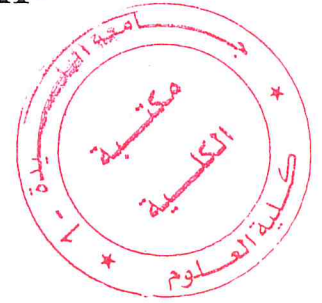


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITÉ de SAAD DAHLEB –BLIDA1-



**Faculté des sciences
Département de chimie**

**Mémoire du projet de fin d'étude pour l'obtention de diplôme de Master en
chimie**

Option : Chimie appliquée

Thème

**Préparation des microsphères à base
d'amidon-chitosane: Etude et caractérisation**

Présenté par :

**Mlle BENDOUMIA Ibtissam
Mme ZIANE Maroua**

Devant le jury composé de :

Mr Y. Bal	Professeur	USDB1	Président
Mme N. Hachache	Maitre-Assistant	USDB1	Examinatrice
Mr O. Larbi Bouamrane	Maître de conférence	UDBKM	Promoteur

Blida, 18 Octobre 2018

Remerciements

Tout d'abord, nous voulons remercier Allah de nous avoir donné la santé et le courage et la détermination nécessaire d'accomplir ce travail.

Nous remercions notre magnifique professeur et promoteur Mr O. Larbi Bouamrane pour avoir accepté de diriger ce travail ainsi que pour tous ses conseils avisés.

Mr le professeur Y. Bal de nous avoir aidé et orienté durant la réalisation de ce projet de fin d'études. Nous le remercions également pour avoir accepté de présider le jury de soutenance et d'évaluer ce modeste travail

Nous remercions également Madame N. Hachache pour avoir accepté d'examiner le mémoire et de faire partie du jury.

Mr S. Hammani pour son soutien et ses encouragements durant la réalisation de ce travail, particulièrement dans les moments difficiles.

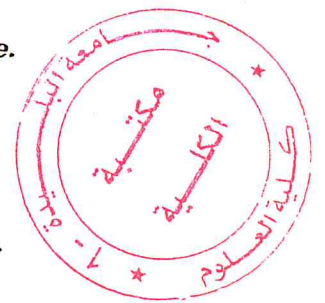
A nos très chers parents d'avoir toujours été présents, pour leur soutien, aide et encouragements durant tous les moments de notre vie et particulièrement lors de notre cursus universitaire.

A toutes nos familles et nos amis.

A tous les enseignants du département de chimie.

A tous les ingénieurs de laboratoire pour leur aide et leur compréhension.

A toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin.



Dédicace

Tous d'abord, je veux remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir permis de réaliser ce modeste travail.

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

A la lumière de ma vie mes très chers parents qui ont toujours été à mes côtés, qui m'ont soutenue et encouragée, et qui sans leur amour, leur compréhension, leurs conseils et leur tolérance je n'aurais jamais pu atteindre mes objectifs.

A ma très chère mère SAIDA

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon très cher père TAHAR

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères sœurs : IMEN et HANAA

A mes très chers frères : AMINE et SOFIANE

A mon fiancé YACINE et sa famille

A toute la famille BENDOUMIA

A mon binôme MAROVA et sa famille.

A tout mes enseignants de puis le primaire jusqu'à l'université

A toute la promotion de chimie appliquée 2017/2018

Un grand merci à notre promoteur Mr L.O. BOUAMRANE

IBTISSAM

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chères parents Abdelrezak et Krelifa Kerfah Khedidja

Mes idoles, mes précieux, source de joie et de bonheur, ceux qui ont toujours sacrifié pour me voir réussir. Que dieu vous bénisse, vous protège et vous garde pour moi.

A mon mari Noufel Chellali que j'aime énormément pour être toujours là à côté de moi.

A mes partenaires dans le pire et meilleur, mes sœurs Fadhila, Rabab et ma cousine Khadidja.

A mon petit et unique frère Oussama.

A mes beaux-parents pour leur compréhension.

A Mr O. Larbi Bouamrane pour tout ce qu'il m'a prodigué.

A Mr Bal et Mr Hammani pour m'avoir donné l'occasion de cette expérience.

A mon binôme pour chaque moment de folie et de colère que nous avons passé ensemble.

A la fin une spéciale dédicace pour ma mère, mon mari et ma sœur Fadhila pour ne jamais me laisser abandonner.

Ziane Maroua

Résumé

Dans ce travail, la caractérisation des microsphères, préparées à base de chitosane/amidon par les méthodes de coacervation complexe et la gélification ionotropique ont été entreprises en vue de l'encapsulation et la libération contrôlée de la Doxycycline.

Un ensemble de techniques d'analyse, la microscopie optique, la microscopie électronique à balayage, la DRX, FTIR a été utilisé pour caractériser les microsphères obtenues. Les résultats obtenus ont montré une possibilité d'interactions entre les deux polysaccharides l'amidon et le chitosan et la formation d'un complexe. De plus les analyses ont confirmé l'incorporation de la doxycycline (PA) dans la matrice formée par les deux biopolymères. Les résultats ont montré également, que la cinétique de libération de l'antibiotique est relativement lente et elle atteint un palier de stabilité après une heure. Après ce temps la libération continue d'une façon constante et au-delà de 3heures, ce qui représente un critère de la libération contrôlée ou prolongée.

Mots clés : Chitosane, Amidon, Doxycycline, Microsphères, Biopolymères.

المخلص

في هذا العمل قمنا بتحقيق و تمييز جسيمات مجهرية من الكيتوزان و النشاء حسب طريقة التمسك المعقدة و التهليم الشاردي وذلك من اجل تغليف و حماية و متابعة تحرير الدوكسيسيكالين .
إن نظام الجسيمات المجهرية المستند على خليط اساسه الكيتوزان () و النشاء مع أو بدون العنصر النشط أعدت و ميزت بعدة أليات لتوصيف طبيعة النتيجة المتحصل عليها من الخليط المذكور سابقا. و تبين النتائج إمكانية التفاعل بين السكرين و إمكانية تغليف الدوكسيسيكالين (مبدأ نشط) التي شكلها هذين البوليمرين الحيويين. إضافة على ذلك , فقد بينت النتائج أن تحرير المضادات الحيوية يتم ببطيء نسبي و ربما يتطلب أكثر من ثلاث ساعات و هي عادة عبارة عن معيار لتبيين عمل مراقب أو متواصل
الكلمات المفتاحية : الكيتوزان, النشاء, الدوكسيسيكالين, الجسيمات المجهرية, البوليمرات الحيوية.

Abstract:

In this work, characterization of chitosan / starch-based microspheres by complex coacervation and ionotropic gelation methods was undertaken for the encapsulation and controlled liberation of Doxycycline.

A set of analytical techniques, optical microscopy, scanning electron microscopy, DRX, FTIR was used to characterize the microspheres obtained. The results obtained showed a possibility of interactions between the two polysaccharides starch and chitosan that lead to the formation of a complex. In addition, the analyzes confirmed the incorporation of doxycycline (PA) into the matrix formed by the two biopolymers. Moreover, the results have also shown that the kinetics of release of the antibiotic is relatively slow and can go beyond 3 hours, which is a criterion of controlled or prolonged release.

Key words : Chitosan, Amidon, Doxycycline, Microspheres, Biopolymers.

LISTE D'ABREVIATIONS

La liste d'abréviations

MS : Microsphères.

PA : Principe actif.

Cs : Chitosane.

Amd : Amidon.

DOXY : Doxycycline.

PEG : Polyéthylène glycol.

HMPS : Hexamétaphosphate de sodium.

TPPS : Tripolyphosphate de sodium.

FA : Formaldéhyde.

DA : degré d'acétylation.

DD : degré de désacétylation.

pH : potentiel d'hydrogène.

pKa : constante d'acidité.

FTIR : spectrophotométrie infrarouge a transformée de fourrier.

MEB : microscopie à balayage électronique.

DRX : diffraction des rayons X.

UV-Visible : spectrophotométrie Ultraviolet-visible.

SGF: simulated gastric fluid (fluide gastrique simulé)

SIG: simulated intestinal fluid (fluide intestinal simulé)

mm : millimètre / nm : nanomètre / μm : micromètre.

T : Température.

T_e : Température d'ébullition.

T_f : Température de fusion.

$^{\circ}\text{C}$: degré Celsius.

ρ : masse volumique.

M : masse molaire.

LISTE DES FIGURES

La liste des figures

CHAPITRE I : MICROENCAPSULATION

Figure I.1 : Types de microparticule.....	2
Figure I.2 : Morphologie des Microcapsules.....	3
Figure I.3 : Immobilisation de cellules vivantes dans une bille d'alginate.....	4
Figure I.4 : Secteurs d'application de la micro encapsulation.....	5
Figure I.5 : Les différents procédés d'encapsulation.....	6
Figure I.6 : Représentation schématique du processus de coacervation complexe.....	7
Figure I.7 : Schéma de principe de la gélification de gouttes.....	8
Figure I.8 : Schéma de principe de congélation de gouttes.....	9
Figure I.9 : Mécanisme de formation des microparticules par polymérisation interfaciale.....	10

CHAPITRE II : LES POLYSACCHARIDES

Figure II.1: Structures chimiques de la chitine (a) et du chitosane (b).....	13
Figure II.2: Conversion de la chitine en chitosane par la désacétylation.....	13
Figure II.3: Formes et tailles des granules d'amidon de maïs, blé, riz, pomme de terre, manioc et de pois (MEB grossissement $\times 280$).....	18
Figure II.4: Structure chimique du D-glucose.....	19
Figure II.5: Structure chimique de l'amylose.....	19
Figure II.6 : Structure chimique de l'amylopectine.....	20

CHAPITRE III : EXPERIMENTATION

Figure III.1. : Schéma du procédé de préparation des particules.....	30
Figure III.2. : Photos numériques des particules obtenues.....	31
Figure III.3 : Photos des MS préparées à base du mélange «Cs-Amd» obtenues par microscopie optique avec agrandissement variables.....	32
Figure III.4. : Photos des particules préparées à base d'amidon et de PEG enregistrées par microscopie optique avec agrandissement variables.....	33
Figure III.5 : Microphotographies des microsphères (Amd-Cs PA) avec agrandissement.....	34
Figure III.6 : Microphotographies des particules (Amd-PEG) avec agrandissement....	35
Figure III.7 : Diffractogrammes des particules.....	36
Figure III.8 : Spectres des microsphères chargées en doxycycline.....	37
Figure III.9 : Structure chimique de doxycycline hyclate.....	38
Figure III.10 : Spectres des microsphères.....	39
Figure III.11 : Courbe d'étalonnage relative à la doxycycline.....	40
Figure III.12 : Cinétique de libération dans le milieu simulé gastrique.....	41
Figure III.13 : Cinétique de libération dans le milieu simulé intestinal.....	41

LISTE DES TABLEAUX

La liste des tableaux

CHAPITRE I : MICROENCAPSULATION

Tableau I.1 : Avantages et inconvénients des techniques d'encapsulation.....	10
--	----

CHAPITRE II : LES POLYSACCHARIDES

Tableau II.1 : Corrélation entre les valeurs DD et la solubilité du chitosane à pH 6.....	15
Tableau II.2: Quelques applications du chitosane.....	16
Tableau II.3 : Teneur en amylose et amylopectine des amidons de différentes sources botaniques.....	20
Tableau II.4 : Formes et dimensions de grains d'amidon.....	21

CHAPITRE III : EXPERIMENTATION

Tableau III.1 : Doxycycline hyclate.....	22
Tableau III.2 : Polymères.....	23
Tableau III.3 : Agents réticulants.....	23
Tableau III.4 : Acides et bases.....	24
Tableau III.5 : Sels.....	25
Tableau III.6 : Matériel de l'expérimentation.....	25
Tableau III.7: Méthodes de coacervation complexe.....	26
Tableau III.8 : Méthodes de gélification de gouttes.....	27

TABLE DES MATIERES

Table des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Titre Page

INTRODUCTION GENERALE..... 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : MICRO-ENCAPSULATION

I.1. La micro encapsulation.....	2
I.2. Morphologie des microcapsules.....	2
I.3. Intérêts de la micro encapsulation.....	3
I.4. Domaines d'utilisation.....	3
I.5. Procédés de la micro encapsulation.....	5
I.5.1. Procédés physico-chimiques.....	6
I.5.1.1. Exemple sur la Coacervation.....	6
I.5.1.1.a .Coacervation simple.....	6
I.5.1.1.b. Coacervation complexe.....	7
I.5.1.2 .Exemple sur la gélification ionotropique.....	7
I.5.2. Procédés mécaniques.....	8
I.5.2.1. Congélation de gouttes (spray-congealing).....	8
I.5.3. Procédés chimiques.....	9
I.5.3.1. Exemple de polymérisation interfaciale.....	9
I.6. Application des microsphères de chitosane-amidon dans la livraison des antibiotiques	11
I.6.1. Exemple d'un antibiotique (la Doxycycline).....	11

CHAPITRE II : LES POLYSACCHARIDES

II.1. Les polysaccharides.....	12
II.1.1 Chitosane.....	12
II.1.1.1. Généralités.....	12
II.1.1.2. Production de chitosane par désacétylation de la chitine.....	13
II.1.1.3. Propriétés physico-chimiques du chitosane	14
II.1.1.3.a. le Degré d'Acétylation (DA) ou le Degré de Désacétylation (DD).....	14
II.1.1.3.b. la viscosité	15
II.1.1.3.c. la masse molaire moyenne.....	15
II.1.1.3.d. la solubilité.....	15
II.1.1.3.e. la cristallinité.....	16
II.1.1.3.f. la réactivité.....	16
II.1.1.4. Applications.....	17
II.1.2. Amidon	19
II.1.2.1. Généralités.....	19
II.1.2.2. Composition chimique de l'amidon.....	19

TABLE DES MATRIERES

II.1.2.2.a. Amylose.....	20
II.1.2.2.b. Amylopectine.....	21
II.1.2.2.c. Autres constituants.....	21
II.1.2.3 Composition moléculaire	21
II.1.2.4. Structure granulaire de l'amidon.....	22
II.1.2.5. Propriétés fonctionnelles d'amidon	23

ETUE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III: MICROSPHERES

III.1. Introduction.....	24
III.2. Matériels et Méthodes.....	24
III.2.1. Matériel.....	24
III.2.1.1. Produits utilisés.....	24
III.2.1.2. Matériel.....	27
III.2.2. Méthodes.....	28
III.2.2.1. Méthodes d'encapsulation.....	28
III.2.2.2. Méthodes de caractérisation.....	29
III.2.2.2.a. Microscope optique.....	29
III.2.2.2.b. Microscope électronique à balayage.....	30
III.2.2.2.c. FTIR.....	30
III.2.2.2.d. Diffraction par rayon X.....	31
III.2.2.2.e. Test de libération.....	31
III.3. Résultats et discussion.....	31
III.3.1. Préparation.....	31
III.3.2. Caractérisation.....	33
III.3.2.1. Microscope optique.....	33
III.3.2.2. MEB.....	35
III.3.2.3. DRX.....	38
III.3.2.4. FTIR.....	39
III.3.2.5. Cinétique de libération.....	42
III.4. Conclusion.....	44
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	45
Références bibliographiques.....	47

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

De nombreux produits encapsulés sont utilisés dans notre vie quotidienne. Médicaments, crèmes cosmétiques, parfums, peintures et encres en sont quelques exemples. De nos jours, de plus en plus de technologies innovantes mettent en jeu des substances encapsulées.

L'encapsulation est définie comme une technologie qui vise à piéger des ingrédients bioactifs, dans une matrice afin de les protéger ou de contrôler leur libération.

L'encapsulation est parmi les préparations pharmaceutiques en cours d'élaboration par les grandes firmes médicamenteuses, elle est réalisée par des matériaux adéquats. Le choix des matériaux nécessite plusieurs paramètres (du PA, polymères...etc.). Son objectif consiste à incorporer, selon un procédé déterminé, un principe actif dans une autre matière inactive, afin d'améliorer les propriétés de conservation, de présentation et de biodisponibilité

L'utilisation des polymères naturels dans l'industrie pharmaceutique est très commune. Parmi ces polymères, on peut citer, entre autres, l'amidon et le chitosane. Ces deux polymères sont issus des sources naturelles renouvelables. Ils possèdent des propriétés intéressantes qui les rendent très appréciés par les industriels.

Dans l'objectif de traiter ce thème relatif à l'encapsulation à base de l'amidon et le chitosan, le mémoire est conçu deux parties, une étude bibliographique et une partie expérimentale. La partie théorique est scindée en deux chapitres. Dans le premier, des notions générales sur l'encapsulation sont citées. Le deuxième chapitre est relatif aux polysaccharides où certaines informations liées à l'amidon et au chitosan sont synthétisées. Dans la deuxième partie, les matériels et méthodes ainsi que sur les résultats et discussions sont décrits.

Enfin, une conclusion générale où les principaux résultats obtenus sont récapitulés.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : MICRO- ENCAPSULATION

I.1. La micro encapsulation

La micro encapsulation regroupe l'ensemble des technologies permettant l'enrobage ou le piégeage de principes actifs sous forme solide, liquide ou gazeuse, au sein de particules individualisées dont la taille s'échelonne entre quelques microns et quelques millimètres.

La micro encapsulation est omniprésente dans tous les domaines de la formulation : cosmétique, détergence, pharmacie, agroalimentaire, textile, peinture, électronique, imprimerie... [1]. Il existe deux types de microparticules qui diffèrent par leur microstructure (**figure I.1**) [2]

- Les microsphères, qui sont des particules constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active. Cette dernière peut se présenter sous forme de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions
- Les microcapsules, qui sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant, les microcapsules ne sont pas nécessairement sphériques.

