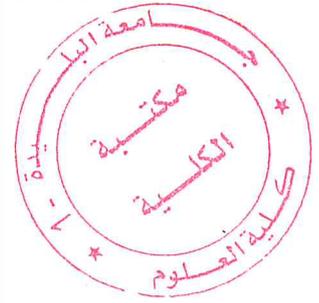


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA



FACULTE DES SCIENCES
 DEPARTEMENT DE CHIMIE
MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme MASTER en chimie
Spécialité : physico-chimie des milieux dispersés et des formulations

Intitulé du Thème :

**Contribution de l'analyse d'image à l'étude et la caractérisation
 de micro- capsules à base d'alginate**

Réaliser par :

- Mr. BENSAFI Zine Eddine Abd elhafid
- Mr. BEZAI Abderraouf

Proposé et dirigé par :

- Pr. Y. Bal

Soutenu le 19/11/2015, devant le jury composé de

Mr. R. Belal	Professeur	USDB	Président
Mr. O. Laarbi Bouamrane	Maitre-assistant	UDBKM	Examineur
Mr. Y. Bal	Professeur	USDB	Directeur de thèse

MA-540-118-1

REMERCIEMENTS

EN PRÉAMBULE À CE MÉMOIRE, NOUS REMERCIONS ALLAH QUI NOUS AIDE, ET NOUS A DONNÉ LA PATIENCE ET LE COURAGE ; DURANT CES LONGUES ANNÉES D'ÉTUDE.

NOUS SOUHAITONS ADRESSER NOS REMERCIEMENTS LES PLUS SINCÈRES AUX PERSONNES QUI NOUS ONT APPORTÉ LEUR AIDE ET QUI ONT CONTRIBUÉ À L'ÉLABORATION DE CE MÉMOIRE AINSI QU'À LA RÉUSSITE DE CETTE FORMIDABLE ANNÉE UNIVERSITAIRE.

NOUS TENONS À REMERCIER SINCÈREMENT MONSIEUR, Y.BAL, QUI, EN TANT QUE PROMOTEUR, ÉTAIT TOUJOURS À L'ÉCOUTE ET TRÈS DISPONIBLE TOUT AU LONG DE LA RÉALISATION DE CE MÉMOIRE, AINSI POUR L'INSPIRATION, L'AIDE ET LE TEMPS QU'IL A BIEN VOULU NOUS CONSACRER ET SANS QUI, CE MÉMOIRE N'AURAIT JAMAIS VU LE JOUR ; SANS OUBLIER L'ÉQUIPE DU LABO DE CHIMIE (PAV5) ET CELLE DU LABO DE PHYSIQUE FONDAMENTALE (PAV6).

NOSREMERCIEMENTS S'ADRESSENT AUSSI AUX HONORABLES MEMBRES DU JURY AYANT ACCEPTÉ D'EXAMINER NOTRE MODESTE TRAVAIL ET DE SIÉGER À SA SOUTENANCE.

NOTRE GRANDE ESTIME VA FINALEMENT À TOUT LE CORPS PROFESSORAL DE NOTRE DÉPARTEMENT POUR L'EFFORT MONUMENTAL QU'ILS ONT CONSENTI AFIN DE FAIRE DE NOUS CE QUE NOUS SOMMES.

ON N'OUBLIE PAS NOS CHERS PARENTS POUR LEUR CONTRIBUTION, LEUR SOUTIEN ET LEUR PATIENCE.

ENFIN, NOUS ADRESSONS NOS PLUS SINCÈRES REMERCIEMENTS À TOUS NOS PROCHES ET AMIS, QUI NOUS ONT TOUJOURS ENCOURAGÉS AU COURS DE LA RÉALISATION DE CE MÉMOIRE.

MERCI À TOUTES ET À TOUS.

Résumé :

L'étude présentée dans ce mémoire constitue une contribution de l'apport de l'analyse d'image par ordinateur dans la caractérisation de certains aspects des capsules ou des microcapsules. En effet, celles-ci préparées à l'aide d'un biopolymère, l'alginate, sont destinées à contenir et ensuite libérer un agent actif. Imagej en tant que logiciel approprié est utilisé ici. Les résultats montraient qu'il était possible d'obtenir des capsules pratiquement sphériques d'un diamètre de l'ordre du mm ou des microcapsules beaucoup plus petites (qqs dizaines à qqs centaines de microns) par atomisation. La libération de l'agent actif modélisé par un colorant rouge semblait provenir, d'après l'analyse, suite à plusieurs phénomènes concomitants comme la diffusion de l'eau et le gonflement de la capsule.

Mots clefs: Biopolymère, microcapsules, agent actif, alginate, image j, atomisation, gonflement.

Abstract:

The study presented concerns a contribution of the computer image analysis in the characterization of certain aspects of capsules or microcapsules. Indeed, prepared using the biopolymer 'alginate', the capsules are designed to contain and then release an active agent. Imagej as appropriate software is used herein. The results showed that it was possible to obtain substantially spherical capsules with a diameter of the order of mm or much smaller microcapsules (qqs qqs tens to hundreds of microns) by spraying device. The release of the active agent modeled by red dye seemed to come, according to the image analysis, following several concomitant phenomena such as the diffusion of water and swelling of the capsule.

Keywords: Microcapsule, activeagent, alginate, imagej, spraying device, swelling.

ملخص :

الدراسة المقدمة في هذه المذكرة تتمثل في الاضافة التي يقدمها مجال تحليل الصور بواسطة الكمبيوتر لتحديد بعض الخصائص المتعلقة بالكبسولات او بالكبسولات المجهرية, بالفعل هذه المستحضرات المحضرة بواسطة مبلمر صديق للبيئة وهو الالجينات موجهة لاحتواء و من ثم تحرير العنصر الفعال. <Imagej> وبصفته برنامج ملائم قد تم استعماله هنا. النتائج تبين انه يمكن الحصول على كبسولات في الغالب كروية الشكل بقطر مليمترى او كبسولات مجهرية اصغر (من بعض العشرات الى بعض مئات الميكرونات) باستعمال تقنية الرذاذ. تحرير العنصر الفعال الممثل هنا بملون احمر حدث بالفعل, يمكن تأكيده من خلال التحاليل, وهذا اتبع لعدة ظواهر مقترنة, بعضها مع بعض مثل مرور الماء الى داخل الكبسولة او انتفاخ هذه الاخيرة.

