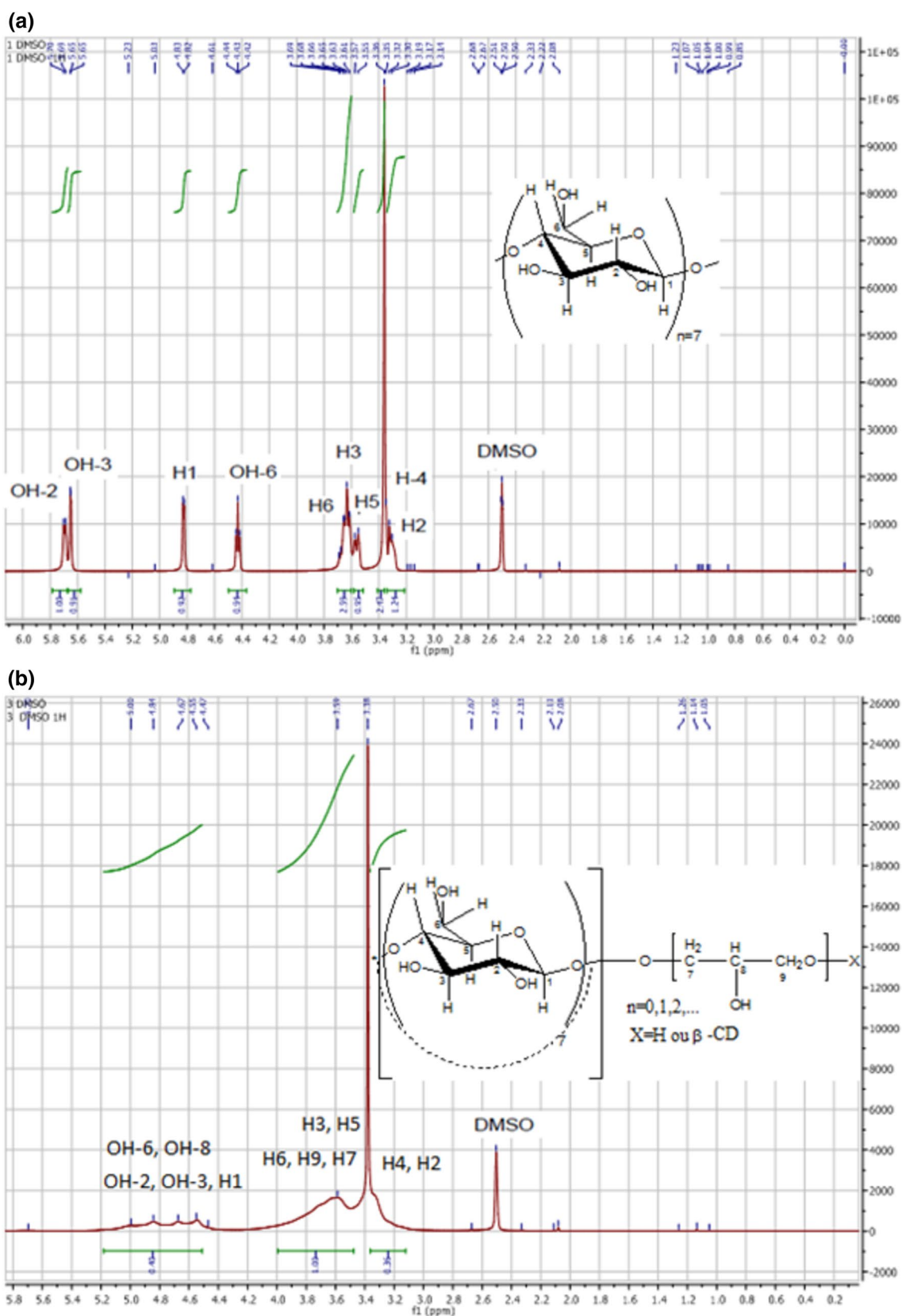
Figure 3 presents the scanning electron microscope (SEM) images of  $\beta$ -CD,  $\beta$ -CD-EP polymer and the encapsulated *M. azedarach* seed oil at 100 times magnifications. Figure 3a shows different sizes of the rectangular crystals of  $\beta$ -CD (Guimaraes et al. 2015; Phunpee et al. 2017).  $\beta$ -CD-EP polymer had completely a different structure than  $\beta$ -CD (Fig. 3b). Morphology of the capsules loaded with *M. azedarach* seed oil appeared to have spherical and agglomerated shape (Fig. 3c).