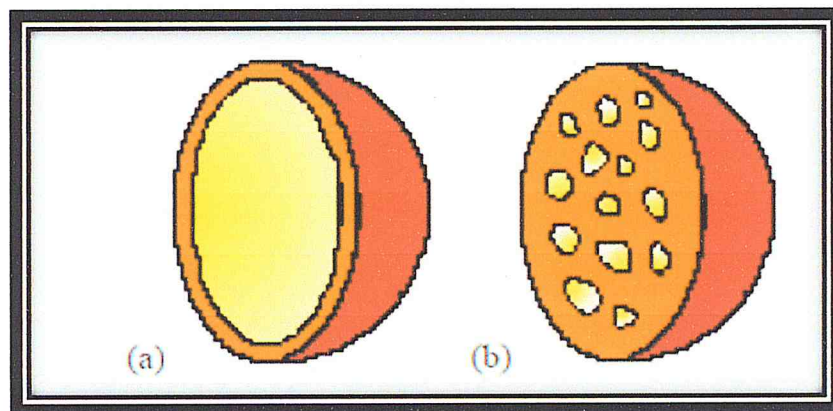


Figure I.1 : Types de microparticule. (a) : microcapsule ; (b) : microsphère [2].

I.2. Morphologie des microcapsules

La morphologie des microcapsules dépend principalement sur le matériau de base et le dépôt. Le processus de la coquille.

1. Microcapsules mononucléaires (noyau-coquille) Contiennent la coquille autour du noyau.
2. Les capsules polynucléaires ont de nombreux noyaux Enfermés dans la coquille.
3. Encapsulation matricielle dans laquelle le noyau Le matériel est distribué de manière homogène dans Matériau de coquille.

- ❖ En plus de ces trois morphologies de base, Les microcapsules peuvent également être mononucléaires avec Des coquilles multiples, ou ils peuvent former des grappes de Microcapsules. (figure I.2). [3]

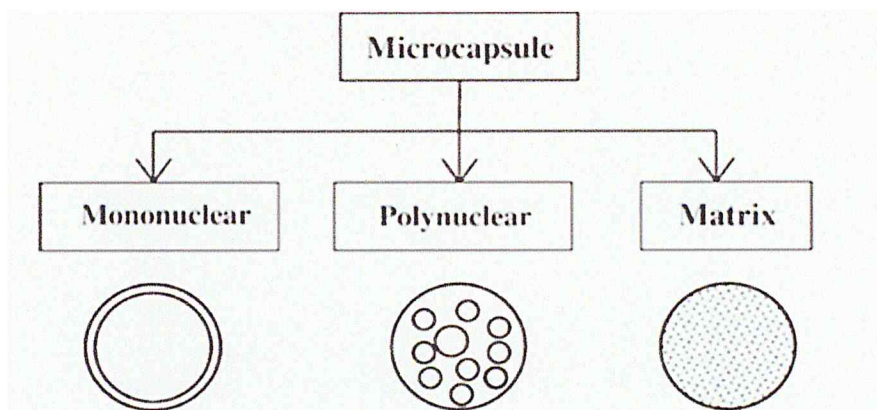


Figure I.2: Morphologie des Microcapsules [3]

I.3. Intérêts de la micro encapsulation

- Assurer la protection, la compatibilité et la stabilisation d'une matière active dans une formulation.
- Réaliser une mise en forme adaptée.
- Améliorer la présentation d'un produit.
- Masquer un goût ou une odeur.
- Modifier et maîtriser le profil de libération d'une matière active pour obtenir, par exemple, un effet prolongé ou déclenché. [4]

I.4. Domaines d'utilisation

La micro-encapsulation a été développée et appliquée dans les domaines variés (cosmétique, agro-alimentaire, environnement, pharmaceutique ...).

Dans le domaine pharmaceutique, des microcapsules contenant des médicaments sont utilisées par voie orale ou par injection interne dans le muscle. Les microcapsules sont principalement conçues pour contrôler la durée de la libération du principe actif. Les microcapsules sont véhiculées dans le corps. Puis par la dispersion et l'infiltration du médicament vers l'endroit ciblé. Une concentration propre et une durée spécifique de la libération permettent de donner pleinement les effets du médicament. [5]

Dans le domaine cosmétique, des microcapsules ont déjà été intégrées dans différentes crèmes, shampooings et gels. Afin de prolonger la stabilité chimique et microbiologique du principe actif.

Dans le domaine agro-alimentaire, la micro-encapsulation est principalement utilisée pour des additifs alimentaires, tels que des arômes, des édulcorants, colorants.

La micro-encapsulation permettra de garder le parfum, de prolonger la durée de conservation et d'ajuster la saveur alimentaire [6].

Dans le domaine biomédical, la technologie de micro encapsulation a été mise en pratique pour l'immobilisation des cellules animales, végétales ou micro-organismes une matrice poreuse (alginate) sous forme de billes (**figure I.3**) [7].

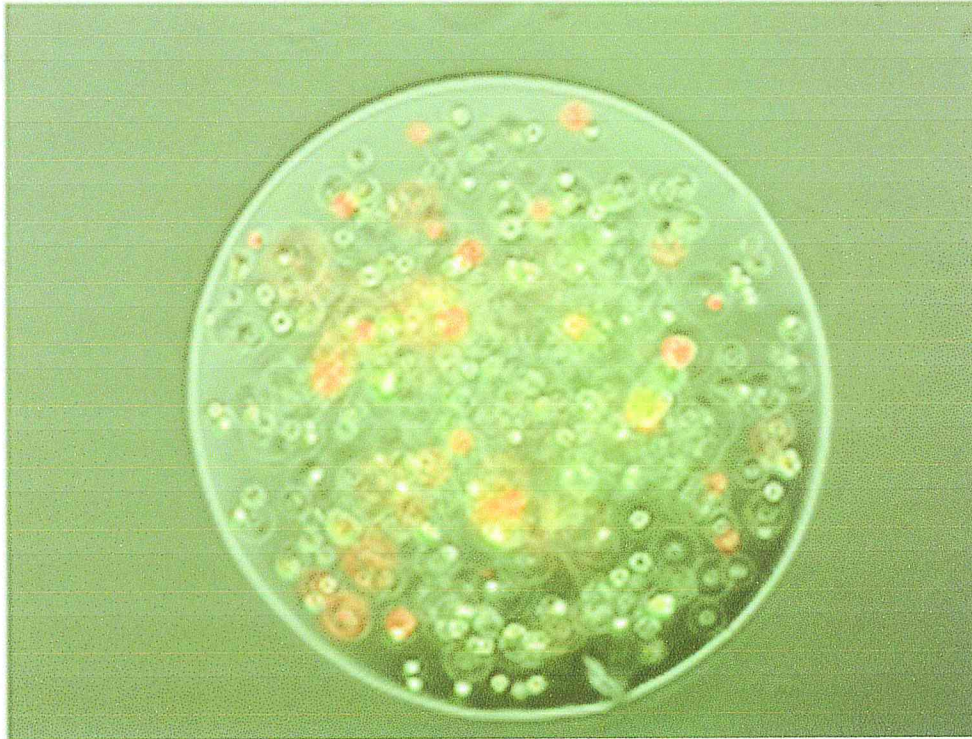


Figure I.3 : immobilisation de cellules vivantes dans une bille d'alginate [7].

Aujourd'hui, les principales utilisations de la micro encapsulation n'ont pas beaucoup changé, avec près de 43% utilisé pour la chimie, 36% pour les applications pharmaceutiques et 21% pour les autres (textile, cosmétique, agriculture, alimentaire, etc....) (Comme décrit dans la **figure I.4**) [5].

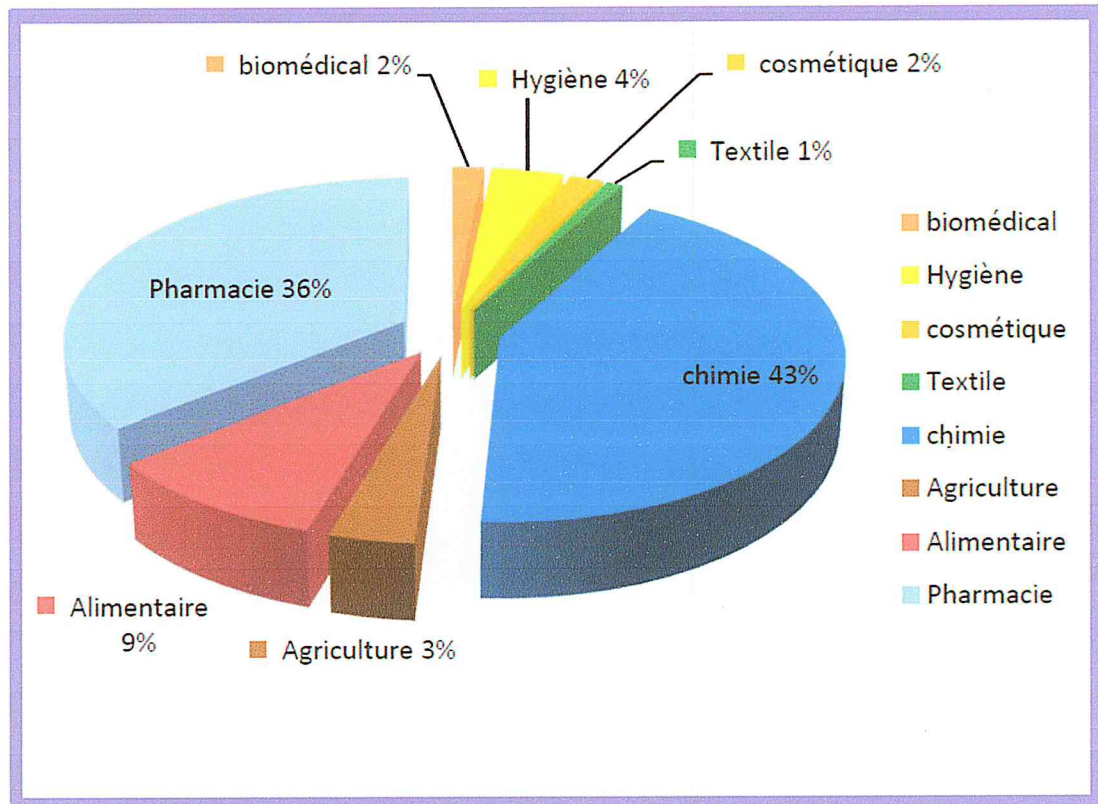


Figure I.4: Secteurs d'application de la micro encapsulation [5].

I.5. Procédés de la micro encapsulation

Les procédés de micro-encapsulation sont variés, et il est nécessaire de les classer pour faire un choix approprié lorsque l'on doit résoudre un problème de formulation dans ce domaine. Plusieurs classifications existent, toutes aussi valables les unes que les autres [8]. Une classification intéressante tenant compte du principe de la micro encapsulation (figure I.5), permet de répartir les procédés de micro-encapsulation en trois groupes [4] :

- Procédés physico-chimiques.
- Procédés mécaniques.
- Procédés chimiques.

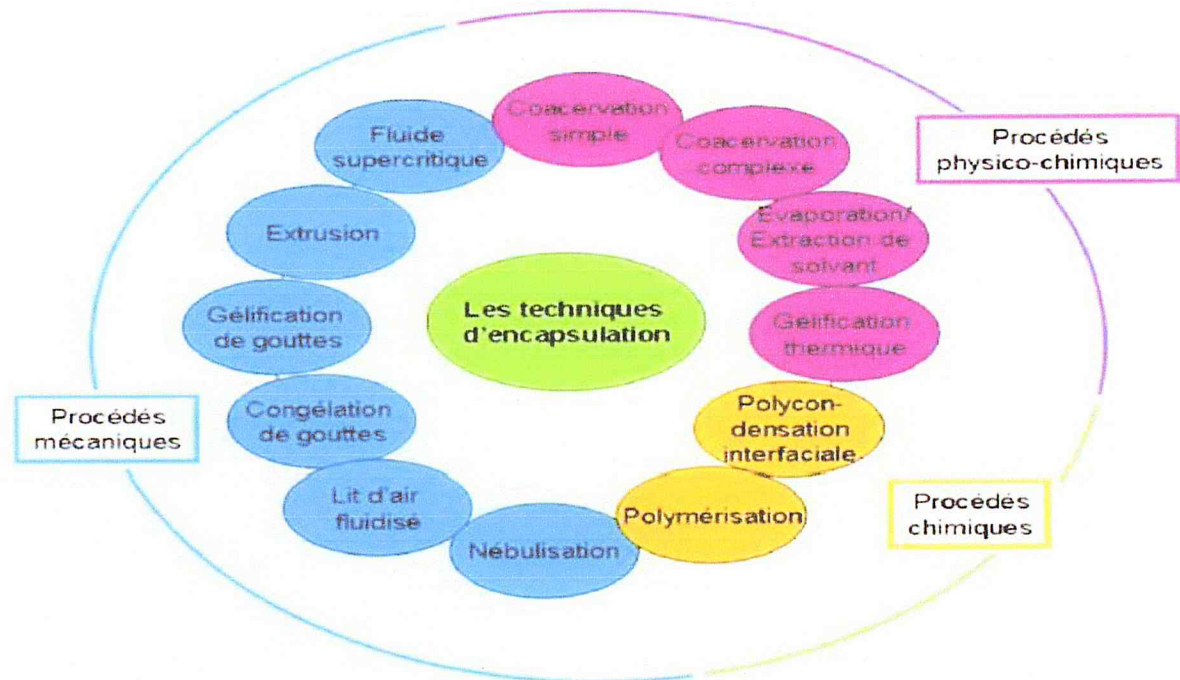


Figure I.5 : les différents procédés d'encapsulation [4].

I.5.1. Procédés physico-chimiques

Les procédés physico-chimiques impliquent la gélification ionotropique, la complexation des poly électrolytes, la coacervation et la technologie des fluides supercritiques. La gélification inotrope repose sur la capacité des poly électrolytes à se réticuler en présence de contre-anticorps, ce qui conduit à leur gélification [9]. Ce procédé a été largement étudié en utilisant des poly électrolytes naturels tels que l'alginate [10,11], le chitosane [12], la carboxyméthylcellulose [13] et la gomme gellane [14].

I.5.1.1. Exemple sur la Coacervation

Un procédé basé sur la séparation de phases.

Les processus de coacervation s'opèrent dans des conditions douces (pas de solvant agressif, organique,...), par conséquent, ces méthodes sont un bon potentiel pour la micro encapsulation de cellules vivantes et de molécules labiles, lesquelles ne peuvent pas résister aux conditions dures (chaleur, solvants organiques) qui accompagnent les autres procédés de micro-encapsulation [15].

I.5.1.1.a. Coacervation simple

Le procédé de coacervation consiste à abaisser la solubilité d'un polymère (coacervation simple) initialement solubilisé dans un solvant organique ou en milieu aqueux, en variant la température ou par ajout d'un électrolyte, d'un non-solvant ou d'un 2ème polymère

(agent de coacervation). Il se formera deux phases liquides : l'une riche en polymère (coacervat) et l'autre pauvre en polymère [3].

I.5.1.1.b. Coacervation complexe

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

La réticulation des microcapsules obtenues se fait par ajout de glutaraldéhyde ou d'acide tannique, ce qui permet de solidifier les particules (**figure I.6**) [16].

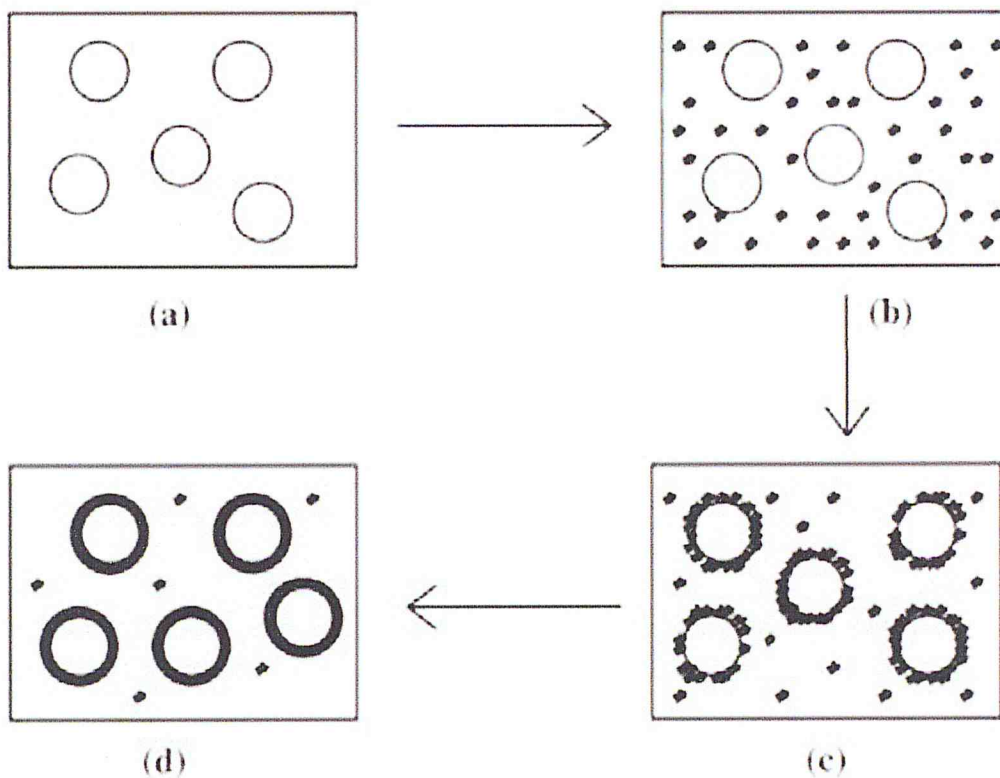


Figure I.6 : représentation schématique du processus de coacervation complexe
 (a) : Dispersion du produit à encapsuler dans une solution du matériau d'enrobage, (b) :
 séparation du coacervat de la solution, (c) encapsulation du matériel par des
 microgouttelettes du coacervat, (d) coalescence du coacervat pour former une coquille
 autour des particules de noyau.