الكلمات المفتاحية: مبلمر صديق للبيئة, الكبسولات المجهرية, العنصر الفعال, الالجينات, Imagej, انتفاخ.

DEDICACES

« J'AI L'IMMENSE PLAISIR DE DÉDIER CE TRAVAIL À:

-CEUX QUI J'ADORE LE PLUS AU MONDE; MES CHERS ET AFFECTUEUX PARENTS QUI M'ONT TOUJOURS ENCOURAGÉ ET POUSSÉ VERS LA RÉUSSITE, MERCI D'AVOIR SUPPORTÉ MES SAUTS D'HUMEURS, MES CRISES DE NERFS, MERCI D'AVOIR FAIT DE MOI CE QUE JE SUIS ET DE M'AVOIR ÉCLAIRÉ LE CHEMIN...

MES CHERS FRÈRES

MES CHERS GRANDS-PÈRES ET GRANDS-MÈRES

MES CHERS ONCLES

MES CHÈRES TANTES

MES CHÈRS COUSINS ET COUSINES

- MES CHÈRES AMIES : ACHRAF, ALI, HICHAM, RAHAL, MEROUANE, SAID ET MON ADORABLE BINÔME MR ZINE EDDINE ABDELHAFID

-À MES TRÈS CHERS AMIS : OKBA, FARJALAH, RABAH, HOSSAME, BILAL, MERCI POUR VOS CONSEILS ET VOS ENCOURAGEMENT, MAIS AUSSI POUR LES BONS MOMENTS QUI ON CONTRIBUÉS À RENDRE CES ANNÉES INOUBLIABLES.

-ET À TOUS CEUX QUI M'ONT AIDÉ DE PRÈS OU DE LOIN POUR L'ABOUTISSEMENT DE CE TRAVAIL ».

MR. BEZAI

DEDICACES

*MERCI MON DIEU POUR LA CLÉMENGE, LA SANTÉ, LE COURAGE QUE TU
M'AS DONNÉ À FIN DE TERMINER CE MODESTE TRAVAIL*

EN PREMIER LIEU, JE DÉDIE CE TRAVAIL À :

MES CHÈRS PARENTS QUE DIEU ME LES GARDE

*MA MÈRE, MON PÈRE ET TOUS LES MEMBRES DE MA FAMILLE PROCHES OU
LOINTAINS SOIENT -ILS.*

À TOUS MES PROFESSEURES.

MERCI BEAUCOUP À TOUS MES AMIS.

MR. BENSIFI

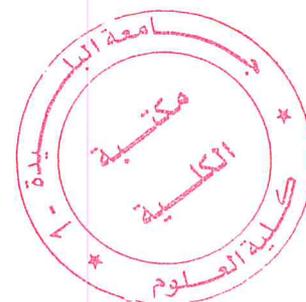
Liste d'abréviations

ADN	acid desoxy ribonucléique
ARN	acid ribonucléique
BMP	Bit Map Picture
Conc	concentration
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine
Do	densité optique
FFT	Fast Fourier Transformed
FITS	Flexible Image Transport System
FPGA	Field Programmable Gate Array
GIF	Graphics Interchange Format
Gms	grammes
HPLC	Chromatographie Liquid Haute Pression
IR	Infra-Rouge
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
IUPAC	Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée
JPEG	Joint Photographic Experts Group
MEB	Microscope Electronique à Balayage
NOR	logical NOT OR
PC	Personal Computer
pH	Potentiel d'hydrogene
pKa	Potentiel de constant d'acidité
PLA	acide poly lactique

Liste d'abréviations

PNG	Portable Network Graphics
ppm	partie par million
R²	coefficient de corrélation
TEP	Tomographie par Emission de Position
TIFF	Tagged Image File Format
UV	Ultraviolet
XOR	logical eXclusive OR
µm	micromètres

Sommaire



Remerciement
Résumé
Dédicaces
Liste d'abréviations
Sommaire
Liste des figures
Liste des tableaux

Introduction générale

Chapitre I : Généralités sur les biopolymères

1-Introduction sur les polymères.....	2
I.1. Définitions des biopolymères.....	2
I.2. La biodégradabilité.....	3
I.3. Perméabilité à la vapeur d'eau.....	4
I.4. Biocompatibilité et biorésorbabilité.....	5
I.5. Propriétés chimiques.....	5
I.6. Autres propriétés.....	6
I.7. Identité des l'alginate.....	7
a) Historique	
b) Définition	
I.8. Composition chimique.....	8
I.9. Propriétés physico-chimique.....	9
I.9.1. Solubilité.....	9
I.10. Gélification.....	10
I.10.1. Méthodes de gélification.....	12
I.10.1.1. Gélification externe ou par diffusion.....	12

I.10.1.2.Gélification interne.....	13
I.10.1.3.Gélification par refroidissement.....	13
I.11.Comportement rhéologique.....	13
I.12.Le codage des alginates commerciaux.....	14
I.13. L'utilisation de l'alginate.....	14-17

Chapitre II : Micro Encapsulation

II.1.Introduction.....	19
II.2.Définition.....	19
II.3. Historique.....	20
II.4. Classification des microparticules.....	21
II.5. Microparticule et ses composé.....	22
II.6. Les molécules encapsulées – la matière active.....	22
II.7. Additifs.....	23
II.8.Techniques d'encapsulation.....	24
II.9.Caractéristiques des microparticules.....	26
II.9.1.Structure et taille.....	26
II.9.2.Encapsulation et cinétique de libération.....	26

Chapitre III : Analyse et traitement D'image

III.1. Introduction.....	29
III.2. Applications.....	29
III.3. Analyse d'image informatique.....	30

III.4. Traitement d'image.....	30
III.5. Types de données manipulées.....	32
III.6. Acquisition d'une image.....	33
III.7. Transformation de l'image numérique en image binaire.....	33
III.8. Traitement de l'image binaire.....	33
III.9. Opérateurs de traitement d'images.....	34
III.10. Filtres linéaires	34
III.11. Détection de contours.....	34
III.12. Opérateurs morphologiques.....	35
III.13. Reconnaissance d'objets.....	35
III.14. Quelques exemples concrets de traitement d'images.....	36
III.15. Termes spécifiques.....	37
III.16. Logiciels pour traitement d'image.....	38
III.16.1. image j.....	38
III.16.2. Fonctionnalités.....	39
III.16.3. Applications.....	39
III.16.4. Caractéristique.....	39
III.17. Configuration du logiciel.....	40
III.17.1. Les opérations de base sur Imagej.....	40-45
a) Interface	
b) Ouvrir une image	
c) Informations pixel	
d) Zoom	
e) Outils de sélection (ROI)	
f) Menus de sélection	
g) ROI Manager	
h) Outil Point pour le comptage	
i) Dessin	
j) Annotations	