### Nuclear magnetic resonance $^1\text{H}$ NMR

The  $^1\text{H}$  NMR spectrum was used to identify the functionalization of  $\beta$ -CD by epichlorohydrin and also to identify the encapsulation of *M. azedarach* seed oil. Figure 4a shows the  $^1\text{H}$  NMR spectra of  $\beta$ -cyclodextrin in DMSO, while all protons of  $\beta$ -CD are appearing in DMSO. Hence, the hydroxyl groups attached to carbons 2, 3 inside the ring of  $\beta$ -CD were assigned, respectively, to peaks at  $\delta=5.695\text{ ppm}$  (1d, 1 H,  $j=5.6\text{ Hz}$ ) and  $5.651\text{ ppm}$  (1d, 1 H,  $j=5.6\text{ Hz}$ ), the C6 hydroxyl group corresponds to the peak at  $4.437\text{ ppm}$  (1t, 1 H,  $j=5.6\text{ Hz}$ ), and the C1 hydrogen to the peak at  $4.826\text{ ppm}$



**Fig. 3** SEM images of  $\beta$ -CD (a),  $\beta$ -CD-EP polymer (b) and encapsulated *Melia azedarach* seed oil (c)



**Fig. 4**  $^1\text{H}$  NMR spectra: The  $^1\text{H}$  NMR spectra (400 MHz, DMSO) of  $\beta$ -CD (a),  $\beta$ -CD-EP polymer (b), *M. azedarach* seed oil (c) and encapsulated *M. azedarach* seed oil (d)