I.5.1.2 .Exemple sur la gélification ionotropique

La gélification ionotropique est basée sur la capacité de réticulation des polyélectrolytes en présence de certains ions pour former des hydrogels (**figure I.7**) [3].

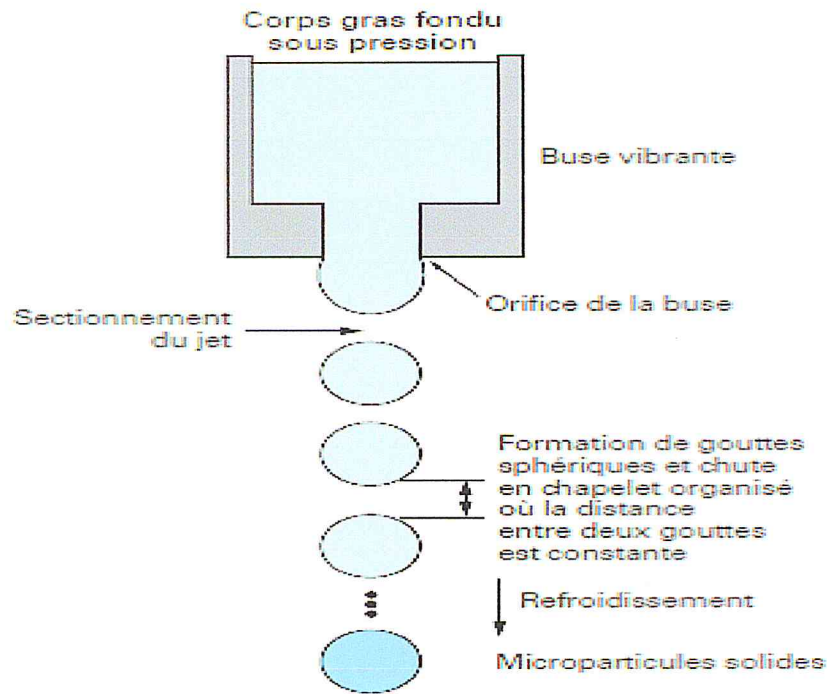


Figure I.8: Schéma de principe de congélation de gouttes [3].

I.5.3. Procédés chimiques

Les procédés chimiques de micro encapsulation comprennent l'évaporation des solvants, la réticulation interfaciale, la polycondensation interfaciale, la polymérisation in situ et la polymérisation matricielle.

Contrairement aux deux autres classes de techniques qui utilisent des agents enrobant préformés tels que des polymères ou des lipides. Les procédés d'encapsulation chimiques reposent sur la formation in situ du matériau enrobant. Les composés de base sont des Monomères [18].

I.5.3.1. Exemple de polymérisation interfaciale

Cette technique, combine une émulsion eau dans huile (E/H) ou huile dans eau (H/E) et une réaction chimique entre deux réactifs à l'interface de la phase dispersée. La phase dispersée contient un solvant, un principe actif et le monomère A. Elle peut être soit aqueuse, soit organique. La phase continue est constituée d'un solvant et d'un monomère B. Au départ l'émulsion se fait en l'absence du monomère B. Ce dernier n'est introduit qu'à partir du moment où l'émulsion est stabilisée. La réaction de polymérisation peut ensuite débiter (figure I.9) [19].

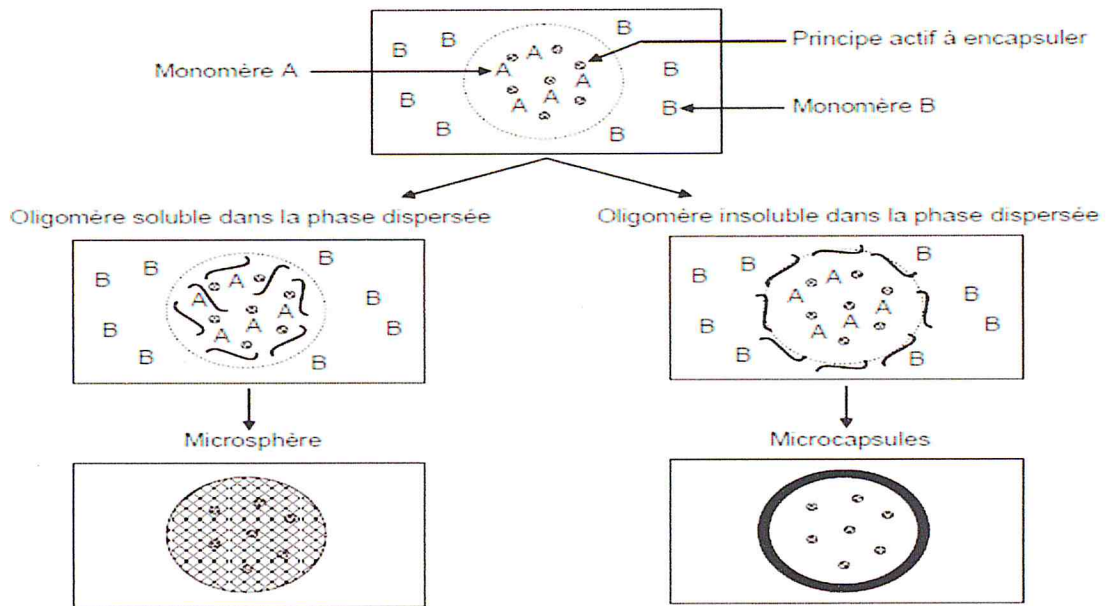


Figure I.9 : Mécanisme de formation des microparticules par polymérisation interfaciale [19].

Les différentes méthodes de préparation des microparticules sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau I.1 : avantages et inconvénients des techniques d'encapsulation

Technique	Avantages	Inconvénients
Coacervation complexe	- Condition douces : pas de solvant organique, température ambiante	- Gamme de PH limitée. - Si utilisation de réticulation → toxicité
Gélation ionotropique	- Formulation douce pour les protéines : pas de solvant organique, milieu aqueux. - Température faible. - Technique simple et rapide	- Difficulté de contrôle de la cinétique de libération.
Spray-drying	- Large gamme d'application. - Encapsulation importante et rapide de principe actif	- Nécessite une quantité de matière importante → pertes
Double émulsion	- Bon contrôle de la cinétique de libération. - Possibilité d'encapsuler de petites molécules.	- Efficacité d'encapsulation limitée - Utilisation de solvant organique.
Polymérisation interfaciale	- Large gamme de membranes possibles. - En fonction des monomères hydrophobes.	- Large surface de contact huile/eau → Dégradation du principe actif fragile. - Contrôle limité de la réaction. Lavages nécessaires → perte de produit.
Séparation de phase	- Encapsulation de protéines possible. - Bon contrôle de la taille des particules.	- Fabrication industrielle limitée. - Récupération des particules difficile.

I.6. Application des microsphères de chitosane-amidon dans la libération des antibiotiques

I.6.1. Exemple d'un antibiotique (la Doxycycline)

La Doxycycline (DOXY) est un antibiotique à large spectre célèbre, qui est efficace contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, des protozoaires et des bactéries anaérobies différents. DOXY présente une longue demi-vie, une haute solubilité dans les lipides, et une très bonne absorption par voie orale. Elle est utilisée contre l'infection parodontale. En outre, elle est également utilisée pour prévenir l'infection bactérienne liée à l'arthrite septique.

Cependant, il existe quelques inquiétudes sur les effets secondaires possibles tels que les troubles gastro-intestinaux, l'érosion de l'œsophage, et la photosensibilité lorsqu'elle est administré par voie orale. Par conséquent, afin de parvenir à l'infection des tissus profonds à l'intérieur affectés par une concentration efficace du médicament et de contourner les effets secondaires systémiques, la livraison locale contrôlée de la Doxycycline est souhaitable [20].

L'une des voies possibles pour y parvenir est l'encapsulation de cette molécule active dans une matrice biodégradable.

CHAPITRE II : LES POLYSACCHARIDES

II.1. Les polysaccharides

Il existe dans la nature de nombreuses variétés de polysaccharides répertoriées. Ces polysaccharides peuvent être d'origine végétale, c'est le cas de l'amidon, de la cellulose, ou des gommés. Ils peuvent également être issus des algues comme les alginates, ou encore être d'origine animale (héparine), ou microbienne (xanthanes).

II.1.1 Chitosane

II.1.1.1. Généralités

Le chitosane est un biopolymère de la famille des polysaccharides dont la découverte a été attribuée à Rouget en 1859 [21], qui a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance, résultat du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides, Cependant, seulement en 1894 cette substance a été nommée chitosane par Hoppe-Seyler [22].

Le dérivé ainsi obtenu constituait en un polymère possédant une charge positive, propriété permettant au chitosane de se greffer à d'autres composés. Depuis ce temps, les propriétés du chitosane se sont faites de plus en plus nombreuses [23].

Le chitosane est un copolymère linéaire de N-acétyl-D-glucosamine et de D-glucosamine liés en β - (1-4). C'est un polysaccharide cationique de glucosamine partiellement acétylé. Cette macromolécule est obtenue par N-désacétylation d'un des polymères naturels les plus abondants, la chitine, extraite des carapaces de crustacés tels que les crabes et les crevettes [24]. La Figure II.1 représente les structures chimiques de la chitine et du chitosane. Leurs structures diffèrent uniquement au niveau des groupements en position C (2), acétamide pour la chitine et amine pour le chitosane.

Le chitosane est constitué des unités sucres glucosamine (unités désacétylées) et d'unités N-acétyl-D-glucosamine (unités acétylées) reliées entre elles par des liaisons de type β (1,4) [25].

Le terme « chitosane » est donc habituellement limité à toute chitine suffisamment N-désacétylée pour être soluble en milieu acide dilué.

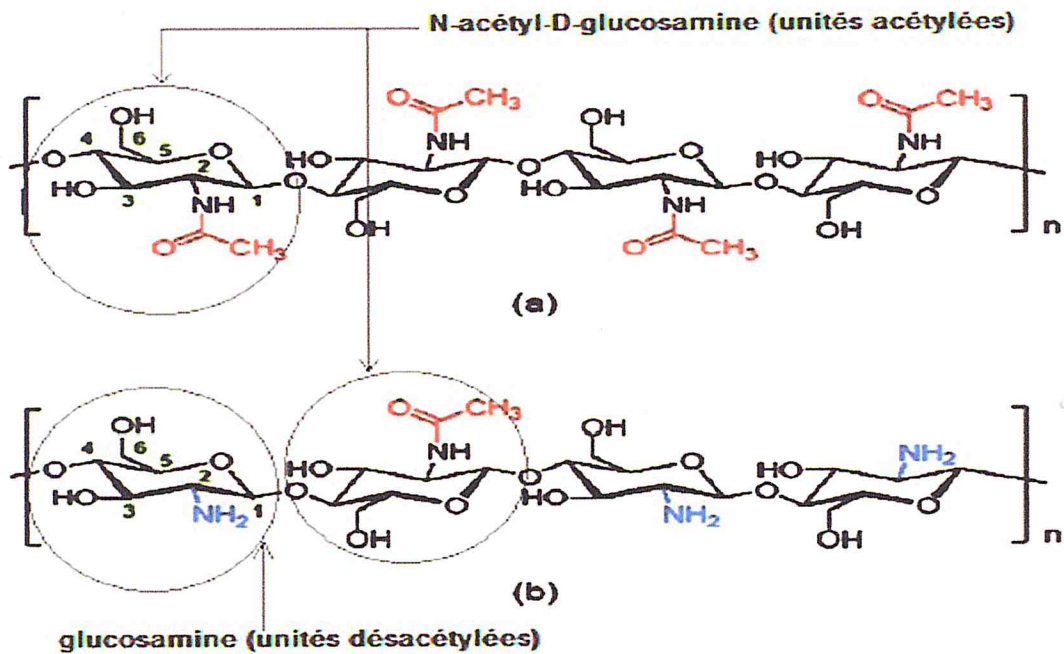


Figure II.1: Structures chimiques de la chitine (a) et du chitosane (b) [25].

II.1.1.2. Production de chitosane par désacétylation de la chitine

La désacétylation signifie l'hydrolyse des groupements acétyles présents dans la chitine pour avoir des groupes amines. D'habitude, la chitine est partiellement désacétylée par N-désacétylation alcalines. La désacétylation est généralement effectuée par le traitement avec l'hydroxyde de sodium ou potassium concentré (figure II.2) [26]. Il y a plusieurs facteurs essentiels qui affectent le rendement de désacétylation comme la température, la durée de traitement, la concentration d'alcalin, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, la densité de la chitine et la taille des particules. Compte tenu de ces paramètres, l'objectif idéal de désacétylation est de préparer un chitosane qui est non dégradé et parfaitement soluble dans l'acide dilué (acides acétique, lactique, citrique, etc) [27].

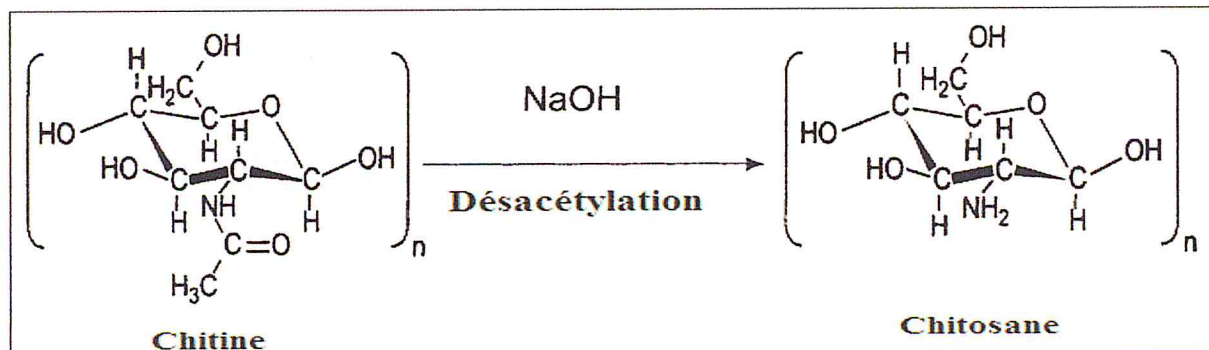


Figure II.2: Conversion de la chitine en chitosane par la désacétylation[26].

II.1.1.3. Propriétés physico-chimiques du chitosane :

La chitine est une substance blanche avec une structure inélastique de poids moléculaire élevé, de stœchiométrie (C₈H₁₃NO₅)_n, elle contient 6,9% d'azote. Le chitosane est une amine primaire de stœchiométrie (C₆H₁₁NO₄)_n, il contient 8,7% d'azote. [28]

La chitine et le chitosane sont caractérisés par le degré de désacétylation (DD), le poids moléculaire, la cristallinité et la solubilité...etc., Ces paramètres influents sur les propriétés physico-chimiques du chitosane.

II.1.1.3.a. le Degré d'Acétylation (DA) ou le Degré de Désacétylation (DD)

Le degré de désacétylation DD est défini comme étant la fraction molaire des unités désacétylées (unité glucosamine), contrairement au degré d'acétylation DA qui est défini comme étant la fraction molaire des unités acétylées (unités acétylé glucosamine). [29]

Le DD et le DA sont reliés par l'équation suivante :

$$DD = 100 - DA\% \quad [30]$$

La caractérisation du chitosane exige la détermination du DD et le poids moléculaire, plusieurs techniques ont été proposées tels que : FTIR, DRX et la technique la plus efficace est la RMN et le viscosimètre.

-sur des échantillons solides : pour les poudres on utilise l'FTIR mais les résultats sont beaucoup plus précis sur les films de chitosane.

-sur des échantillons en solutions : plusieurs méthodes de caractérisations sont employées par exemple le dosage UV. [31]

II.1.1.3.b. la viscosité :

La viscosité du chitosane dépend du DD de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et par conséquent sa viscosité plus importante [32].

La viscosité dépend également : de la concentration du polymère (elle croît avec la concentration) , de la température (elle chute lorsque la température augmente) , du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque augmente en fonction du poids moléculaire) , et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée .[33]

II.1.1.3.c. la masse molaire moyenne :

Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de 200000g.mol^{-1} et un DA allant de 2 à 25%. La masse molaire et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne sont dépendantes de la méthode de désacétylation utilisée. De plus, un enchaînement successif de plusieurs motifs N-acétylés confère au polymère un caractère plus hydrophobe, et par conséquent il modifie sa solubilité [27].

II.1.1.3.d. la solubilité :

La solubilité du chitosane dépend en général de la nature de l'acide utilisé de la valeur du pH et du DD, de la force ionique, et de la distribution des groupes acétyles le long de la chaîne macromoléculaire [34].

Le chitosane est soluble dans les acides faiblement dilués (comme l'acide acétique, lactique, citrique... etc.). En raison de sa solubilisation en solution acide, le chitosane se comporte comme un polyélectrolyte cationique de forte densité de charge. Ses propriétés dépendent du pH du milieu [35].

Lorsque le DD est faible, le chitosane est peu soluble car les groupes amines sont peu nombreux. Il est alors préférable d'utiliser un chitosane au DD supérieur à 70% pour avoir une solubilité minimale de celui-ci [36].