- k) Histogramme
- l) Seuillage
- m) Plot Profile
- n) Mesures de sélection
- o) Mesures d'objets
- p) Macro
- q) Enregistrement de macro
- r) Plugins

Chapitre IV : Partie expérimentale

Partie I : Matériels, réactifs et méthodes

IV.1.Introduction.....	47
IV.2.Matériels et réactifs utilisés.....	47
IV.2.1. Matériels.....	47
IV.2.2.Produits utilisé.....	48
IV.2.2.1.Propriétés physico-chimiques d’alginate de sodium [(Terkma ne Naila 2005) et du ponceau4R (Megha international)].....	48
IV.3. préparation des macros capsules vides et plaines.....	49
IV.3.1.préparation des microcapsules.....	49
IV.3.2.Schématisation des deux procédés d’encapsulation (micro et macro-encapsulation).....	49
IV.3.3.préparation des films.....	50
IV.4.Conception de l’outil d’agrandissement pour la prise d’images et de vidéos.....	50
IV.5. Caractérisation des micros et macro capsules.....	50
IV.5.1.Techniques de caractérisations sur imagej.....	51
IV.5.1.1.Macro-capsules.....	51

IV.5.1.2. Microcapsules.....	54
IV.5.1.3. L'opération plot surface.....	55
IV.6. Etude du gonflement des capsules pleines et suivi du phénomène de libération du colorant dans les milieux eau distillée et eau physiologique par analyse d'image.....	56
IV.7. Etude de la libération du colorant par spectrophotométrie UV-visible.....	56
IV.8. Calcul des rapports des intensités de couleur (rouge) avant et après l'ajout du milieu (pour les deux milieux).....	57

Partie II : Résultats, analyses et discussions

IV.9. Photos des films préparés.....	58
IV.9.1. Analyse spectrophotométrie infrarouge du film produit à partir d'une solution d'alginate 1%.....	59
IV.9.2. Analyse des films par microscope électronique à balayage MEB.....	60
IV.10. Macro capsules vides et pleines.....	61
IV.11. Microcapsules pleines.....	61
1-Discussion.....	62
IV.12. quelques images prises à travers le dispositif d'agrandissement.....	62
2-Discussion.....	63
IV.13. Histogrammes des diamètres de féret (macro et microcapsules) et Quelques Graphes décrivant les surfaces de capsules (par imagej).....	63
IV.14. Résultats de l'étude du gonflement des capsules pleines et suivi du phénomène de libération du colorant dans les milieux eau distillée et eau physiologique par analyse d'image.....	64
IV.14.1. Analyse des graphes (eau physiologique).....	65

IV.14.2. Analyse des graphes (eau distillée).....	67
IV.15. Résultats du suivi de la Concentration du colorant dans les deux milieux.....	67
a). milieu eau physiologique pH=7.40 à température ambiante.....	67
b). milieu eau distillée pH=7.1 à température ambiante.....	68
IV.15.1. Analyse des graphes.....	68
IV.16. Résultats de Calculs des rapports des intensités de couleur (rouge) avant et après l'ajout du milieu.....	69-70
IV.16.1. Discussion.....	71
Conclusion générale.....	72-73

Références bibliographiques

Annexe

Liste des figures

Chapitre I : Généralités sur les biopolymères

Figure.I.01. Processus de Libération contrôlée des principes actifs	5
Figure.I.02. Macrocystis pyrifera (a) ; Laminaria hyperborea (b) ; et Laminariadigitata (c)	7
Figure.I.03. Monomères de la chaîne alginat	8
Figure.I.04. Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium	8
Figure.I.05. proportion variable des différents blocs MG, MM et GG en fonction des différentes espèces d'algues	9
Figure.I.06. Gélification ion tropique de l'alginate. Modèle "Egg-box"	10
Figure.I.07. Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate.....	11
Figure.I.08. Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "Egg-box"	11
Figure.I.09. Effet de l'ajout de calcium dans une solution d'alginate	12
Figure.I.10. Rhéogramme contrainte de cisaillement-vitesse de cisaillement pour des solutions d'alginate de sodium de différentes concentrations	14
Figure.I.11. Insert oculaire contenant de l'alginate : Ocusert®	15
Figure.I.12. Moulage du visage réalisé avec de l'alginate.....	16
Figure.I.13. billes d'alginate contenant un colorant vert ainsi qu'un arôme pour la cuisine moléculaire.....	16

Chapitre II :Micro Encapsulation

Figure.II.01. Système de triple couche du papier autocopiant avec des microcapsules : (a) papier,(b) colle acide, (c) microcapsule, (d) solution du colorant	20
Figure.II.02. Morphologie de particules obtenues par micro encapsulation : (a) microcapsule simple,(b) microsphère simple, (c) microcapsule multi enveloppe, (d) microsphère avec double cœur actif/multi enveloppe	21

Figure.II.03. Microsphère (a) et microcapsule (b)	26
 <i>Chapitre III : Analyse et traitement d'image</i>	
Figure.III.01. Logo d'imagej	38
Figure.III.02. Fenêtre principale d'ImageJ	39
 <i>Chapitre IV : Matériels et méthodes expérimentales</i>	
Figure.IV.1. Schématisation des deux procédés d'encapsulation (micro et macro).....	49
Figure. IV.2. Description de l'outil d'agrandissement.....	50
Figure. IV.3. L'échelle prise pour le calcul.....	51
Figure. IV.4. Démonstration sur <<Comment établir l'échelle>>.....	51
Figure. IV.5. Démonstration de l'opération « crop ».	52
Figure. IV.6. Image binaire de macro capsules.....	52
Figure. IV.7. Macrocapsules libellées dans le « Roi Manager ».....	53
Figure. IV.8. Affichage des résultats sur imagej des capsules libellées.	53
Figure. IV.9. Démonstration sur Comment établir l'échelle.....	54
Figure. IV.10. Démonstration de l'opération « crop ».....	54
Figure. IV.11. Image binaire de microcapsules et les résultats des mesures.....	55
Figure. IV.12. Options d'affichage des « surfaces plot ».....	55
Figure. IV.13. Spectrophotomètre UV/visible.....	56
Figure. IV.14. Droite d'étalonnage.	56
Figure. IV.15. Montage pour les tests de libération.....	57
 Figure. IV.16. Les trois membranes préparées à partir de différentes solutions d'alginate de sodium a)-membrane diluée, b)-membrane concentrée, c)-membrane colorée.....	 58
Figure. IV.17. Spectrophotomètre FT/IR à transformée de fourier.....	59