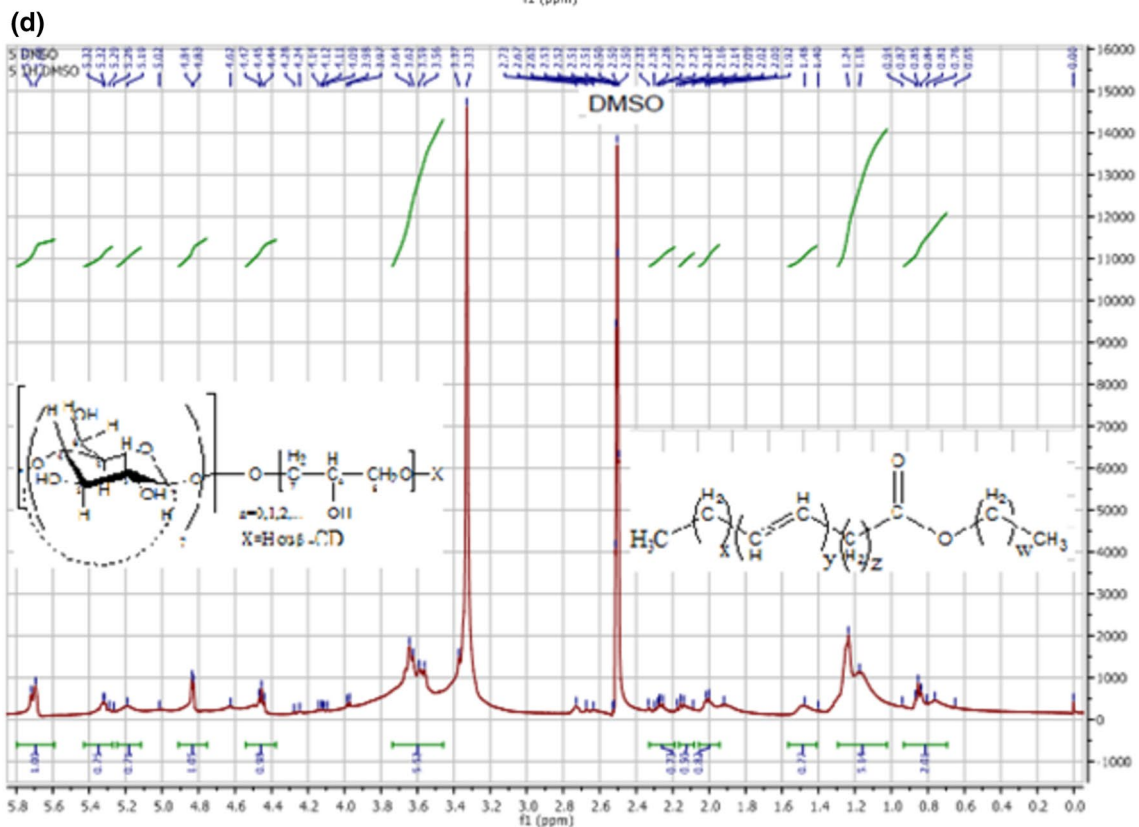
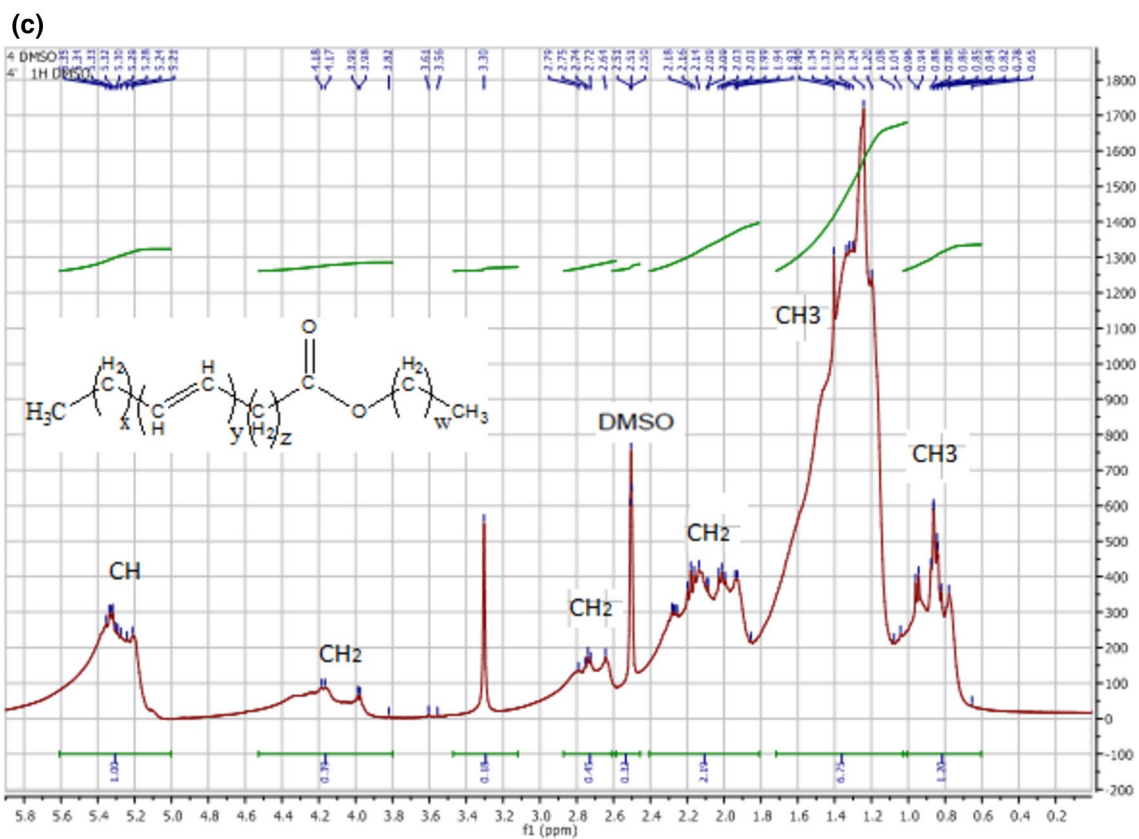