De plus, sa solubilité augmente lorsque la masse molaire diminue. Le **tableau II.1** présente la corrélation entre les valeurs de DD et la solubilité du chitosane [34].

Tableau II.1 : corrélation entre les valeurs DD et la solubilité du chitosane à Ph 6 [34].

DD%	Solubilité du chitosane
>75	Parfaite
=50	Moyenne
<40	Faible

II.1.1.3.e. la cristallinité :

Le chitosane est également une substance semi cristalline. Il se cristallise dans le système orthorhombique sous deux types de cristallinité différents: Le type I du chitosane

correspondant à un faible DD (sels de chitosane) est plus désordonné que le type II. Celui-ci a un fort degré de désacétylation (forme amine libre) [37].

II.1.1.3.f. la réactivité :

Le chitosane présente une bonne Réactivité au niveau des groupements amines et groupements hydroxyles [22].

Le chitosane est une base faible présentant un pKa voisin de 6,3 [34]. sa réactivité est liée à la présence de la fonction amine portée par le carbone 2. Elle est de deux types [38]:

- * Réactivité à pH acide, où il est soluble (en dessous de pKa= 6,3) les amines subissent une protonation et deviennent chargées positivement, le chitosane devient alors un polyélectrolyte cationique hydrosoluble. il est d'ailleurs le seul polycation d'origine naturelle [38].
- * Réactivité à pH basique, où il est insoluble (en dessus de pKa= 6,3). Le chitosan perd ses charges positives, les groupements amines sont déprotonés et le chitosane est insoluble dans l'eau [34,38].

II.1.1.4. Applications :

De part leur bonne caractéristique et de nombreuses propriétés physico-chimiques et biologique intéressantes tels que: la biocompatibilité, la biodégradabilité et la non-toxicité [39], qui ont permis des applications très diverses comme dans les industries d'alimentation, de textile et de produits de beauté, en plus des applications environnementales et biomédicales [40]. Le **tableau II.2** présente quelques applications du chitosane [41].

Tableau II.2: Quelques applications du chitosane [41].

Domaines	Applications
Agriculture	Protection des plantes; augmentation des rendements de récolte (réduction de la croissance des mycètes phytopathologique); enduit de graine et d'engrais; traitement du sol.
La technologie biomédicale	Activités biologiques (antifongique, antimicrobien, anti-infectieux); agent anti-tumoral; effet hémostatique; augmentation de la coagulation du sang; favorisation de la croissance du tissu;

	stimulation de la prolifération des cellules; peau artificielle; fils de suture/bandage, ophtalmologie; lentilles de contact.
La biotechnologie	Immobilisation des cellules et des enzymes; matériaux stimulants de cellules; matrice pour l'affinité ou les membranes.
La chimie industrielle	Purification d'eau (chélation des métaux); technologie de l'eau (floculation, absorption); traitement des boues ; membranes d'osmose inverse, membranes de filtration; séparation des gaz ; production de films d'emballage biodégradables; la catalyse.
Cosmétique et toilette	Les laques pour les cheveux; lotion; crème pour le corps et les mains; shampooing; crèmes hydratantes.
L'industrie alimentaire	Régime alimentaire et fibre diététique; activité hypocholestérolémie (liaison cholestérol,acides gras et mono glycérides); la conservation des nourritures de la détériorationmicrobienne; la bioconversion pour la production de produits alimentaires à valeur additionnée; rétablissement des déchets de la transformation des produits alimentaires;clarification et désacidification des jus de fruit et des boissons; agent émulsionnant; stabilisant de couleur; additives alimentaires des animaux.
Pharmaceutique	Commandés de micro capsules (formant des gels et des capsules avec des polymères anioniques); transporteur des médicaments à libération contrôlée; produits ermatologiques (traitement de l'acné).
Autres	Textile (propriétés anti-bactériennes); pulpe et papier (résistance au mouillage); œnologie (clarification, désacidification); dentisterie (implants dentaires); photographie (papier).

II.1.2 Amidon :

II.1.2.1. Généralité :

L'amidon est la principale substance glucidique de réserve des végétaux supérieurs. Il représente une fraction pondérale importante dans un grand nombre de matières premières agricoles comme les céréales (30 % à 70 %), les tubercules (60 % à 90 %) et les légumineuses (25 % à 50 %). C'est un composé peu coûteux, renouvelable, qui trouve dans les médicaments comme agent liant et comme excipient et dans les aliments de multiples fonctions comme épaississant, gélifiant, liant sous sa forme d'empois d'amidon granulaire et comme matières sucrantes, liantes, support lorsqu'il est employé sous forme hydrolysé [42].

Le terme amidon est gardé pour les céréales (maïs, blé, riz) alors que le terme féculé est préféré pour les amidons de tubercule (pomme de terre) ou de racine (manioc) [43].

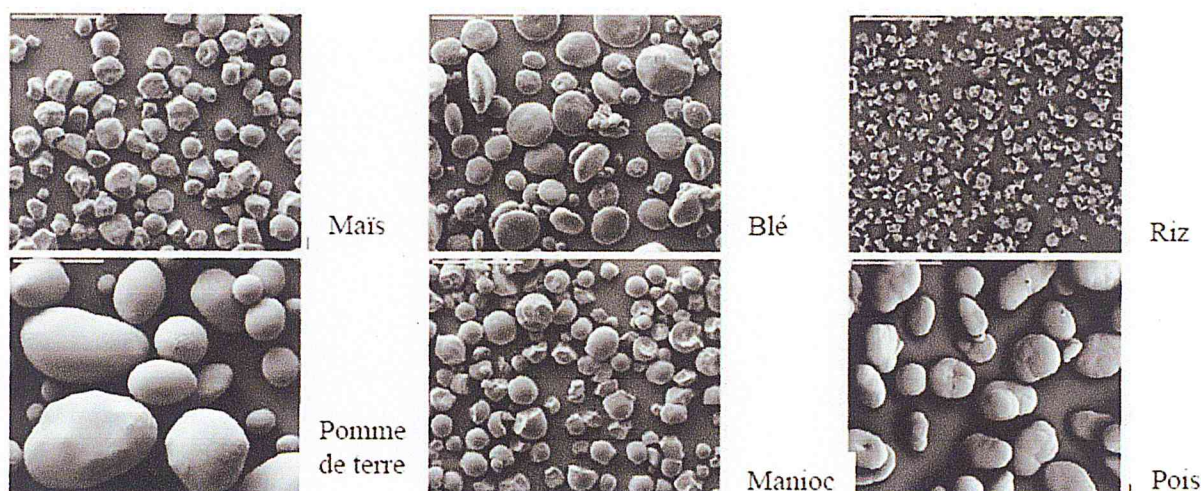


Figure II.3: Formes et tailles des granules d'amidon de maïs, blé, riz, pomme de terre, manioc et de pois (MEB grossissement $\times 280$) [43].

II.1.2.2. Composition chimique de l'amidon

L'amidon est constitué majoritairement d'une fraction glucidique (98 à 99%) et d'une fraction non glucidique mineure (1 à 2%). Cette dernière, malgré sa présence en faible quantité, ne doit pas être négligée, car elle modifie les propriétés fonctionnelles, en particulier la présence des lipides. L'amidon est un polysaccharide dont le monomère est le glucose, de formule $(C_6H_{10}O_5)_n$, (Figure II.4), dans la conformation chaise la plus stable. Les unités D-glucoses sont liées majoritairement (95 à 96 %) par des liaisons de type α -

(1,4) et dans une moindre mesure (4 à 5 %) par des liaisons de type α -(1,6). L'amidon est composé de deux polymères de structure primaire différente: l'amylose, molécule essentiellement linéaire et l'amylopectine, molécule ramifiée [44].

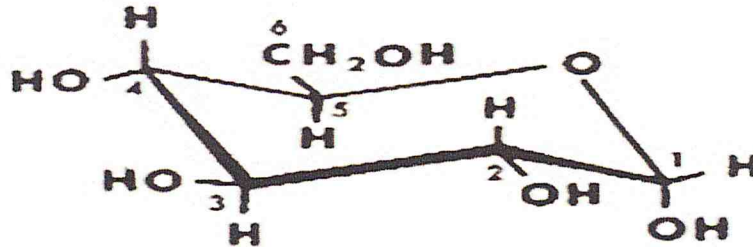


Figure II.4: Structure chimique du D-glucose

II.1.2.2.a. Amylose

L'amylose est caractérisé par une macromolécule de structure linéaire constituée d'unités α -D- glucose, liées par des liaisons de type α (1-4) (figure II.5). L'amylose se compose de plusieurs chaînes présentant des degrés de polymérisation variables, fonction de l'origine botanique, entre 500 et 6000 unités glucose [45].

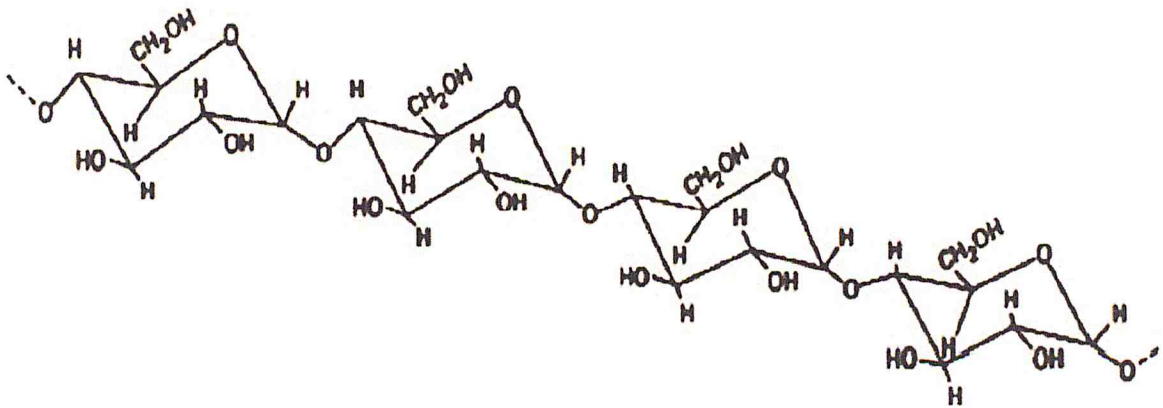


Figure II.5: Structure chimique de l'amylose [46].

II.1.2.2.b. Amylopectine

Contrairement à la longue chaîne linéaire d'amylose, l'amylopectine est une macromolécule de structure ramifiée (figure II.6). L'amylopectine est formée par la polymérisation d'un seul monomère D-glucose, lié principalement par des liaisons α (1-4) et quelques liaisons α (1-6) à l'origine des ramifications, ces dernières représentent environ 5 à 6% du nombre total de liaisons [47].

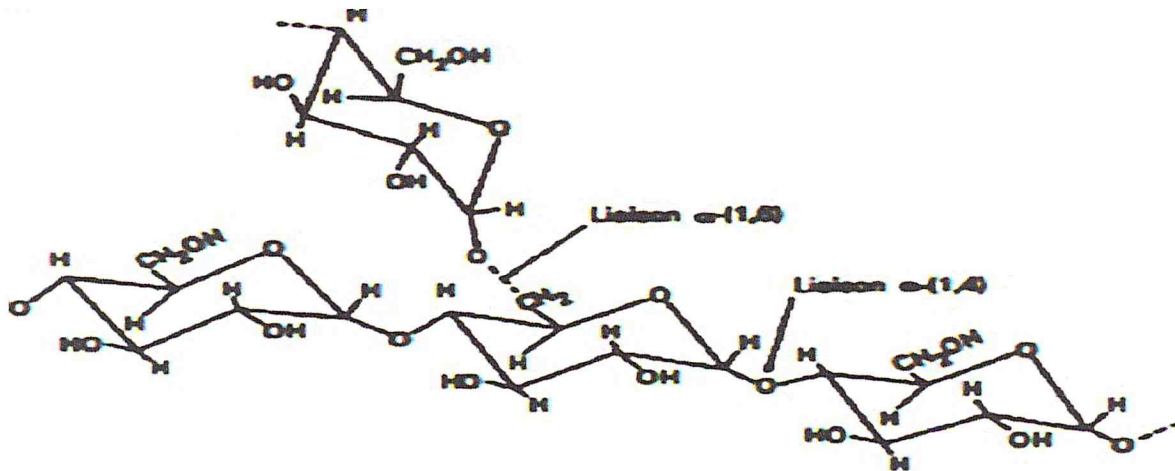


Figure II.6 : Structure chimique de l'amylopectine [46].

II.1.2.2.c. Autres constituants

L'amidon contient également un certain nombre de constituants mineurs (protéines, lipides, minéraux) dont la localisation au niveau du grain (interne/externe) et la teneur fonction de l'origine botanique de l'amidon, des conditions de biosynthèse et dans une moindre mesure de son histoire technologique (séparation, séchage...). La présence de lipides internes en quantité supérieure à 0.5% est caractéristique des amidons de céréales (blé 0.8-1.2%, maïs 0.6-0.8%), mais leur nature diffère selon l'espèce botanique [48].

II.1.2.3 Composition moléculaire

L'amidon consiste en deux glucines structurellement différentes : l'amylose, polymère linéaire (c.-à-d. non branché) et l'amylopectine, polymère fortement branché. L'amylopectine est le constituant principal de la plupart des amidons [49].

La teneur en chacun des constituants est différente suivant l'origine de l'amidon est trouver dans le tableau suivant :

Tableau II.3 : Teneur en amylose et amylopectine des amidons de différentes sources botaniques [50] :

Source botanique	Amylose (%)	Amylopectine (%)
Maïs	28	72
Pomme de terre	21	79
Blé	28	72
Riz	17	83
Pois	35	65
Manioc	17	83

II.1.2.4 Structure granulaire d'amidon :

A l'état natif, l'amylose et l'amylopectine sont disposées au niveau d'entités granulaires semi-cristallines, dont la taille (1-100 μm) et la morphologie (sphérique, lenticule, polyédrique...) sont sous contrôle génétiques et en conséquence fonction de leur origine botanique [51] (tableau II.4)

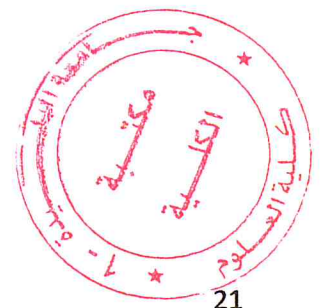
Tableau II.4 : formes et dimensions de grains d'amidon [51-52]

Origine botanique	Amidon%	Forme	Diamètre μm
-Blé	67.2 – 68.4	Lenticulaire, polyédriques	2 - 38
-Mais	71 - 74	Polyédriques	5 - 25
-Riz	74.6 - 88	Polyédriques	6.8
-Pomme de terre	65.0 - 85.0	Ellipsoïdale	5 - 100
-Lentille	55.0 - 68.0	Réniforme	20 - 40
-Pois lisse	43.0 - 48.0	Réniforme (simple)	-
-Pois ridé	32.0 - 37.0	Rosette (composé)	-

II.1.2.5. Propriétés fonctionnelles d'amidon :

De nombreuses applications de l'amidon impliquent des traitements hydrothermiques (empesage, cuisson, extrusion ...) qui conduisent à des modifications structurales plus ou moins importantes suivant la teneur en eau et la température utilisées.

La maîtrise des utilisations de l'amidon nécessite la bonne connaissance des transitions de phase impliquées et des structures résultantes. Les températures de transition vitreuse et de fusion qui dépendent fortement de la teneur en eau ou autre plastifiant et de la structure primaire des macromolécules impliquées (longueurs de chaînes, taux de branchement), déterminent à la fois les critères de transformations des amidons natifs et les propriétés des substrats amylicés résultant de leurs modifications. [48]



ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III :
EXPERIMENTATION

III.1 Introduction

L'encapsulation est une technique permettant d'incorporer des matières sensibles (arômes, huiles essentielles, principes actifs médicamenteux (solide, liquide ou gazeux) dans des matrices sous formes des micro ou nanoparticules

L'encapsulation est réalisée généralement par l'usage d'un ou plusieurs polymères avec des réticulants conduisant à la formation des particules sphériques ou sous forme de capsules à l'échelle micro ou nanométrique.

Nombreux polymères sont utilisés dans l'encapsulation, parmi eux, on peut citer les macromolécules de nature polysaccharidique telles que l'amidon et le chitosane.

Dans ce travail, on a envisagé de procéder à l'encapsulation de la doxycycline, antibiotique pris comme modèle de principe actif, dans des matrices à base des deux polymères saccharidique l'amidon et le chitosane.

III.2. Matériels et méthodes

III.2.1. Matériel

III.2.1.1. Produits utilisés

Nous présentons dans les tableaux ci-dessous quelques caractéristiques des produits utilisés dans notre travail.