Figure. IV.18. Spectre IR référence d'alginate de sodium commercial.....	59
Figure. IV.19. Spectre IR du film d'alginate de sodium préparé à partir d'une solution à 1% commerciale (fluka).....	60
Figure. IV.20. image microscopiques 400 et 500 μm des films à 2% et 1%.....	60
Figures. IV.21. Macros capsules avant et après séchage.	61
Figure. IV.22. Image de microcapsules prise à travers un microscope optique	61
Figure. IV.23. Macro Capsules vides avant le séchage.....	62
Figure. IV.24. Une macro capsule vide sèche et trois capsules pleines avant le séchage.....	62
Figure. IV.25. Histogramme du diamètre de féret. (Macro).....	63
Figure. IV.26. Histogramme pour le diamètre de féret. (Micro).....	63
Figure. IV.27. Graphes décrivant les surfaces de capsules.....	64
Figure. IV.28. Succession d'images (suivie du phénomène de libération et de gonflement d'une capsule dans le milieu eau physiologique).....	64
Figure. IV.29. Suivi du diamètre de féret en fonction du temps.....	65
Figure. IV.30. Suivi du périmètre en fonction du temps.....	65
Figure. IV.31. Succession d'images (suivi du phénomène de libération et de gonflement d'une capsule dans le milieu eau distillée).....	66
Figure. IV.32. Suivi du diamètre de féret en fonction du temps.....	66
Figure. IV.33. Suivi du périmètre en fonction du temps.....	67
Figures. IV.34. Concentration du colorant libéré en fonction du temps dans l'eau physiologique.....	67
Figure. IV.35. Concentration du colorant libéré en fonction du temps dans l'eau distillée.....	68
Figure. IV.36. Images de capsules gonflées pour les deux milieux.....	68
Figure. IV.37. Capsule pleine avant et après l'ajout du milieu (Eau physiologique).....	69

Figure. IV.38.Histogrammes des intensités de couleur avant(a) et après(b) l'ajout de l'eau physiologique.....69

Figure. IV.39.capsule pleine avant et après l'ajout du milieu (Eau distillée).....70

Figure. IV.40.Histogrammes des intensités de couleur avant(a) et après(b) l'ajout de l'eau distillée.....70

Liste des tableaux

Chapitre I : Généralités sur les biopolymères

Tableau.I.01.Grandes classes de biopolymères3

Tableau.I.02.Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendu.....6

Tableau.I.03.Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entreLes différents secteurs industriels et exemples d'applications.....17

Chapitre II : Micro Encapsulation

Tableau.II.01.Procédés de micro encapsulation25

Chapitre IV : Partie Expérimentales

Tableau.IV.01.Propriétés physico-chimiques d'alginate de sodium et du ponceau 4R 48

Introduction générale

L'encapsulation d'un substrat dans une matrice polymérique est une procédure hautement performante, utilisée actuellement dans pas mal de secteurs industriels ; elle est appelée à se développer intensément dans l'avenir. Elle consiste dans son principe à recouvrir une ou plusieurs molécules par une matière enrobant en formant des sphères ou des capsules de tailles variées. On parle de micro-encapsulation, lorsque la taille des capsules est micrométrique, les composés encapsulés sont alors protégés du milieu extérieur, et leur libération peut durer d'une heure à des mois dans des conditions précises de pH et de température, ou d'autres conditions spécifiques. Cette technique est devenue vraiment une solution pour plusieurs problèmes confrontés par les industries pharmaceutiques, agroalimentaires, des encres, cosmétique ou des engrais. Parmi les polymères utilisés dans la préparation des capsules ou des microcapsules, l'alginate occupe une place de choix. En effet, étant un biopolymère très peu coûteux, disponible et ne présentant aucun risque de nature médicale ou environnementale, il peut être utilisé dans l'encapsulation, le transport et la libération de différents substrats actifs pour diverses applications. Dans cette étude, il est utilisé pour contenir un agent actif model, un colorant rouge. L'idée centrale de ce travail consistait à faire appel à l'outil informatique à travers une application dédiée à l'analyse d'image pour caractériser les microcapsules dans leur univers d'utilisation, à savoir contenir le principe actif et le libérer dans des conditions réelles.

Ce mémoire est partagé en trois parties principales :

- Dans la première partie, nous avons présenté une étude bibliographique relative à l'encapsulation en tant que technique actuelle pour la protection d'agents actifs, et ensuite de les utiliser d'une manière appropriée après leur libération. L'alginate en tant que biopolymère de choix dans le façonnage des microcapsules est également présenté amplement dans cette partie.
- Dans la seconde partie, l'apport d'un logiciel d'analyse d'images, ImageJ, ainsi que ses différentes propriétés sont exposées.
- La dernière partie est réservée à la procédure expérimentale entreprise dans ce travail. Différents résultats sont présentés avec les discussions en relation.

Le mémoire se termine par une conclusion générale comportant aussi des suggestions pour des perspectives sur la thématique proposée.

Chapitre I
Généralités sur les biopolymères

1-Introduction sur les polymères

Les polymères sont des molécules composées d'un très grand nombre de maillons élémentaires (motifs) appelés monomères. Lorsque ces monomères sont chargés, on parle de poly électrolytes. Ainsi, si nous devions donner une définition simplifiée du terme poly électrolyte, elle serait : un poly électrolyte est un polymère soluble dans l'eau qui, en solution, porte des charges électrostatiques. Une des propriétés les plus importantes des poly électrolytes est leur solubilité dans l'eau, ce qui permet d'accéder à une large gamme de formulations non toxiques, compatibles avec l'environnement. L'existence de charges électrostatiques le long de la chaîne macromoléculaire induit des interactions électrostatiques fortes et de longue portée qui s'ajoutent aux interactions à moyennes et courtes portées, ce qui confère aux poly électrolytes des propriétés physico-chimiques remarquables. En solution aqueuse, les polymères et les poly électrolytes sont utilisés pour leurs propriétés rhéologiques en tant qu'agents épaississants ou gélifiants. Ainsi, depuis les dernières décennies, l'intérêt des scientifiques et des industriels pour les poly électrolytes n'a cessé de croître en raison de leur vaste domaine d'application : médecine, fabrication de papier, peintures, industrie agro-alimentaire, cosmétiques, pharmacie, traitement de l'eau... Les poly électrolytes sont également utilisés pour leurs propriétés d'adsorption aux interfaces. Les poly électrolytes cationiques sont utilisés dans les shampooings car ils peuvent s'adsorber aux cheveux et ainsi les fortifier. Nos organismes même, sont constitués d'un poly électrolytes (l'ADN) et de plusieurs longues molécules chargées (protéines).