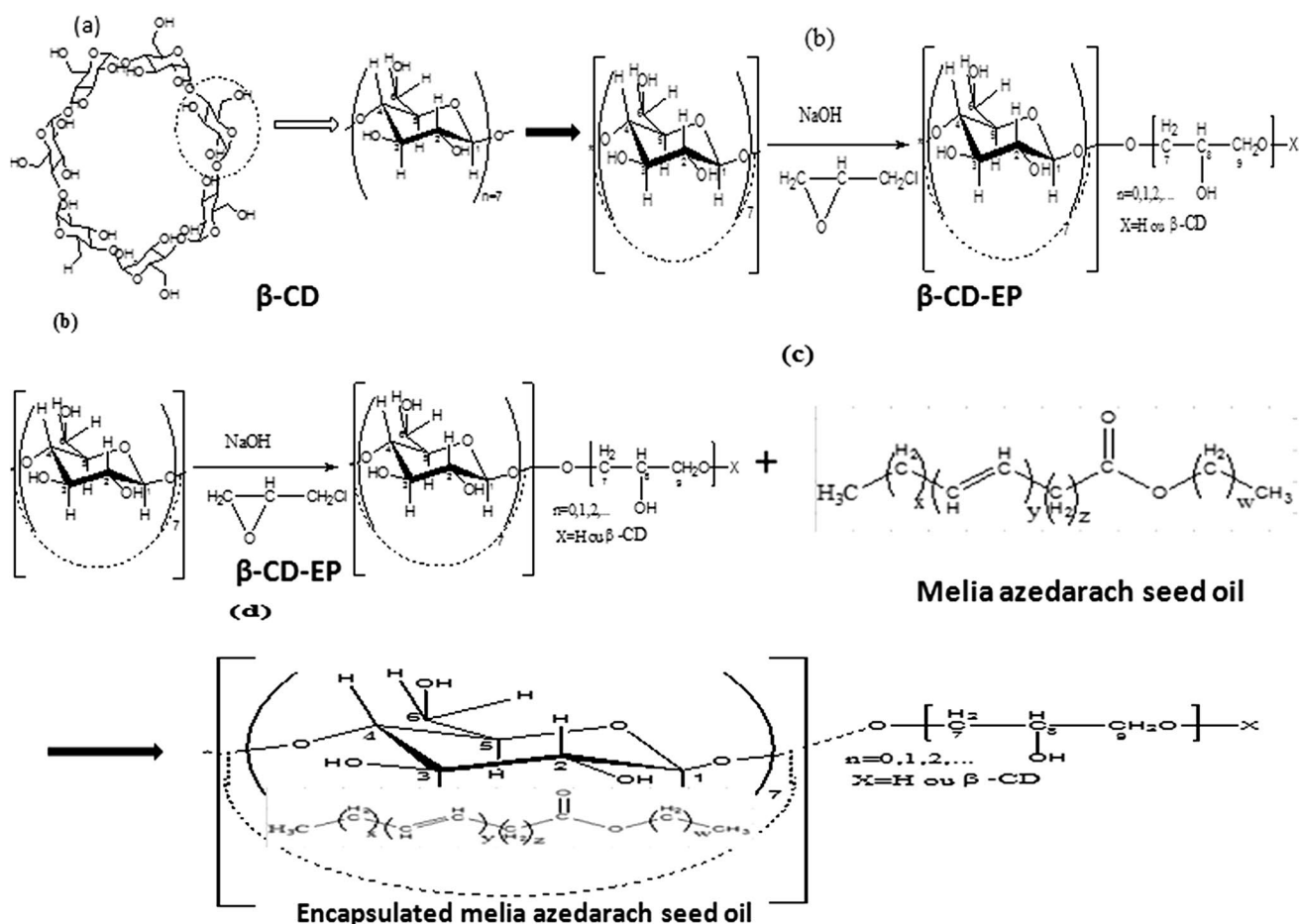