Tableau III.1 : Doxycycline hyclate

Principe actif	Caractéristique principale	Actions pharmaceutique
Doxycycline hyclate $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl \cdot \frac{1}{2} H_2O$ $\cdot \frac{1}{2} C_2H_6O$	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forme : poudre cristalline ▪ Couleur : jaune ▪ M : 512,94 g/mol 	Elimination : la $\frac{1}{2}$ vie d'élimination après une intraveineuse administration est de 9,5 +/- 3,0h ; et après une fois d'administration orale est de 12,6 +/- 5,0h

Tableau III.2 : Polymères

Polymère	Caractéristique principale	Solubilité, T _f , ρ
Amidon de pomme de terre (C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forme : poudre ▪ Couleur : blanche ▪ M : (162,14)_n g/mol 	Solubilité : 50 g/l (eau, 90°C) T _f : 200°C
Chitosane	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forme : solide ▪ Couleur : beige 	DD=88.4%

Tableau III.3 : Agents réticulants

Produit	Caractéristique principale	Solubilité, T _f , ρ	Stabilité
Hexametaphosphate de sodium (NaPO ₃) ₆	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forme : cristaux ▪ Couleur : blanc ▪ M : 611,7704 g/mol ▪ pH : 7 (solution aqueuse à 1%) 	Soluble dans les solvants organiques non déterminée, produit hygroscopique T _f : 628°C ρ : 2,48g/cm ³	Stable à température ambiante et dans les conditions normales d'emploi.
Tripolyphosphate de sodium Na ₅ P ₃ O ₁₀	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forme : cristaux ▪ Couleur : blanc ▪ M : 367,86 g/mol 	Solubilité dans l'eau : 14,5g/100mL (25°C) T _f : 622°C ρ : 0,39g/cm ³	Substance incompatibles avec les acides forts et l'humidité
Polyéthylèneglycol 1500 HO(C ₂ H ₄ O) _n H	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forme : semi-solide ▪ Couleur : 	Soluble dans l'eau, dans plusieurs solvants organiques ; facilement	Stable dans les acides, les bases, à la chaleur, au dioxygène, aux oxydants

	blanche ▪ M : $10(24)_n$ g/mol	soluble dans les hydrocarbures aromatiques et aliphatiques $T_f: 42-48^\circ\text{C}$	et aux réducteurs comme NaBH_4
Formaldéhyde CH_2O	▪ Forme : liquide ▪ Couleur : transparent ▪ M : 30,03 g/mol	Solubilité dans l'eau : 400g/dm^3 $\rho = 0,92\text{g/cm}^3$	

Tableau III.4 : Acides et bases

Produits	Caractéristique principale	Solubilité, T_f , ρ	Stabilité
Hydroxyde de sodium NaOH	▪ Forme : solide ▪ Couleur : pastille blanche ▪ M : 40,00 g/mol ▪ pKa : base forte	Très soluble dans l'eau à 20°C et dans l'éthanol. $T_f: 318^\circ\text{C}$ $\rho : 2,1\text{g/cm}^3$	
Acide chlorhydrique HCl	▪ Forme : liquide ▪ Couleur : incolore ▪ M : 36,461g/mol ▪ pKa : acide fort dans l'eau	Solubilité : 700g/l (eau) $T_f: 35^\circ\text{C}$ $T_e: 42^\circ\text{C}$	Stable à température ambiante et dans les conditions normales d'emploi.
Acide acétique CH_3COOH	▪ Forme : liquide ▪ Couleur : transparent ▪ Odeur : vinaigre ▪ M : 60,05g/mole ▪ pH : 2,4	Miscible avec l'eau en toutes proportions. $T_e: 117,9^\circ\text{C}$ $\rho : 1,054\text{g/cm}^3$	Substances incompatibles avec les agents réducteurs forts (potassium, sodium, les hydrures de métaux)

Tableau III.5 : Sels.

Produits	Caractéristique principale	Solubilité, T _f , ρ	Stabilité
Chlorure de potassium KCl	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forme : Cristaux hygroscopique ▪ Couleur : blanc ▪ M : 74,551 g/mol 	Solubilité : 0,340 g/cm ³ dans l'eau, 0,4 dans l'éthanol. Insoluble dans l'acétone T _f : 770 à 773,790 °C ρ:1,98 g/cm ³	Stabilité après ouverture : Sol. mère : 12h à T ambiante. Sol. diluée : 24h à T ambiante.
KH ₂ PO ₄	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forme : poudre ▪ Couleur : blanche ▪ M : 136,086 g/mol 	Légèrement soluble dans l'éthanol	

III.2.1.2. Matériel :

L'ensemble du matériel utilisé pour l'encapsulation des microsphères est porté dans le tableau III.5 ci-après

Tableau III.6 : matériel de l'expérimentation

Matériel	Type	Etendue de mesure
Balance analytique de précision	Ohaus pioneer TM	De 0 à 210g
Agitateur magnétique	HANNA Instruments	
Agitateur électrique	IKA RW20 digital	0/30 – 2000 rpm
Spectrophotomètre UV/visible	Jenway 6305	198 ≥ λ ≥ 1000 nm
Spectrophotomètre FTIR	JASCO FT/IR 4100	4000 cm ⁻¹ ≥ 1/λ ≥ 400 cm ⁻¹
pH mètre	pH50	0 à 14 pH
Plaque d'agitation magnétique avec chauffage	Snijders	
Centrifugeuse	unicen 21	4200 RPM
Etuve	BINDER	De 0 jusqu'à 250°C
Microscope électronique à	QUANTA 650 FEI	Echantillon conducteur

balayage		jusqu'à 3nm
Microscope optique	LEICA EC3	*5 ; *10 ; *20 ; *50
Diffractomètre à rayons X	D2-PHASER BRUKER	angle de 2 à 32

III.2.2. Méthodes

III.2.2.1. Méthode d'encapsulation

L'encapsulation de la doxycycline a été réalisée par deux méthodes :

- **Méthode par coacervation complexe** : qui consiste à réticuler le ou les polymères (Chitosane 2% et amidon 16%) en présence du PEG 20% avec les agents phosphatés l'HMPS (6%) ou le TPPS (6%) aux conditions de température et de pH appropriées.
- **Méthode par gélification de goutte** : qui consiste à l'injection goutte à goutte de la solution formée par le mélange des deux polymères avec ou sans PA dans une solution de TPPS ou bien dans une solution d'HMPS sous agitation faible aux conditions de température et de pH appropriées. la suspension obtenue est filtrée, lavée et séchée.

Dans les tableaux ci-dessous on a reporté les différentes concentrations et conditions des différents tests effectués lors de ce travail.

Tableau III.7: Méthodes de coacervation complexe

N° Test	Solution de polymère	Réticulant	T (°C)	Résultat de la méthode
1	Solution d'amidon + Solution PEG	TPPS (4%)	30°C	Masse visqueuse de couleur blanche.
2	Solution d'amidon + Solution PEG	HMPS (4%)	30°C	Masse visqueuse de couleur blanche.
3	Solution d'amidon (16%) + Solution PEG (20%) + Solution de chitosane (2%)	HMPS (6%)	30°C	Masse visqueuse de couleur blanche.
4	Solution d'amidon (16%) + Solution PEG (20%) +	HMPS (6%)	30°C	Masse visqueuse de couleur blanche.

	Solution de chitosane (2%) + PA			
--	---------------------------------	--	--	--

Tableau III.8 : Méthodes de gélification de gouttes

N° Test	Polyméries	Réticulant	T (°C) ; pH	Résultat de la méthode
5	Solution Cs	HMPS (6%)	T<10°C ; pH = 5	MS blanchâtre
6	Solution Cs +PA	HMPS (6%)	T<10°C ; pH = 5	MS marron
7	Cs : Amd (1 :4)	TPPS (6%)	T<10°C ; pH = 2	Solution
8	Cs : Amd : (2 :3)	TPPS (6%)	T<10°C ; pH = 2	Solution
9	Cs : Amd : (3 :2)	TPPS (6%)	T<10°C ; pH = 2	Solution
		HMPS (6%)	T<10°C ; pH = 5	
10	Cs : Amd : (4 :1)	TPPS (6%)	T<10°C ; pH = 2	Solution
		HMPS (6%)	T<10°C ; pH = 5	
11	Cs : Amd : (5 :1)	HMPS (6%)	T<10°C ; pH = 5	Solution
12	Cs : Amd : (6 :1)	HMPS (6%)	T<10°C ; pH = 5	Solution
13	Cs : Amd : (7 :1)	HMPS (6%)	T<10°C ; pH = 5	Précipité Blanc
14	Cs : Amd : (8 :1)	HMPS (6%)	T<10°C ; pH = 5	Précipité Blanc
15	Cs : Amd : (9 :1)	TPPS (6%)	T<10°C ; pH = 2	Microsphères
16	Cs : Amd : (10 :1)	TPPS (6%)	T<10°C ; pH = 2	Microsphères
17	(Cs : Amd)/PA : (10 :1)	TPPS (6%)	T<10°C ; pH = 5	Microsphères avec un aspect marron
		TPPS (6%) /formaldéhyde 1%		

III. 2.2.2 Méthodes de caractérisation

III.2.2.2.a. Microscope optique

L'enregistrement des images obtenu par agrandissement en utilisant le microscope LEICA EC3

III.2.2.2.b Microscope électronique à balayage

La microscopie électronique repose sur le même principe que la microscopie optique, à la différence près que le rayon incident est constitué par un faisceau d'électrons au lieu d'un rayon de lumière visible. La microscopie électronique à balayage (MEB) d'obtenir une image réfléchie (agrandie jusqu'à 100 000 fois ou plus) de l'échantillon, mettant en évidence des détails (" l'effet profondeur ") impossibles à déceler autrement et de dimensions excessivement réduites. Les clichés ont été réalisés sur un MEB « QUANTA 650 ». Les échantillons ont été fixés à l'aide de colles conductrices (disque en charbon) sur des plots métalliques (STUBS).

III.2.2.2.c. spectrophotométrie infrarouge à transformée de fourrier

La spectrométrie infrarouge est un outil qui peut être employée pour l'identification d'une substance ou pour déterminer la composition d'un échantillon.

L'échantillon est avant tout broyé très finement pour en former des pastilles avec la poudre de KBr, les spectres IR sont ensuite enregistrés par l'instrument JASCO FT/IR 4100.

- Principe de la Spectroscopie Infrarouge

La spectrométrie infrarouge est la mesure de la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la fréquence de vibration de la liaison chimique dans une molécule.

Le rayonnement infrarouge dispense suffisamment d'énergie pour stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergie supérieurs. Elle est utilisée principalement pour l'analyse qualitative d'une molécule, en mettant en évidence la présence de liaisons entre les atomes (fonctions et groupements).

La majorité des applications se situe entre 2,5 et 25 μm soit en nombre d'ondes de 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} (IR moyen).

Un spectre infrarouge est traditionnellement présenté en transmission (fraction de l'intensité transmise par rapport à l'intensité incidente) exprimée en pourcentage et l'axe des abscisses en fonction du nombre d'onde (inverse de la longueur d'onde), sur un axe dirigé vers la gauche [53].

III.2.2.2.d. Diffraction par rayon X

Pour la présente étude, les échantillons ont été préalablement broyés avant d'être positionnés dans le porte échantillon du diffractomètre. L'acquisition des diagrammes de diffraction a été réalisée sur un Diffractomètre. Les données ont été Enregistrées sur une gamme angulaire.

L'appareil utilisé est un diffractomètre de type D2-PHASER BRUKER. Les Rayons X sont produits par une anticathode de cuivre alimentée sous 40KV et 40mA. La radiation $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$) séparée au moyen d'un monochromateur arrière en graphite courbé. Les fentes de divergence et d'antidiffusion sont programmables. Le diagramme des échantillons est enregistré sur un domaine angulaire compris: $2-32^\circ$ (2θ) par pas de 0,02. Le temps de comptage est de 1 seconde par pas. La loi de *Bragg* établit la condition essentielle à la diffraction, à savoir : deux rayons diffusés par un cristal sont en phase et s'additionnent si la différence entre leurs chemins parcourus au sein du cristal est égale à n fois ($n =$ nombre entier) leur longueur d'onde : $2 d_{hkl} \sin\theta = n\lambda$

Avec λ : la longueur d'onde du rayonnement utilisé ; θ : l'angle de réflexion ; d : la distance réticulaire entre deux plans atomiques adjacents d'une même famille et n : l'ordre de réflexion. [54]

III.2.2.2.e. Tests de libération

La cinétique de libération est réalisée par le suivi de l'évolution de la concentration du principe actif dans les solutions simulées gastrique et intestinal à la température de 37°C dans le temps, et avec une longueur d'onde de $\lambda = 267\text{nm}$.

Les solutions simulées gastrique et intestinal utilisés contiennent les composés suivants :

SGF (pH1.2):

KCl (0.2M): 50 mL

HCl: (0.2M); 85 mL

Le mélange est mis dans une fiole de 200mL et compléter avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge

SIF (pH7.4):

KH_2PO_4 (0.2M): 50 mL

NaOH (0.2M): 39.1mL

Le mélange est mis dans une fiole de 200mL et compléter avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge

III.3. Résultat et discussion

III.3.1. Préparation :

Le dispositif expérimental utilisé pour la réalisation des différents tests d'expérimentation est présenté par la **figure III.1** ci-après



Figure III.1. : Schéma du procédé de préparation des particules

Les particules préparées à base d'amidon et de chitosane sont présentées par la **figure III.2.**

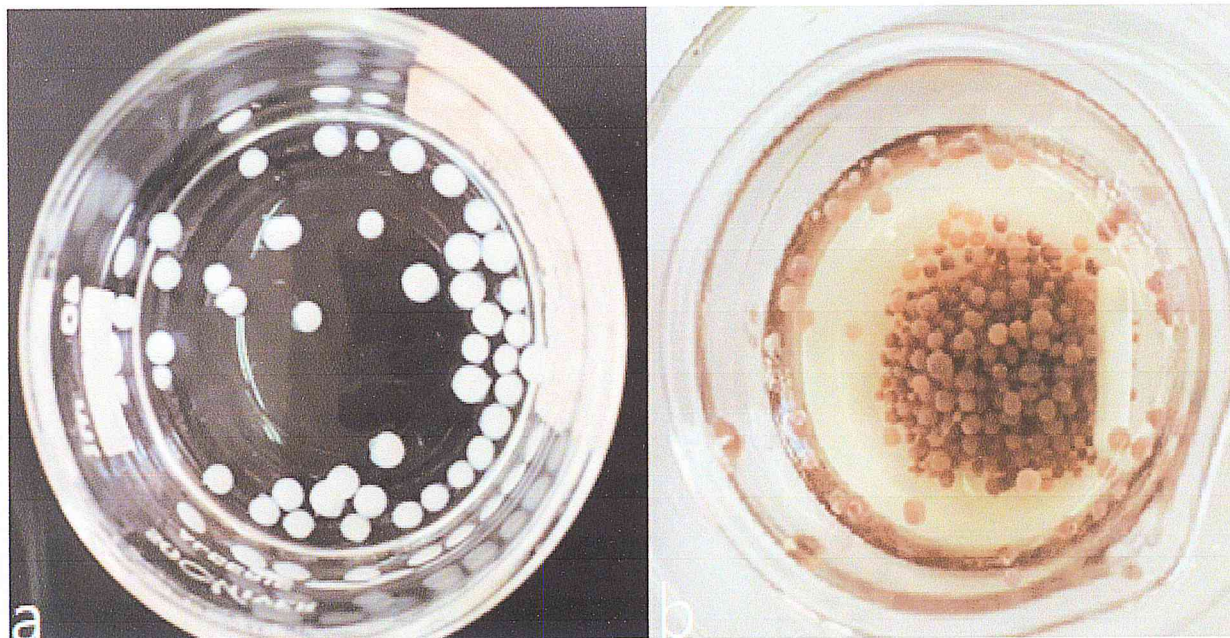


Figure III.2. : Photos numériques des particules obtenues : a) particules sans PA ;
b) particules avec doxycycline

D'après la **figure III.2.**, les particules obtenues paraissent visuellement de forme sphérique. La **figure III.2.a** présente des microsphères d'aspect blanc alors que la **figure III.2.b**, les particules sont de couleur marron. La couleur aperçue dans la **figure III.2.b** est due principalement à la présence du PA. Initialement, la doxycycline est de couleur jaune.

III.3.2. Caractérisation

Afin d'avoir plus d'informations relatives aux particules obtenues, on a procédé à leur caractérisation par les méthodes décrites ci-après.

III.3.2.1. Microscope optique

Les particules enregistrées par la microscopie optique sont présentées par la **figure III.3** suivante pour celles préparées à base d'amidon et du chitosan et la **figure III.4** pour celles préparées à base de l'amidon et du PEG.