(B. Fawcett. *A textbook of histology*, Chapman and Hall, USA).

-Note : ils existent des biopolymères qui sont des poly électrolytes biodégradables

I.1. Définitions des biopolymères

Selon l'UIPAC, les biopolymères se définissent comme étant des bio macromolécules synthétisées par des organismes vivants. Selon l'ADEME (agence de l'environnement et de maîtrise de l'énergie), les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux. Les biopolymères peuvent aussi être obtenus par polymérisation de monomères naturels et par processus de fermentation microbienne (Akiyama *et al*, 2003).

Ces biopolymères, aussi dénommés biomatériaux, sont synthétisés dans les plantes ou les micro-organismes par voie enzymatique et sont de ce fait dégradés rapidement dans un milieu biologique. Ils présentent en outre l'avantage non négligeable, de ne pas contribuer à l'augmentation de l'effet de serre. En effet, le CO₂ issu de leur dégradation réintègre le cycle biologique où ils permettent de synthétiser de nouvelles biomolécules via le processus de la

photosynthèse. Le bilan global en CO₂ peut ainsi être nul et sans effet négatif sur notre environnement. (Rabetafika et al. 2006).

Tableau.I.01. Grandes classes de biopolymères (Jarroux, 2012)

Classes	Descriptions	Exemples de biopolymères
Polysaccharides (plantes/animaux)	Glucides ou sucres complexes constitués de plusieurs monosaccharides (glucides ou sucres simples) liés entre eux.	Amidon, Cellulose, Alginate, Chitosane, Agar, Pectine, Gommages, Carraghénane.
Polysaccharides (issus des bactéries)		Xanthane, Dextrane, Gellane, Curdlan, Pullulane, Elsinane.
Protéines et polypeptides	Macromolécules biologiques composées d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.	Polyacide aminé, Collagène Gluten, Caséine, Soja, Glycoprotéine, Zéine
Polyesters (synthétisés par des bactéries)	Polymères dont les motifs répétitifs de la chaîne principale contiennent la fonction ester.	Poly (acide lactique) (PLA) Polyhydroxyalcanoate (PHA)
Polyphénols	Molécules présentant plusieurs groupements phénoliques.	Lignines, Tanins, Acides humiques
Polynucléotides et nucléotides	molécules composées de plusieurs nucléotides. Certains nucléotides forment la base de l'ADN et l'ARN.	Adénosine-5'-triphosphate (ATP) Adénosine-5'-monophosphate (AMP)

I.2. La biodégradabilité

A ce jour, le terme biodégradable est donné aux polymères d'origine naturelle c'est-à-dire réservé aux biopolymères qui ont la capacité de se dégrader sous l'action de micro-organismes. Leurs décompositions moléculaire et chimique conduisent à la formation de CO₂ et d'H₂O en présence d'oxygène ou à la formation de CH₄, CO₂ et d'H₂O en milieu anaérobie, plus une nouvelle biomasse (Gu, 2003). La biodégradation d'un biopolymère dépend de différents facteurs que l'on peut regrouper en trois grandes catégories :

- ✓ **Les paramètres physico-chimiques** du milieu de dégradation : La température qui favorise l'activité microbienne; la teneur en eau du milieu doit être suffisante pour permettre aux fonctions des micro-organismes de s'exprimer. Le pH, la présence d'oxygène et l'action des UV vont également influencer sur le phénomène. On comprend aisément que la dégradation ne sera pas la même dans un désert, en haute montagne ou dans un marécage.
- ✓ **Les paramètres microbiologiques** du milieu de dégradation : selon le matériau considéré, la nature et l'abondance des micro-organismes présents sur le site vont avoir un impact sur la vitesse de dégradation.
- ✓ **La structure chimique et la morphologie du polymère** constituant le matériau : Un matériau hydrophile, poreux et possédant une faible masse molaire aura une vitesse de dégradation supérieure à celle d'un matériau massif et dense. Pour être conformes aux normes et respecter les temps de dégradation imposés, certains produits ne peuvent parfois pas dépasser quelques dizaines de microns d'épaisseur. La cristallinité du polymère, qui dépend de sa structure mais aussi des conditions de mise en œuvre, a également une influence sur sa biodégradabilité. Les plastifiants et autres additifs vont également modifier les caractéristiques du matériau et influencer sur son aptitude à la biodégradation.

I.3. Perméabilité à la vapeur d'eau

La plupart des biopolymères comme l'amidon, la cellulose et les protéines sont hydrophiles, ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues, notamment à la présence de fonctions polaires hydroxyle et/ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogènes (Auras et al, 2004). Ce qui leur confère aussi une propriété antistatique. La perméabilité à la vapeur d'eau pourrait être un inconvénient dans certaines applications, notamment pour les emballages alimentaires. Par exemple, les viennoiseries ne peuvent pas se trouver dans un endroit trop humide pour conserver leur fraîcheur. Par contre, pour certains types d'emballage, elle est avantageuse. En effet, en évitant les condensations, la durée de conservation des produits frais est allongée. Cette propriété trouve également une application dans les emballages des produits humides leur laissant la possibilité de continuer de sécher pendant les étapes de stockage et de transport.

I.4. Biocompatibilité et biorésorbabilité

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. La réponse biologique d'un matériau dépend de 3 facteurs : ses propriétés, la caractéristique de l'hôte et la demande fonctionnelle pour le matériau. Les biopolymères par leur origine naturelle, remplissent logiquement cette fonction et les implants médicaux en matériau inerte comme les céramiques sont de plus en plus remplacés par des polymères d'origine naturelle (Chen et Lu, 2004).