Fig. 4 (continued)



**Scheme 1** Scheme represents encapsulation *Melia azedarach* seed oil

(1d, 1 H,  $j=3.2$  Hz). The two hydrogens of C6 and C3 are assigned to the peak at 3.63 ppm. However, the signal of hydrogen of carbon 5 is visible at 3.56 ppm, whereas the hydrogen of carbon 4 and 2 are to the peak at 3.17 ppm. As shown in Fig. 4b, the addition of epichlorohydrin to  $\beta$ -CD led to the insertion of epichlorohydrin into the structure of  $\beta$ -CD. This product is confirmed on the  $^1\text{H}$  NMR spectrum or the hydroxyls have decreased in intensity and especially the hydroxyl of carbon C6 which has completely disappeared, thus indicating its total substitution. The  $^1\text{H}$  NMR spectrum of the *M. azedarach* seed oil (Fig. 4c) shows the presence of C–H specific signals related to the linoleic and oleic acids identified in the composition of the vegetable oil of *M. azedarach*. The methylen  $\text{CH}_2$  and methyl groups are naturally present within the structure of the *M. azedarach* seed oil compounds. The  $^1\text{H}$  NMR spectrum of the capsules (Fig. 4d) shows two totally distinct regions. For the region of weak chemical shifts, we find the oil structure of *M. azedarach* seeds encapsulated in the  $\beta$ -CD–EP, where the other

region allows to highlight the structure of  $\beta$ -CD modified with epichlorohydrin (Scheme 1).

### Dynamic light scattering (DLS)

In the presented study, the polydispersity index (PDI) value of *M. azedarach* seed oil encapsulated was  $0.226 \pm 0.010$  and the particle diameter ( $Z$ -average) was determined as  $232.133 \pm 3.52$  nm. Our results are close to those reported in previous works. The PDI value of the inclusion complex of clove essential oil by hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD) was  $0.25 \pm 0.3$  and the particle size was  $165.87 \pm 1.65$  nm (Babaoglu et al. 2017). The PDI values of the inclusion complex of eugenol- $\beta$ -CD and eugenol-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD) were 0.27 and 0.44. Particle sizes were determined as 320 nm and 312 nm, respectively (Choi et al. 2009).

## Conclusion

The focus of the various experiments in this study is to describe the effectiveness of the Algerian *M. azedarach* plant, which seems to be among sources generating a versatile class of natural compounds having several fields of application. The results of this study showed that *M. azedarach* seed oil was encapsulated by the cold drying process, a lyophilization technique. Oil encapsulation of *M. azedarach* seeds was confirmed by scanning electron microscopy (SEM), nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H}$ NMR) spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and ultraviolet–visible (UV–Vis) spectroscopy analysis. The encapsulation of *M. azedarach* seed oil by lyophilization seems to be a good alternative to maintain the quality and durability of the active compounds and establish a protection of the active substance against its environment. Further studies are needed to evaluate the stability and biological activities of encapsulated *M. azedarach* seed oil.