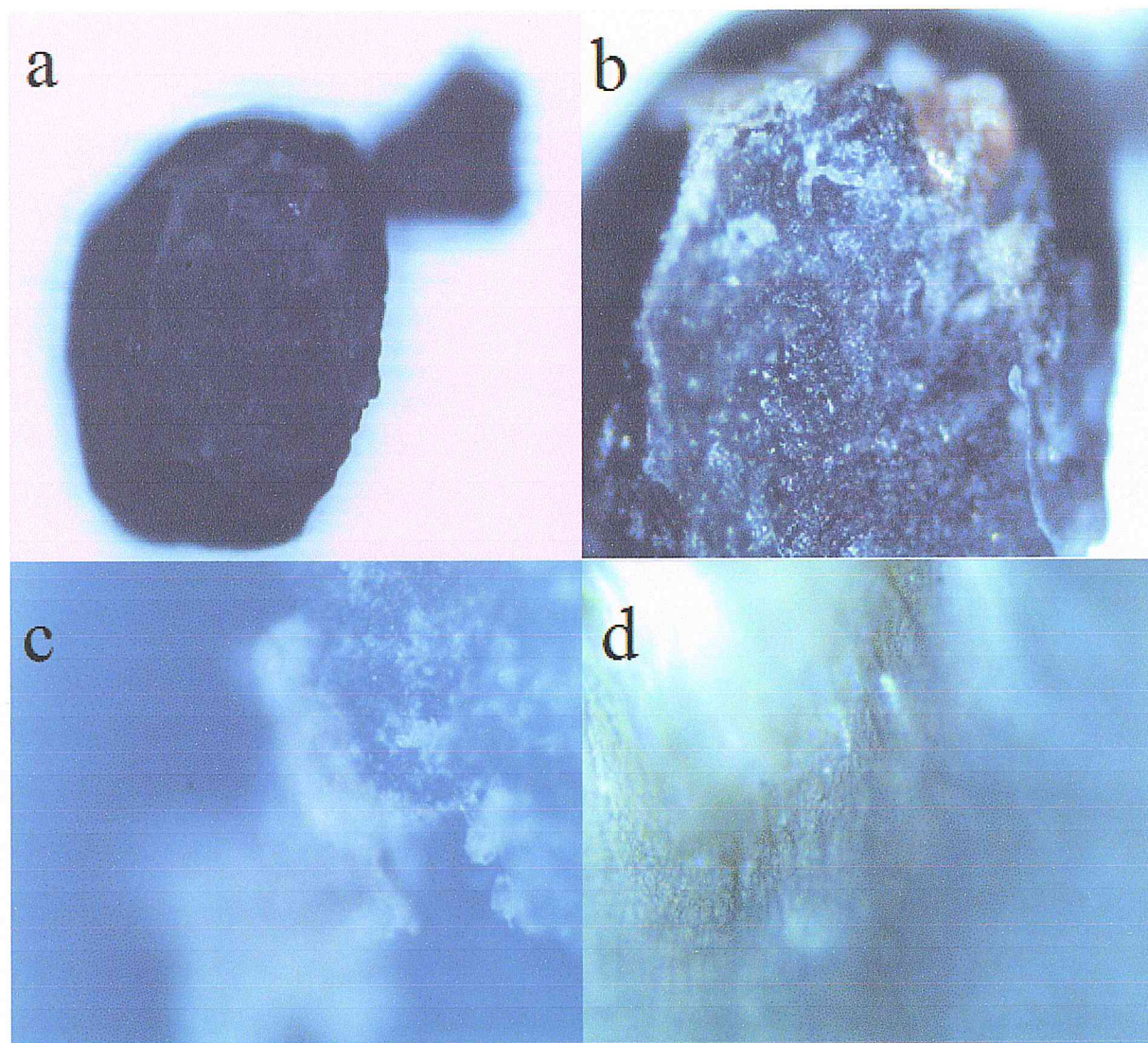


Figure III.3 : Photos des MS préparées à base du mélange «Chitosane-Amidon» obtenues par microscopie optique avec agrandissement variables. a) *5 b) *10 c) *20 d) *50

Nous pouvons constater, à travers ces photos que les particules préparées à base du mélange « Chitosane-Amidon » sont relativement sphériques avec une surface peu régulière et poreuse.

Les particules préparées à base d'amidon et du PEG représentées par la figure III.3, en revanche, sont de formes particulières de taille variable, de surface irrégulière et poreuse.

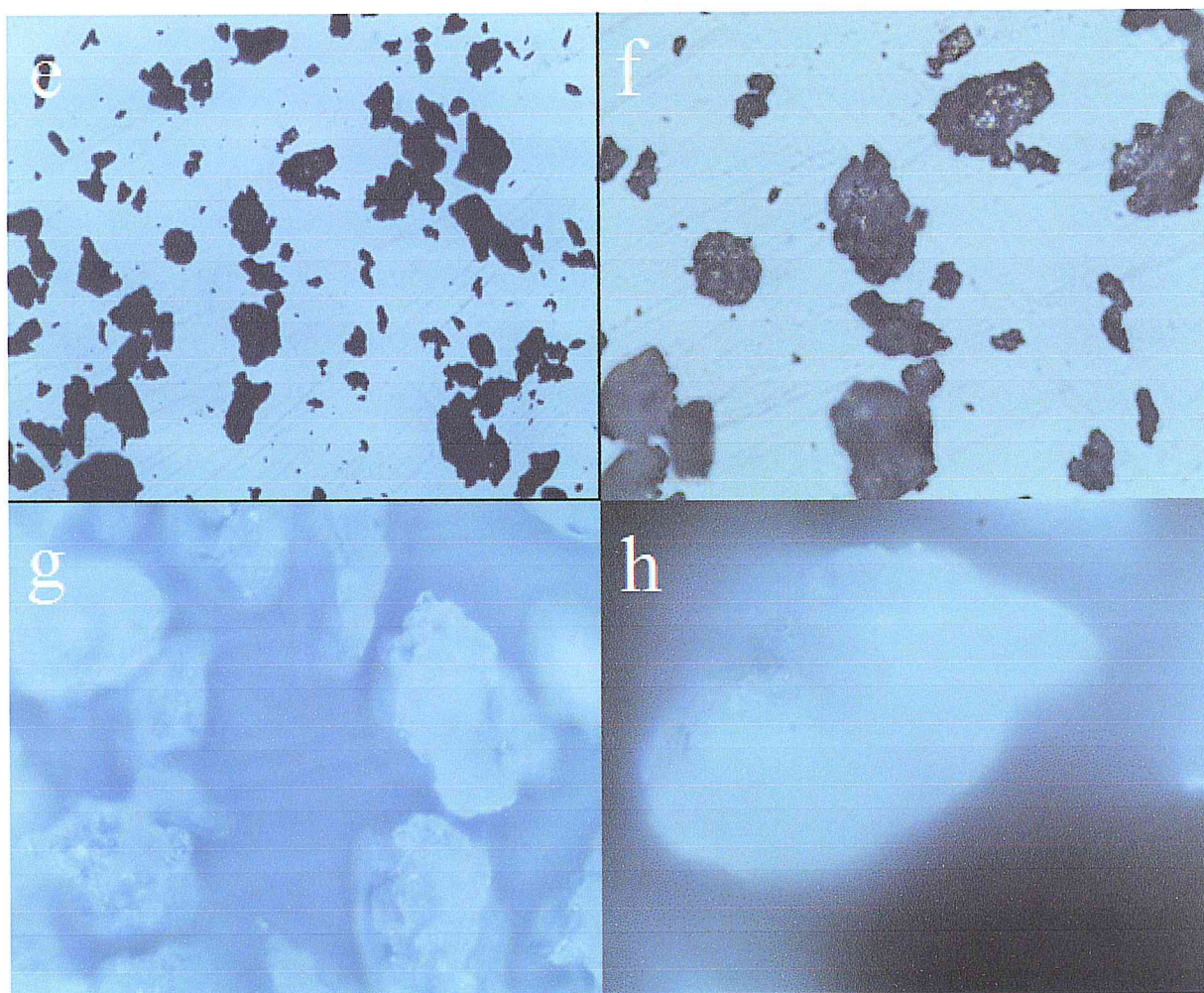


Figure III.4. : Photos des particules préparées à base d'amidon et de PEG enregistrées par microscopie optique avec agrandissement variables. e) *5 f) *10 g) *20 h) *50

III.3.2.2.MEB

Les microsphères (Chitosane-Amidon avec PA) et les microparticules (Amidon-PEG sans PA) sont caractérisées en deuxième lieu par la microscopie électronique à balayage et les photos enregistrées sont représentées respectivement par les **figures III.5. (a, b, c, d, e et f) et III.6. (a, b, c, d, e et f)** ci- dessous.

On peut voir à travers les **microphotographies III.5.a et III.5.b** que les particules obtenues sont de formes sphériques et dont le diamètre est inférieur à 1 mm. On peut observer également que ces particules présentent une surface irrégulière et poreuse (**microphotographie III.5.b, III.5.c et III.5.d**).

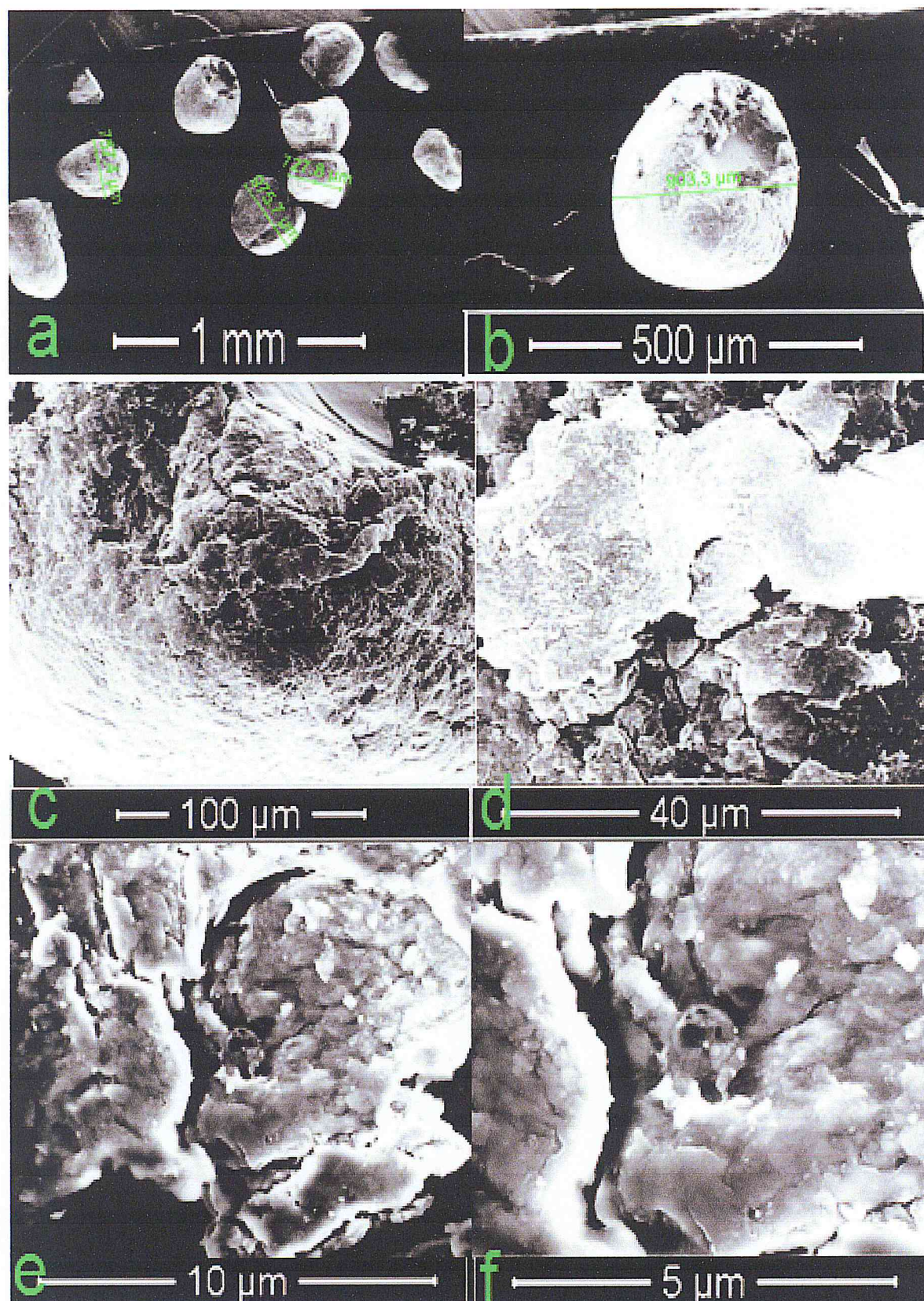


Figure III.5 : Microphotographies des microsphères (Amd-Cs PA) avec agrandissement
a) 1mm; b) 500 μm ;c) 100 μm ; d) 40 μm ;e) 10 μm ;f) 5 μm

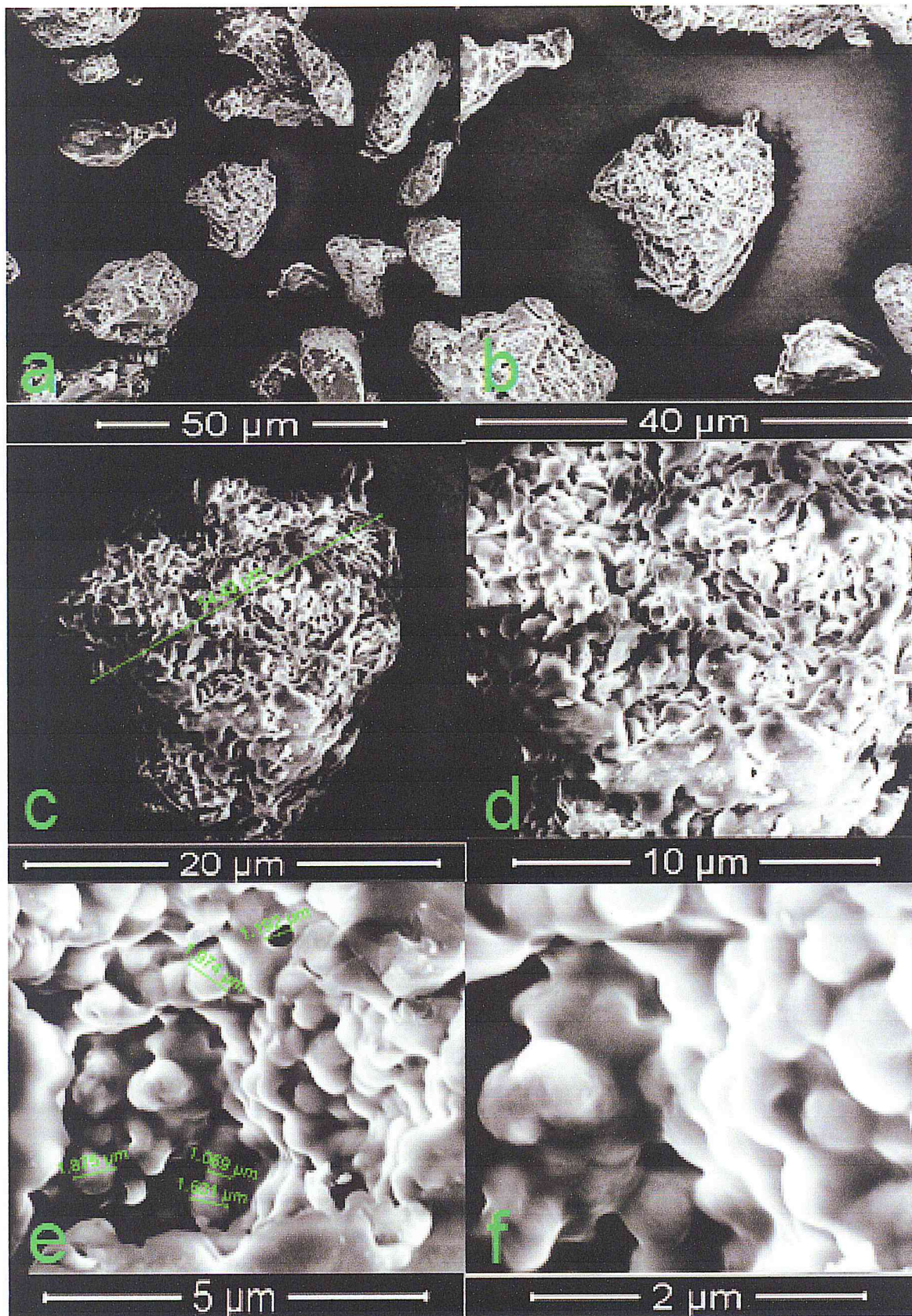


Figure III.6 : Microphotographies des particules (Amd-PEG) avec agrandissement.

a) 50 μm ; b) 40 μm ; c) 20 μm ; d) 10 μm ; e) 5 μm ; f) 2 μm

Les **microphotographies III.5.c, III.5.d, III.5.e, III.5.f** nous révèle que l'antibiotique est dispersé au sein des particules, ce qui confirme l'encapsulation de l'antibiotique. On peut déduire donc que les particules préparées à base de chitosane-amidon sont des microsphères.

Dans le cas de l'encapsulation à base du mélange Amidon-PEG, les images correspondantes sont représentées par les **microphotographies III.6.a, III.6.b, et III.6.c**. A partir de ces microphotographies, on peut relever que les particules sont de taille inférieure à 1 mm et avec des formes différentes, on peut donc dire que le produit d'encapsulation est sous forme de microparticules. Les **microphotographies III.6.d, III.6.e et III.6.f** montre que les microparticules sont poreuses et les pores sont de taille inférieure à 2 μm .