En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques des matériaux biorésorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant. Les biopolymères sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse enzymatique et libèrent des molécules assimilables et non toxiques. Dans le domaine pharmaceutique, les médicaments à libération contrôlée sont des exemples d'application où la biorésorbabilité des polymères joue un rôle important comme il est illustré dans la (figure. I.01).

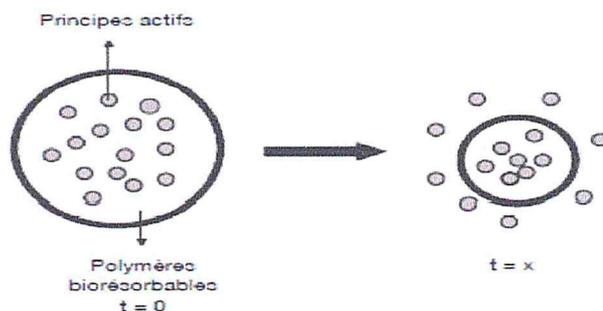


Figure.I.01. Processus de libération contrôlée des principes actifs.

I.5. Propriétés chimiques

La présence de fonctions chimiques sur les molécules leur attribue des propriétés particulières et des facilités à réagir avec d'autres molécules. Leur réactivité est due à la présence des fonctions alcool, acide, amine ou aldéhyde qui réagissent facilement grâce à leur site nucléophile et électrophile (Okada, 2002).

La présence de groupements hydroxyles, par exemple sur les chaînes alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation et conduit à la formation de polyuréthanes, polyamides ou polyesters. Par ailleurs, l'existence de stéréo-isomères due à la présence de carbone asymétrique sur certains bio-monomères comme l'acide lactique peut conduire à la formation de molécules douées de sélectivité. Cette propriété peut influencer directement sur les propriétés physico-

chimiques des polymères pouvant y résulter. Dès lors, on peut modifier les propriétés physiques et mécaniques des polymères ainsi que leurs applications. Dans l'exemple du PLA (acide polylactique), suivant la proportion des formes L et D, la structure du polymère est différente. Un PLA à plus de 93 % de la forme L présente une structure semi-cristalline par exemple tandis qu'un PLA contenant moins de 93 % de forme L possède une structure amorphe (Vert, 2002).

I.6. Autres propriétés

Certains biopolymères possèdent des fonctionnalités qui leur apportent des propriétés physico-chimiques ou mécaniques particulières. On peut relever dans le (tableau.I.02), quelques propriétés physico-chimiques intéressantes des biopolymères et les applications potentielles en relation.

Tableau.I.02. Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendues.

Biopolymères	Propriétés particulières	Applications ciblées
Polymères à base d'amidon	antistatiques, anti-condensations toucher naturel	Emballages, sacs, films de paillage
Polymères à base de cellulose	Transparences, antistatiques	Fibres, épaississant
Polymères à base de protéine	Comestibles, perméabilité sélective aux gaz	Galénique, emballages alimentaires
Polymères à base d'huile	Siccativités	Peinture, vernis
Polymères de synthèse (PLA)	Anti condensations, brillances, antibactériens	Emballages, fibres textiles
Polyesters bactériens (PHA)	piézoélectriques, antioxydants, insolubilité dans l'eau	Médical, matériau Ostéo-synthétique

(Mokrani nadir 2012)

I.7. Identité des alginates

a) Historique

Les alginates sont connus et utilisés depuis plus de cinquante ans dans les applications alimentaires, mais c'est en 1883 que l'anglais Stanford isola ce qu'il appela "algine" de *Laminaria digitata*, il ajouta de la soude à un résidu d'algues, filtra le liquide, le concentra puis passa en milieu acide et obtint un précipité gélatineux blanchâtre. La substance prit le nom d'acide alginique en 1907 quand on s'aperçut qu'elle libérait des ions H⁺ (comme les acides). Les premiers brevets concernant l'acide alginique ont été déposés par la Kelco Production et l'Algine Corporation of America. C'est en 1927 que le Docteur Thornley utilisa pour la première fois cet extrait pour agglutiner sous forme de briques des poussières de charbon. Suite à cette expérience, il mit en place en Californie, la Kelco Company, usine destinée à extraire l'acide alginique de *Macrocystis pyrifera*. [(Pérez, 1997) (Pérez, 1992)]

b) Définition

L'alginate de sodium est un polysaccharide de structure linéaire, biopolymère anionique, extrait des algues brunes, et il peut être produit par voie bactérienne (Mjahed, 2009). Au niveau industriel, il est essentiellement issu de certaines espèces d'algues brunes (Figure I.02) *Macrocystis pyrifera* récoltée aux Etats-Unis, *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* ou encore *Ascophyllum nodosum* récoltée en Europe. L'alginate est le polysaccharide le plus abondant de ces organismes, constituant plus de 40% de leur poids sec, couramment utilisé dans des applications biologiques notamment dans le domaine de l'encapsulation cellulaire et de la délivrance contrôlée de molécules à effet thérapeutique. Ce succès est dû notamment à son mode de gélification et à sa biocompatibilité largement démontrée dans la littérature. (Wang et al., 2003).



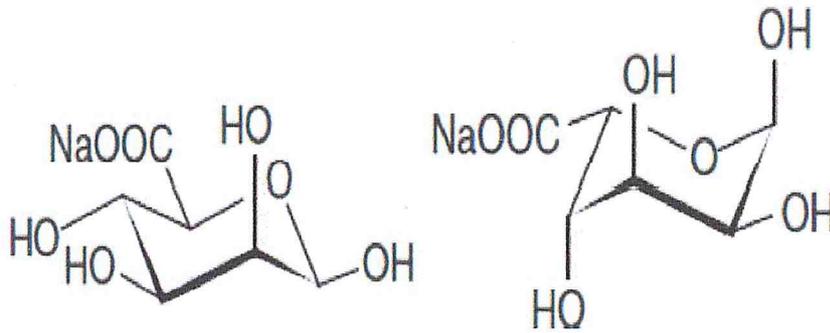
Figure I.02. *Laminaria digitata* (nathistoc.bio.uci.edu) *Macrocystis pyrifera* (algaebase.org) *Laminaria hyperborea* (marevita.org)

I.8.Composition chimique

Les alginates sont des copolymères binaires linéaires dont les monomères, l'acide β -D-mannuronique (noté par la suite M) et l'acide α -L-guluronique (noté G), sont liés par des liaisons glycosidiques b-(1-4) et a-(1-4).