## References

- Aoudia H, Ntalli N, Aissani N, Yahiaou-Zaidi R, Caboni P (2012) Nematotoxic phenolic compounds from *Melia azedarach* against *Meloidogyne incognita*. *J Agric Food Chem* 60:11675–11680. <https://doi.org/10.1021/jf3038874>
- Babaoglu HC, Bayrak A, Ozdemir N, Ozgun N (2017) Encapsulation of clove essential oil in hydroxypropyl beta-cyclodextrin for characterization, controlled release, and antioxidant activity. *J Food Process Preserv* 41:e13202. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13202>
- Bachheti RK, Dwivedi H, Rana V, Rai I, Joshi A (2012) Characterization of fatty acids in *Melia azedarach* L. seed oil. *Int J Curr Res Rev* 4:108–114
- Choi MJ, Soottitantawat A, Nuchuchua O, Min SG, Ruktanonchai U (2009) Physical and light oxidative properties of eugenol encapsulated by molecular inclusion and emulsion–diffusion method. *Food Res Int* 42:148–156. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.09.011>
- Deveswaran R, Puppala SKH, Bharath S, Basavaraj BV, Madhavan V (2012) Development of a novel water soluble  $\beta$ -cyclodextrin epichlorohydrin polymer complex to improve aqueous solubility. *J Chem Biol Phys Sci* 2:325–330
- Devi N, Maji TK (2010) Genipin crosslinked microcapsules of gelatin A and j-carrageenan polyelectrolyte complex for encapsulation of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seed oil. *Polym Bull* 65:347–362. <https://doi.org/10.1007/s00289-010-0246-5>
- Devi N, Maji TK (2011) Neem seed oil: encapsulation and controlled release—search for a greener alternative for pest control. In: Stoytcheva M (ed) *Pesticides in the modern world—pesticides use and management*. InTech, London. ISBN 978-953-307-459-7
- Dima C, Cotarlet M, Tiberius B, Bahrim G, Alexe P, Dima S (2014) Encapsulation of coriander essential oil in beta-cyclodextrin: antioxidant and antimicrobial properties evaluation. *Rom Biotechnol Lett* 19:9128–9140
- Galvão JG, Silva VF, Ferreira SG, França FRM, Santos DA, Freitas LS, Alves PB, Araújo AAS, Cavalcanti SCH, Nunes RS (2015)  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes containing *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oil: an alternative to control *Aedes aegypti* larvae. *Thermochim Acta* 608:14–19. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2015.04.001>
- Ghnaya AB, Hamrouni L, Hanana M (2013) Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Melia azedarach* L. *Phytothérapie* 11:284–288. <https://doi.org/10.1007/s10298-013-0758-x>
- Gidwani B, Vyas A (2014) Synthesis, characterization and application of epichlorohydrin- $\beta$ -cyclodextrin polymer. *Colloids Surf B Biointerfaces* 114:130–137. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.035>
- Guimaraes AG, Oliveira MA, Alves RDS, Menezes PDP, Serafini MR, Araujo AAS, Bezerra DP, Junior LJQ (2015) Encapsulation of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano, with  $\beta$ -cyclodextrin, improves the pharmacological response on cancer pain experimental protocols. *Chem Biol Interact* 227:69–76. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.12.020>
- Hadijakhondji A, Vatandoost H, Khanavi M, Sadeghipour-Roodsari HR, Vosoughi M, Kazemi M, Abai MR (2006) Fatty acid composition and toxicity of *Melia azedarach* L. fruits against malaria vector *Anopheles stephensi*. *Iran J Pharm Res* 2:97–102
- Hill LE, Gomes C, Taylor TM (2013) Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. *LWT Food Sci Technol* 51:86–93. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.11.011>
- Ismaili SA, Harhar H, Gharby S, Bourazmi H, Tabvaoui M, Kitane S, Belghiti MAE, Charrouf Z (2016) Chemical composition of two non-conventional oils in Morocco: *Melia azadirachta* and *Silybum marianum* (L.). *J Mater Environ Sci* 7:2208–2213
- Karpkird T, Khunsakorn R, Noptheeranuphap C, Midpanon S (2018) Inclusion complexes and photostability of UV filters and curcumin with beta-cyclodextrin polymers: effect on cross-linkers. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* 91:37–45. <https://doi.org/10.1007/s10847-018-0796-y>
- Khan AV, Ahmed QU, Mir MR, Shukla I, AliKhan A (2011) Antibacterial efficacy of the seed extracts of *Melia azedarach* against some hospital isolated human pathogenic bacterial strains. *Asian Pac Trop Biomed* 1:452–455. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60099-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60099-3)
- Khan MF, Rawat AK, Khatoon S, Hussain MK, Mishra A, Negi DS (2018) In vitro and in vivo Antidiabetic Effect of Extracts of *Melia azedarach*, *Zanthoxylum alatum*, and *Tanacetum nubigenum*. *Integr Med Int*. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2018.03.004>
- Kumazawa S, Kubota S, Yamamoto H, Okamura N, Sugiyamab Y, Kobayashia H, Nakanishi M, Ohta T (2013) Antiangiogenic activity of flavonoids from *Melia azedarach*. *Nat Prod Commun* 8:1719–1720
- Liu H, Yang G, Tang Y, Di Cao, Qi T, Qi Y, Fan G (2013) Physicochemical characterization and pharmacokinetics evaluation of  $\beta$ -caryophyllene/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex. *Int J Pharm* 450:304–310. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.013>
- M'rabet Y, Rokbeni N, Cluzet S, Boulila A, Richard T, Krisa S, Marzouki L, Casabianca H, Hosni K (2017) Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. leaves and fruits at two stages of maturity. *Ind Crops Prod* 107:232–243. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.048>
- Maciel MV, Morais SM, Bevilacqua CM, Camurca-Vasconcelos AL, Costa CT, Castro CM (2006) Ovicidal and larvicidal activity of *Melia azedarach* extracts on *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol* 140:98–104. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.03.007>
- Marques HMC (2010) A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour Fragr J* 25:313–326. <https://doi.org/10.1002/ffj.2019>
- Nie S, Zhang S, Pan W, Liu Y (2011) In vitro and in vivo studies on the complexes of glipizide with water-soluble