III.3.2.3. DRX

L'analyse de l'échantillon des particules, préparées à base d'amidon et du PEG, par DRX a permis d'obtenir les diffractogrammes représentés sur la figure suivante :

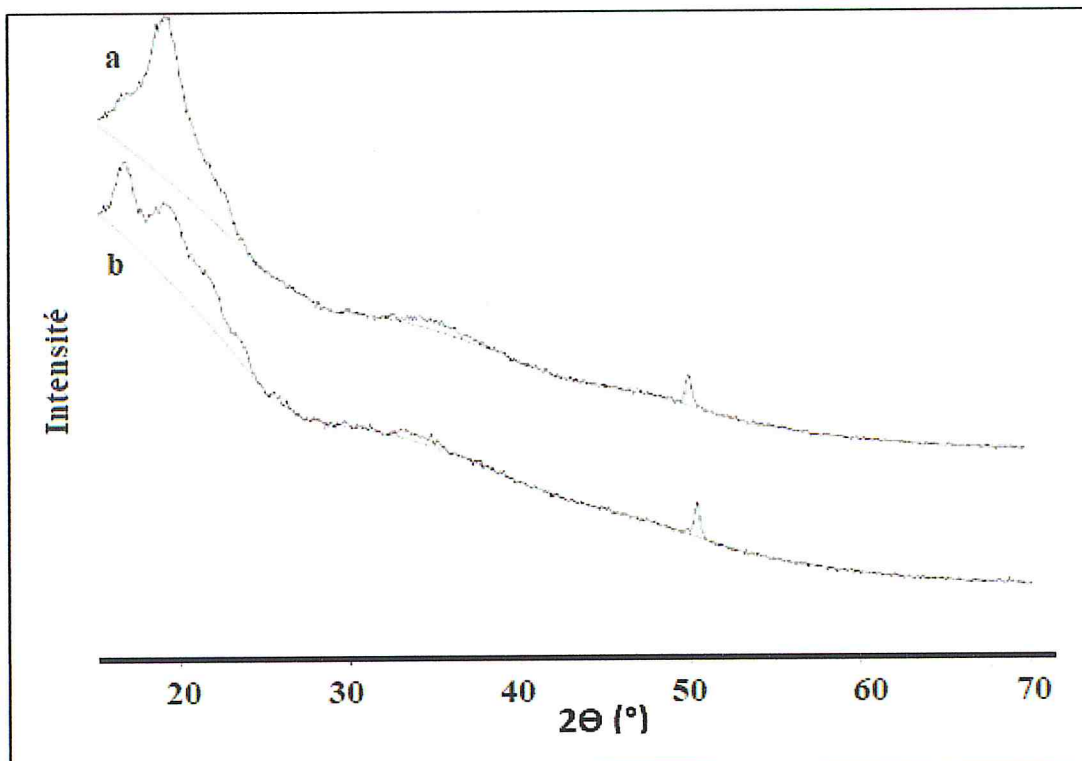


Figure III.7 : Diffractogrammes des particules

D'après la figure, un pic large est observé vers l'angle 2θ à 20° et un pic étroit du deuxième angle 2θ à 50° dans le diffractogramme "a". Dans le diffractogramme "b", on constate l'apparition d'un deuxième pic vers 10° et un deuxième vers 15° .

D'après la littérature, l'amidon qui est semi-cristallin, il a été révélé que les pics DRX sont observés vers 2θ de 16° , 18° et 22° . La région de la structure cristalline se trouve suite à l'arrangement structural de la double hélice de l'amylopectine. Cependant l'amylose qui est associée avec la région amorphe est considérée comme responsable de l'absorption de l'eau. Dans notre cas, les diffractogrammes confirment la présence de l'amidon où on relève les pics 15° dans le diffractogramme "b" et 20° dans le diffractogramme "a".

III.3.2.4. FTIR

Afin de confirmer de détecter les différentes interactions entre les composés mis en jeu lors de la préparation des particules, une caractérisation FTIR est réalisée.

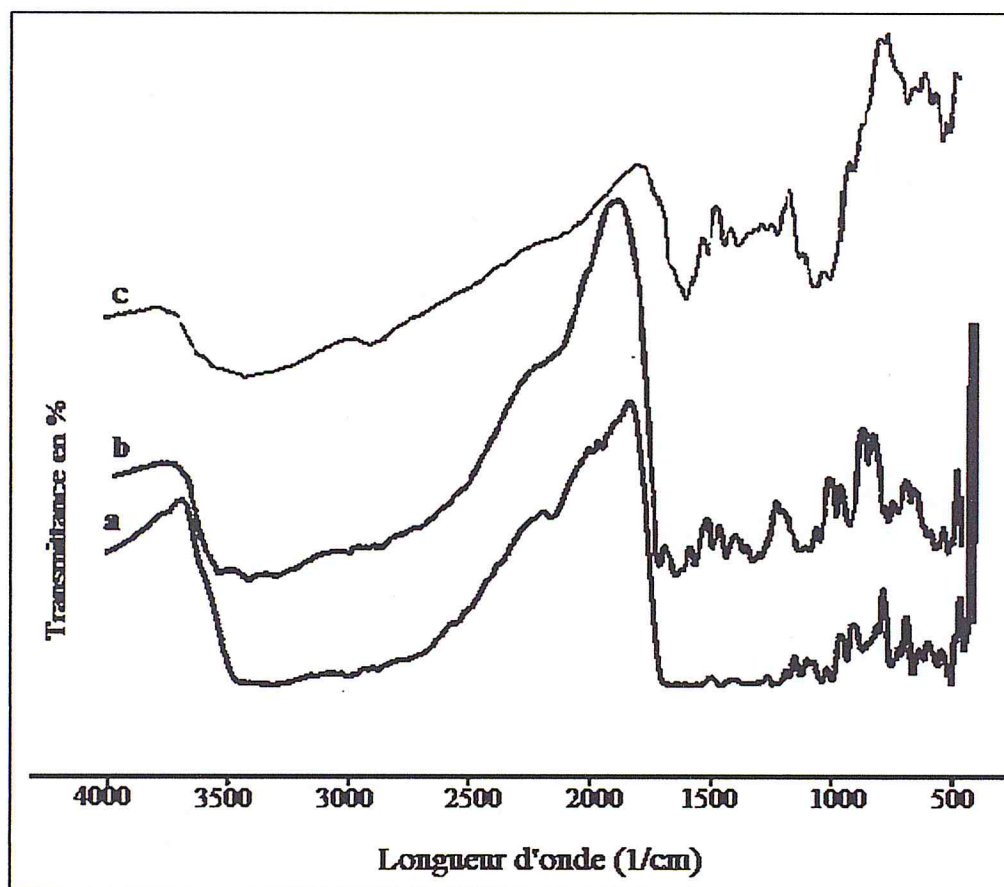


Figure III.8 : Spectres des microsphères chargées en doxycycline. a) spectre de la doxycycline ; b) spectre des MS Cs/PA ; c) spectre des microsphères Cs/Amidon/PEG/PA

L'analyse FTIR a permis d'obtenir les spectres représentés par les **figures III.8**.

En se référant à la structure chimique de la doxycycline présentée ci-dessous (**figure III.9**), on peut relever les différents groupements caractéristiques de cette molécule ci- après

- OH
- C=O
- C-Cl
- CONH₂
- C=C

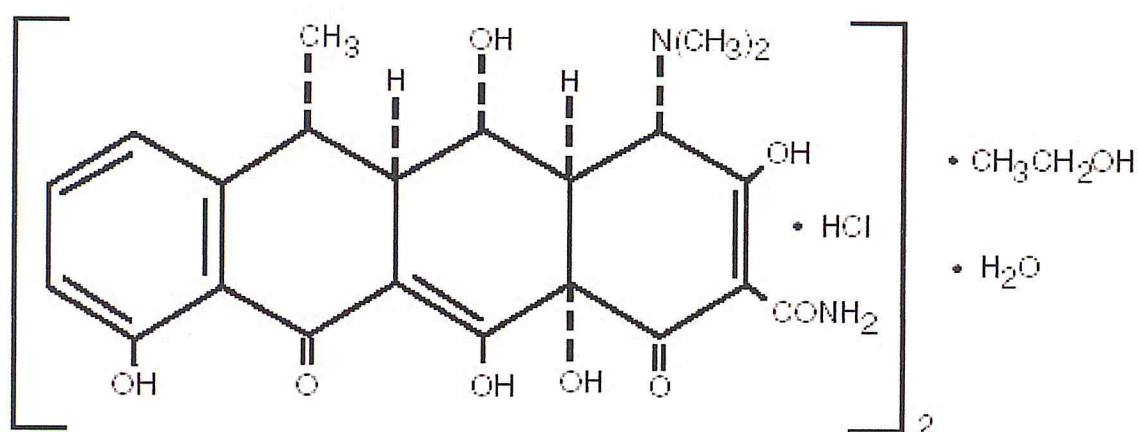


Figure III.9 : Structure chimique de doxycycline hyclate

D'après les spectres de la **figure III.7**, représentant les microsphères représentant le spectre de la doxycycline, on peut observer un ensemble de groupements relatifs à cette molécule.

Les bandes relevées des spectres 3500 cm⁻¹, 3400 cm⁻¹, 1650, 700-800 cm⁻¹ peuvent être attribuées respectivement aux liaisons CONH₂, OH, C=O et à la liaison C-Cl. On peut également observer le pic vers 1860 cm⁻¹ qui peut être attribuée à la liaison C=C, liaison caractéristiques de la structure saccharidique.

Le spectre correspondant aux microsphères à base d'amidon-chitosan chargées en doxycycline montre les bandes caractéristiques des composés de la matrice, le chitosan, l'amidon et l'antibiotique. En effet, on peut observer la bande 3400 cm⁻¹ qui peut être assignée aux groupements hydroxyle « OH ». Une autre bande est relevée vers 1100 cm⁻¹ qui peut être attribuée à la liaison α(1,4). Celle-ci confirme la présence d'une structure

saccharidique α (1,4). Les vibrations caractéristiques C-O-C du squelette apparaissent vers la zone $900-500\text{cm}^{-1}$

D'après la **figure III.10**, on peut voir l'incidence de l'usage du formaldéhyde sur les microsphères. D'ailleurs, on peut remarquer que le formaldéhyde a induit une modification sur les liaisons. On peut un changement dans le spectre vers la zone $1000-1500\text{cm}^{-1}$. Avec la présence des bandes caractéristiques de la doxycycline, les modifications sont difficiles à détecter.

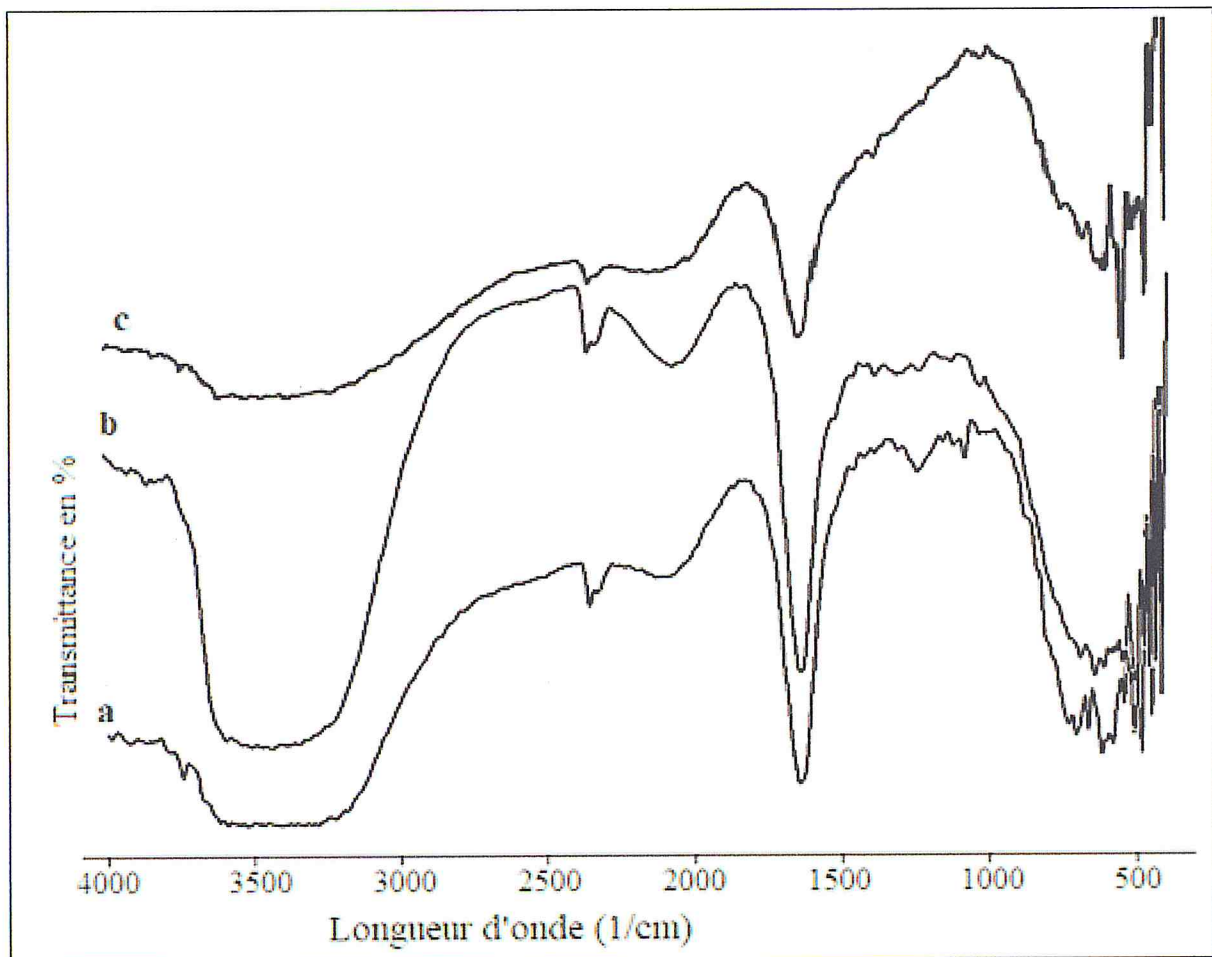


Figure III.10 : Spectres des microsphères à base de a) microsphères sans PA; b) microsphères avec PA/FA; c) microsphères avec PA

:

III.3.2.5. Cinétique de libération

Avant d'entamer l'étude de libération, on a procédé à la détermination de la courbe d'étalonnage avec $\lambda_{\max} = 267\text{nm}$ présentée ci-dessous

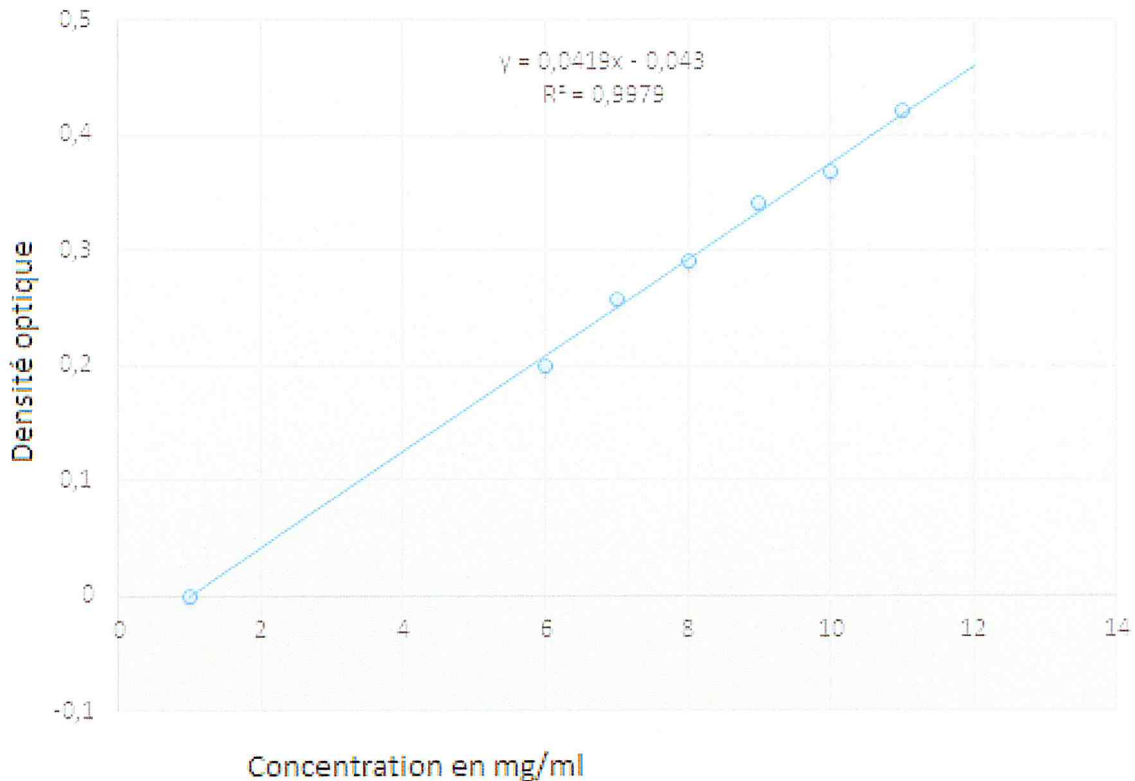


Figure III.11 : Courbe d'étalonnage relative à la doxycycline

D'après la figure précédente, on peut relever l'équation de la droite qui est $Y=0.0419X - 0.043$

Y= Densité optique

X= Concentration en mg/ml

Le suivi de l'évolution de la libération de la doxycycline dans les deux milieux simulés gastrique et intestinal a permis d'obtenir les valeurs reportées sur les courbes représentées par les **figures III.12** et **III.13** ci-dessous.

Les résultats montrent que la libération de l'antibiotique est croissante et relativement lente. Ensuite elle atteint un maximum où la libération se stabilise. On peut observer d'ailleurs un palier pour les deux milieux considérés, il correspond à 40% pour le cas du milieu

gastrique et vers 50% pour le milieu intestinal. De plus, on peut également remarquer que la cinétique dans le milieu intestinal est plus lente que celui du milieu gastrique.