Les motifs M et G sont organisés en blocs, formant ainsi des séquences répétitives donnant leurs propriétés aux chaînes d'alginate. Ces blocs forment des régions homopolymériques de motifs M (appelés blocs M), de motifs G (appelés blocs G) ou des régions de structure alternée (blocs MG). Une hydrolyse partielle suivie d'un fractionnement peut permettre de séparer ces blocs (Haug et al. 1965).

Ils sont des sels d'acide alginique, constitués de deux monomères saccharidiques de base acide α -L-guluronique (G) et acide β -D-mannuronique (M), dont la séquence varie (Figure.I.03).



β -D-mannuronate (M)

α -L-guluronate (G)

Figure.I.03. Monomères de la chaîne alginate.

La séquence des différents blocs (M) et (G) dépend du type d'algue, de son âge ainsi que de la partie dont est isolé l'alginate. La saison de récolte affecte de même la composition en blocs et les séquences (Jorgensen et al, 2007).

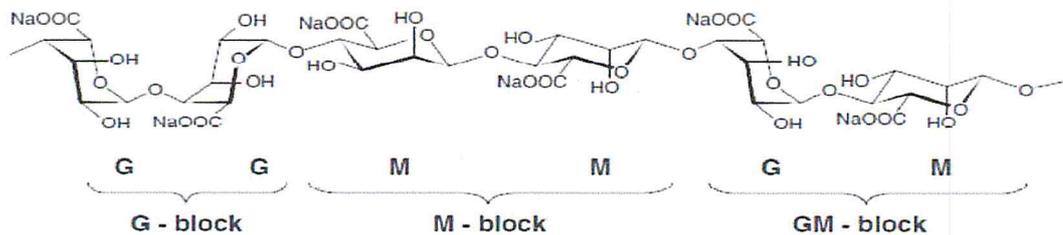


Figure.I.04. Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium (Jouanneau, 2010).

De plus, les alginates possèdent les quatre types de liaisons glycosidiques possibles (figure I.04) : di équatorial (MM), di axial (GG), équatorial-axial (MG) et axial-équatorial (GM).

La structure des segments polyacide mannuronique est très proche de celle de la cellulose. Les liaisons d'équatoriales entre unités M donnent à ces segments une structure aplatie, de type ruban. Cette structure est stabilisée grâce à des liaisons Hydrogène (Figure.I.04). Par exemple, groupement hydroxyle en C3 du monomère M+1 interagit avec l'atome d'oxygène du cycle du monomère M. (Smidsrod, 1973)

Type of Seaweed	%MM	%MG & GM	%GG
<i>Laminaria hyperborea</i> (stem)	17	26	57
<i>Laminaria hyperborea</i> (leaf)	35	38	26
<i>Lessonia nigrescens</i>	40	38	22
<i>Lessonia trabeculata</i>	25	26	49
<i>Durvillaea antarctica</i>	56	26	18
<i>Laminaria digitata</i>	43	32	25
<i>Ectonia maxima</i>	38	34	28
<i>Macrocystis pyrifera</i>	38	46	16
<i>Ascophyllum nodosum</i>	44	40	16
<i>Laminaria japonica</i>	48	36	16

Figure.I.05.proportion variable des différents blocs MG, MM et GG en fonction des différentes espèces d'algues (<http://www.fmcbiopolymer.com/>).

La proportion, la distribution et la longueur des blocs détermine les propriétés physicochimiques des molécules d'alginate.

I.9. Propriétés physico-chimiques

I.9.1. Solubilité

Il existe trois paramètres déterminants limitant la solubilité de l'alginate dans l'eau. Premièrement, Le pH de la solution joue un rôle dans la solubilisation des alginates. Si le pH de la solution contenant l'alginate est inférieur au pKa de l'acide mannuronique (pKa=3,38) ou de l'acide guluronique (pKa= 3,65), alors il peut y avoir séparation de phases voir formation

d'un hydrogel (Haug, 1967). La sensibilité des alginates vis-à-vis du pH de la solution dépend non seulement de la masse molaire mais aussi de la composition chimique et de la séquence des blocs. Les alginates contenant plus de sections alternées (blocs MG) précipiteront à des valeurs de pH plus faibles que les alginates contenant plus de blocs homogènes (poly-M et poly-G). Deuxièmement, la force ionique du solvant joue un rôle important (effet « salting-out ») sur la solubilité de l'alginate en limitant son hydratation en milieu aqueux. Et pour finir, le taux de cations gélifiants présents dans le solvant influence bien évidemment la solubilité de l'alginate.

I.10.Gélification

Les propriétés physiques de l'alginate sont décrites pour la première fois dans les années 1970. La principale caractéristique de l'alginate est sa capacité à gélifier en présence de cations multivalents. Cette transition sol/gel n'est pas influencée par la température (Vandamme et al 2002). Les sels d'alginates sont solubles dans l'eau et sont capables de gélifier en présence de cations multivalents tels que les ions Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Fe^{2+} ou encore Al^{3+} grâce à la formation d'une jonction impliquant plusieurs chaînes polysaccharidiques. Cette interaction est décrite par le modèle « Egg-box » dans lequel chaque ion divalent peut interagir avec deux résidus G adjacents ou appartenant à deux chaînes opposées (figure.I.06) (Grant et al, 1973).

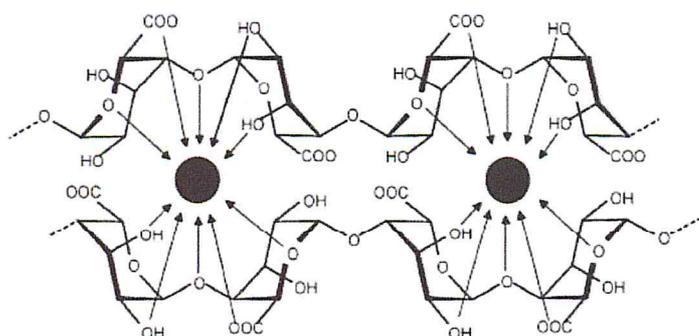


Figure.I.06. Gélification ion tropique de l'alginate. Modèle "Egg-box".

L'ion chélateur divalent impliqué dans les liaisons intra et intermoléculaire d'alginate possède une affinité variable avec les résidus G suivant le type de cation considéré, à savoir :

$\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Ba} > \text{Sr} > \text{Ca} > \text{Co, Ni, Zn} > \text{Mn}$ (Haug et Larsen, 1970).