- $\beta$ -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers. *Drug Dev Ind Pharm* 37:606–612. <https://doi.org/10.3109/03639045.2010.533277>
- Orthan IE, Guner E, Ozturk N, Senol FS, Erdem SA, Kartl M, Sener B (2012) Enzyme inhibitory and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. naturalized in Anatolia and its phenolic acid and fatty acid composition. *Ind Crops Prod* 37:213–218. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.11.028>
- Phunpee S, Ruktanonchai UR, Yoshii H, Assabumrungrat S, Sootitawat A (2017) Encapsulation of lemongrass oil with cyclodextrins by spray drying and its controlled release characteristics. *Biosci Biotechnol Biochem* 81:718–723. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1277942>
- Poornima KN, Deveswaran R, Bharath S, Basavaraj BV, Madhavan V (2015) Synthesis and evaluation of  $\beta$ -cyclodextrin epichlorohydrin inclusion complex as a pharmaceutical excipient. *J Fundam Appl Sci* 7:203–221. <https://doi.org/10.4314/jfas.v7i2.5>
- Rakmai J, Cheirsilp B, Mejuto JC, Torrado-Agrasar A, Simal-Gandara J (2017) Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Food Hydrocoll* 65:157–164. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.014>
- Renard E, Barnathan G, Deratani A, Seville B (1996) Characterization and structure of cyclodextrin-epichlorohydrin polymers-effects of synthesis parameters. *Proc Eighth Int Symp Cyclodext.* [https://doi.org/10.1007/978-94-011-5448-2\\_24](https://doi.org/10.1007/978-94-011-5448-2_24)
- Renard E, Barnathan G, Deratani A, Seville B (1997a) Polycondensation of cyclodextrins with epichlorohydrin. Influence of reaction conditions on the polymer structure. *Macromol Symp* 122:229–234. <https://doi.org/10.1002/masy.19971220136>
- Renard E, Deratani A, Volet G, Séville B (1997b) Preparation and characterization of water soluble high molecular beta-cyclodextrin-epichlorohydrin polymers. *Eur Polym J* 33:49–57. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(96\)00123-1](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(96)00123-1)
- Santos EH, Kamimura JA, Hill LE, Gomes CL (2015) Characterization of carvacrol beta-cyclodextrin inclusion complexes as delivery systems for antibacterial and antioxidant applications. *LWT Food Sci Technol* 60:583–592. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.046>
- Wang X, Luo Z, Xiao Z (2014) Preparation, characterization, and thermal stability of  $\beta$ -cyclodextrin/soybean lecithin inclusion complex. *Carbohydr Polym* 101:1027–1032. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.042>
- Wang D, Jia M, Wang L, Song S, Feng J, Zhang X (2017) Chitosan and  $\beta$ -cyclodextrin-epichlorohydrin polymer composite film as a plant healthcare material for carbendazim-controlled release to protect rape against *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Materials* 10:343. <https://doi.org/10.3390/ma10040343>