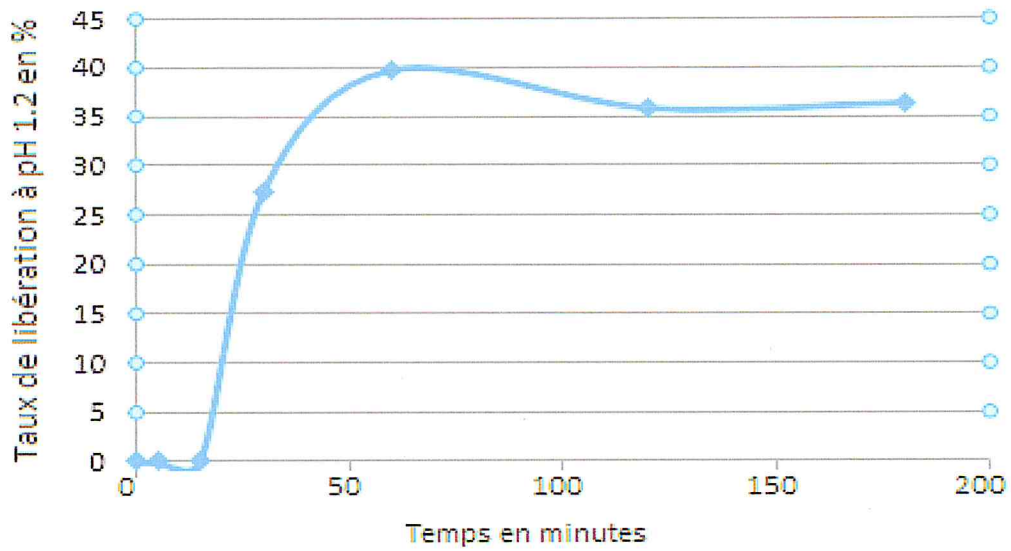


Figure III.12 : Cinétique de libération dans le milieu simulé gastrique

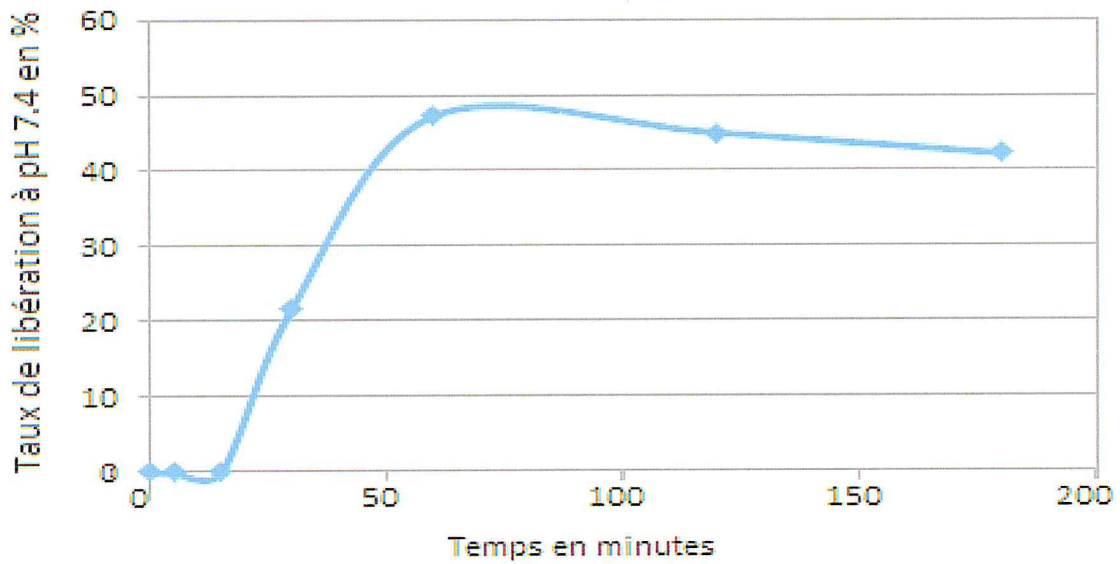


Figure III.13 : Cinétique de libération dans le milieu simulé intestinal

III.4. Conclusion

Le travail considéré dans ce mémoire traite la préparation des MS par deux méthodes différentes d'encapsulation, la méthode de gélification de goutte et la méthode de coacervation complexe.

Les deux méthodes ont été utilisées pour réaliser plusieurs tests dont parmi eux ont conduit à l'obtention de deux types de produits : des microparticules et des microsphères. La caractérisation de ces produits a été ensuite effectuée en utilisant les techniques d'analyse, la microscopie optique, la microscopie électronique à balayage, la FTIR et la DRX. Une autre technique est utilisée pour l'évaluation de la faisabilité de libération de la doxycycline à partir des particules ainsi obtenues.

Les résultats du microscope optique à balayage sur le mélange Cs-Amd ont confirmé que les particules sont relativement sphériques avec une surface irrégulière et poreuse <1mm. Egalement, à partir des microphotographies, l'encapsulation à base de l'amidon et du PEG a conduit aux microparticules de taille 50 μm avec une surface très poreuse dont la dimension du pore est de 2 μm . Cette porosité peut résulter de la dispersion de l'antibiotique incorporé.

Les résultats de FTIR ont confirmé la présence des bandes caractéristiques des composants de la matrice des microsphères (amidon, chitosan et doxycycline) et des microparticules (amidon et PEG).

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Conclusion générale

A la lumière des résultats obtenus lors de ce modeste travail réalisé au niveau des laboratoires de l'université SAAD DAHLEB, nous pouvons les synthétiser comme suit :

En premier lieu, les préparations à base des polymères utilisés ont conduit aux produits sous formes particulières. La caractérisation ultérieure à confirmer la forme sphérique des particules à base d'amidon-chitosane et microparticulaire pour celles préparées à base d'amidon PEG.

En effet, on a pu voir à travers les photographies obtenues par microscope optique et par microscope électronique à balayage que les particules que ce soit sphérique ou microparticulaires présentent une surface irrégulière et poreuse. Nous avons constaté que la porosité des microparticules est plus importante.

De plus, les microphotographies nous ont montré la dispersion du PA au sein des particules. Ceci a été confirmé par les spectres FTIR où nous avons relevé la présence des bandes caractéristiques de la structure saccharidique.

Les mêmes spectres ont confirmé l'interaction entre les polymères utilisés dans l'encapsulation de l'antibiotique.

Egalement, la diffraction par rayons X a corroboré à la conclusion de la formation de la matrice composée des deux polysaccharides Chitosan et Amidon.

Le test de la cinétique a confirmé de plus, l'encapsulation de la doxycycline suite à sa libération dans les deux milieux simulés gastrique et intestinal. Nous avons d'ailleurs remarqué que la libération a atteint un maximum de 40 et 50 % du PA dans les milieux à pH1.2 et à pH7.4 respectivement.

Perspectives

Le travail expérimental effectué reste toutefois inachevé. Ces résultats peuvent être enrichis ou élargis avec d'autres études et tests, qu'on n'a malheureusement pas pu les réaliser à cause du temps imparti qui reste insuffisant avec le manque des produits et d'appareillage.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Afin d'arriver à maîtriser les différents aspects relatifs à la formulation des microparticules, Il serait intéressant de :

- Faire des tests de gonflement.
- Evaluer le type de libération du doxycycline encapsulé dans les MS par refaire le test dans une période de temps plus longue, faire un test In-Vitro dans les milieux physiologique simulés par rapport aux constituants du tube digestive gastrique et intestinale, ou bien par un test de libération In-Vivo (sur des personnes volontaires, des lapins ou des rats etc...) pour bien prévoir l'allure de la libération du PA.
- Varier les concentrations des deux polymères (chitosane/amidon).
- Varier les concentrations des agents réticulants (HMPS, TPPS).
- Changer le mélange de polymères par exemple (chitosane/alginate)...

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

- [1] Eléonore Jouanny –Bouyer ; thèse de doctorat (Secchi, 2008), université Paris –sud 11 ; école doctorale : Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué ; pole : pharmaco technique et physico-chimie pharmaceutique
- [2] O. Smidsrod, A. Haug, and B. Larsen, " The influence of pH on the rate hydrolysis of acid polysaccharide ", Acta Chem. 2010
- [3] Richard J., Benoît J.-P., Microencapsulation, Techniques de l'Ingénieur, Traité génie des procédés, J 2 210, 2000.
- [4] Jean-Pierre BENOÎT, Joël RICHARD, Marie-Claire VENIER-JULIENNE-microencapsulation, 10 juin 2013
- [5] JYOTHI SRI.S* 1, A.SEETHADEVI 1, K.SURIA PRABHA 1, P.MUTHUPRASANNA 1 AND, P.PAVITRA., International Journal of Pharma and Bio Sciences-MICROENCAPSULATION, Département Of Pharmaceutique, Hindu College Of pharmacy, Guntur, INDIA. Vol 3/Issue 1/Jan – Mar 2012, p.511.
- [6] Bernard F.G., Selim K., Inteaz A., et al. (1999) Encapsulation in the food industry: a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 50, 213-217]
- [7] Zimmermann H., Shirley S. G., Zimmermann U. (2007) Alginate-based encapsulation of cells: Past, present, and future. Current Diabetes Reports. 7, 4, 314-320]
- [8] Giraud S., Microencapsulation d'un diisocyanate et d'un phosphate d'ammonium - Application : élaboration d'un système polyuréthane monocomposant à propriété retardatrice de flamme pour l'enduction textile, Thèse, Université Lille 1, 2002, p. 233.
- [9] R. Dreu, M. Lustrik, M. Perpar, I. Zun, and S. Srcic, "Fluid-bedcoater modifications and study of their influence on the coating process of pellets," Drug Development and Industrial Pharmacy, vol. 38, no. 4, pp. 501–511, 2012.
- [10] R. Arshady, "Microcapsules for food," Journal of Microencapsulation, vol. 10, no. 4, pp. 413–435, 1993.
- [11] J. S. Patil, M. V. Kamalapur, S. C. Marapur, and D. V. Kadam, "Iontropicgelation and polyelectrolytecomplexation: the novel techniques to design hydrogel particulatesustained, modulateddrugdelivery system: areview," Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, vol. 5, no. 1, pp. 241–248, 2010.
- [12] S. Prakash, C. Tomaro-Duchesneau, S. Saha, and A. Cantor, "The gutmicrobiota and human health with an emphasis on the use of microencapsulatedbacterialcells," Journal of Biomedicine and Biotechnology, vol. 2011, Article ID 981214, 12 pages, 2011.
- [13] T. Haque, H. Chen, W. Ouyang et al., "Investigation of a new microcapsule membrane combining alginate, chitosan, polyethylene glycol and poly-L-lysine for cell

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

transplantation applications,” *International Journal of Artificial Organs*, vol. 28, no. 6, pp. 631–637, 2005.

[14] H. Chen, W. Ouyang, M. Jones et al., “Preparation and characterization of novel polymeric microcapsules for live cell encapsulation and therapy,” *Cell Biochemistry and Biophysics*, vol. 47, no. 1, pp. 159–168, 2007.

[15] M. Perino (2009), *Energy conservation in building and community systems programme*, international Energy Agency.

[16] J.P. Benoît, S. Briançon, E. Fattal, H. Fessi, P. Legrand, C. Passirani, *Sphéroïdes et formes vectorisées*. P 13, 23.

[17] D. Barthès-Biesel, E. Leclerc (2009), *Conception et réalisation d’un système microfluidique pour la production de gouttes calibrées et leur encapsulation*, Mémoire de Doctorat, Université de Technologie de Compiègne.

[18] T. Félicie (2009), *Conception et mise en Œuvre d’un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale*, Mémoire de Doctorat, Université de Toulouse (France).

[19] S. Giraud (2002), *Microencapsulation d’un diisocyanate et d’un phosphate d’ammonium application : élaboration d’un système polyuréthane monocomposant à propriété retardatrice de flamme pour l’enduction textile*, Mémoire de Doctorat, Université des sciences et technologies de Lille.

[20] NO, H.K. and Meyers, S.P. Preparation and characterization of chitin and chitosan. *Review. J. Aquatic Food Prod. Tech.* 4 (1995) 27-52.

[21] P. Lian ma, thèse de doctorat, *Formation et caractérisation physico-chimique des complexes ADN/Chitosane pour la thérapie génique*, Ecole polytechnique de Montréal, 2010.

[22] N. Mokran, Mémoire de magister, *Preparation et etude du comportement de membranes biopolymères Alginate de sodium/Chitosane*, Université M’hamed Bougara, Boumerdes, 2012.

[23] D. Blouin et al, *Étude sur le potentiel d’utilisation du chitosane comme facteur de croissance et de protection des plants contre le gel et les maladies*, Juin 2002.

[24] Muzzarelli R.A.A., *Chitin*. Pergamon Press, chap (1977).

[25] F. Castellucci, *Monographie sur le chitosane*, 2009.

[26] Hafsa J., Smach M. A., Charfeddine B., Limem K., Majdoub H., Rouatbi S., *Antioxidant and antimicrobial proprieties of chitin and chitosan extracted from Parapenaeus Longirostris shrimp shell waste*, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 74 (2016) 27-33.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [27] Djelad A., Préparation des matériaux composites Chitosane-Zéolithes. Applications dans l'adsorption du cuivre. These de doctorat, Université d'Oran, Algerie, (2010/2011).
- [28] S. Mekahlia: le complexe chitosane-cuivre (II) synthèse, caractérisation et étude de l'effet de sa structure sur son activité antibactérienne (2007). Mémoire de magister, université de Saad dahleb de Blida.
- [29] R. L. Lavall, O. B. G. Assis and S. P. Campana-Filho: β -Chitin from the pens of Lologosp: Extraction and characterization. *Bioresource Technology* 98 (2007) 2465-2472
- [30] K. H. Chu: Removal of copper from aqueous solution by chitosan in prawn shell: adsorption equilibrium and kinetics. *Journal of Hazardous Materials B90* (2002) 77-95.
- [31] A.Djelad, thèse de doctorat, Préparations des matériaux composites chitosanes-Zeolithes application dans l'adsorption du cuivre, université d'Oran, 2010-2011.
- [32] L. Payet, thèse de doctorat, Viscoélasticité et structure de gels à base de chitosane - Relations avec les propriétés diffusionnelles de macromolécules dans ces biogels, Université Paris-Diderot - Paris VII, 2005.
- [33] M. Keddou : Elaboration, caractérisation et application de membranes de polymères à base de chitosane (2008). Mémoire magister, université de M'Hammed Bougarra, Boumerdes.
- [34] A. Aljawish ,Thèse de doctorat, Fonctionnalisation enzymatique du chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologiques et physicochimiques de ces nouveaux biopolymères, Université de lorraine (UL) ,France , 2013.
- [35] Peter M.G., Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. *J.M.S. Pure Appl. Chem*, A32 (1995) 629-640.
- [36] M.Matet ,thèse de doctorat ,Préparation de films de chitosane par voie fondue ,Ecole polytechnique de Montréal,Canada,2014.
- [37] Kadouche S., Utilisation des biomatériaux dans le traitement des eaux. Thèse de doctorat, Université de Tizi-Ouzou, Algerie, (2013).
- [38] N. Benbettaieb ,these de doctorat , Influence de traitements de réticulation sans solvant sur les propriétés de films à base de gélatine et chitosan encapsulant ou non des antioxydants naturels :caractérisations physico-chimiques et application,université de Bourgogne ;Université de Carthage, Tunisie ,(2015).
- [39] Li J. M., Meng X. G., Hu C. W., Du J., Adsorption of phenol, p-chlorophenol and p-nitrophenol onto functional chitosan. *Bioresour. Technol*, 100 (2009) 1168–1173.
- [40] Ayer B., Elvan Y., Nesrin H., Evaluation of chitosan as potential medical iron (III) ion adsorbent, *Turk. J. Med. Sci*, 30 (2000) 341-348.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [41] Grégorio C., Pierre-Marie B., Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies. Prog. Polym. Sci. (2007).
- [42] J. Be Miller, R. Whistler, "Starch: Chemistry and Technology", 3ème édition, Elsevier, (2009).
- [43] M. Pierre Désiré, Thèse de doctorat, Influences des amidons natifs ou acétylés de manioc et de pomme de terre sur les propriétés physico-chimiques et texturales du pâte de boeuf, Spécialité : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires, 2009.
- [44] Hizukuri, S., Takeda, Y., «Multi-branched nature of amylase and the action of debranching enzymes », carbohydrate Research, V. 94, n°2,(1981), 205-213.
- [45] D. Belaid, Ingénieur Agronome, Guide pratique pour la transformation de la pomme de terre. Edition 2016.
- [46] S.A. Bahrani, Thèse de doctorat, Modification des Propriétés Physicochimiques de l'Amidon par Procédés Hydrothermiques : Contribution à l'étude des Transferts Couples Chaleur-Masse, Spécialité : Génie des Procédés, 2012.
- [47] A. Kara Slimane, Mémoire de magister, Option: Chimie et Physico-Chimie Organique Macromoléculaire, Préparation des copolymères hydrosolubles à base d'amidon, Modification et contrôle des propriétés, Algérie, 2010.
- [48] Buleon, A., Colonna, P., «Structure et transition de phase des amidons», Revue de l'institut national de la recherche agronomique, Nantes cedex 3 France, (2004) ,1-7.
- [49] D. Monnet, Etude de l'évolution des propriétés mécaniques de matériaux amyliacés par sélection et/ou modifications structurales dirigées, Université de Reims Champagne-Ardenne, 2008.
- [50] C. Chene, Les Amidons, Journal de l'Adrianor, Agro-Jonction n°34, 2004.
- [51] Dupart, F., Gallant, D., «L'amidon dans les polymères végétaux : polymère pariétaux et alimentaires non azotés», Ed. B. Monties Ganthiers willans, Paris, (2005).
- [52] Li, J.H., Vasanthan, T., «Hypochlorite oxidation of starch and its suitability for noodle making using an extrusion cooker », Food Research International, V.10, n° 36, (2003), 381-386.
- [53] W. Hachmaoui et L. Amirouche, mémoire de master, Microencapsulation d'un principe actif (Amlodipine) dans la matrice Chitosane/HPMC réticulé par le TPP par le procédé de double émulsion H/E/H, université A. Mira – Bejaia, 2017.
- [54] Peng Li, Jian Zhao, Yu Chen, Bin Cheng, Ziyang Yu, Ying Zhao, Xiaoting Yan, Zongrui Tong, Shaohua Jin Preparation and characterization of chitosan physical hydrogels with enhanced mechanical and antibacterial properties, carbohydrate polymer, 2016