Le sel de cation divalent généralement utilisé pour la gélification de l'alginate est le chlorure de calcium en raison de sa bonne solubilité en milieu aqueux et de la forte disponibilité en ions calcium qu'il apporte. Il a été montré que 90% des ions sodium contenus dans une solution d'alginate de sodium ; peuvent être facilement déplacés par les ions calciques (Seely et Hart, 1974). Les ions calcium s'associent préférentiellement aux fragments poly-guluronate plutôt qu'aux fragments poly-mannuronate (figure.I.07). En effet, les blocs poly-guluronate, en raison de leur conformation spatiale, permettent une chélation plus énergétique des ions. Ces derniers sont retenus dans une « cage » et interagissent avec les fonctions carboxylates et les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyles. Les ions calcium sont beaucoup mieux retenus que par de simples liaisons ioniques.

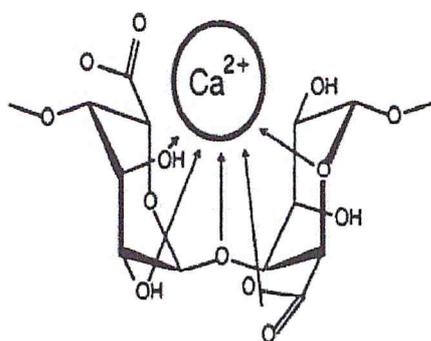


Figure.I.07. Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate (Stequert, 2009).

Cet enchaînement régulier de type « Egg box » (figure.I.08) se reproduit périodiquement il se forme un réseau tridimensionnel à zones organisées reliées par les segments poly-M ou poly-(M-G).

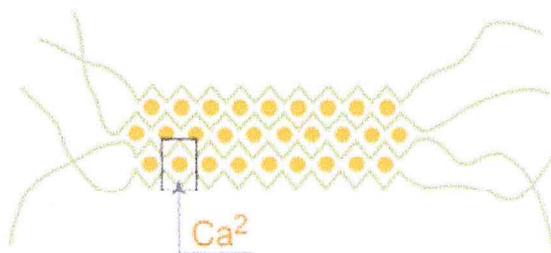


Figure.I.08. Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "Egg-box". (www.cargilltexturizing.com).

La structure du polymère est donc l'élément déterminant du comportement rhéologique de Gels d'acide alginique : la proportion des blocs poly-G et leur longueur conditionnent la formation et la force des gels obtenus en présence de calcium.

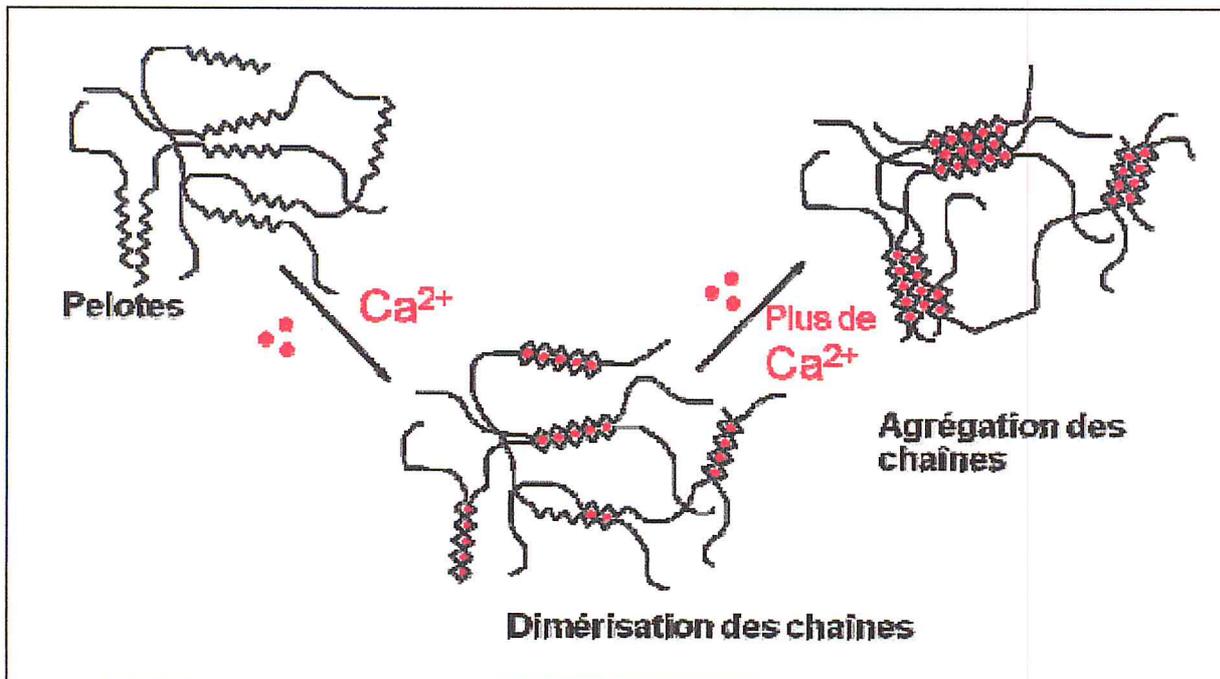


Figure.I.09.Effet de l'ajout de calcium dans une solution d'alginate : en haut à gauche les polymères polyM et polyG ne sont pas reliés. Avec l'ajout d'une concentration faible en calcium, on observe un assemblage des chaînes. En haut à droite cette figure montre que plus on ajoute de calcium, plus le réseau tridimensionnel est lié et donc rigide (Jouanneau, 2010)

I.10.1 Méthodes de gélification

On distingue d'habitude trois méthodes principales pouvant conduire à la gélification des alginate :

I.10.1.1. Gélification externe ou par diffusion

C'est la technique la plus simple. Elle est mise en œuvre à température ambiante. Une solution d'alginate est versée goutte à goutte dans une solution contenant des ions calcium. La gélification de l'alginate est immédiate à la périphérie de la goutte. Des échanges peuvent ensuite se produire entre l'intérieur et l'extérieur de la gouttelette. Quand l'alginate doit jouer le rôle de matrice immobilisant, on aura recours à cette technique de gélification. Par conséquent, on utilise principalement cette méthode dans la fabrication de billes, films et fibres; ce principe est mis à profit pour réaliser diverses encapsulations (enzymes, bactéries...etc.). Cependant, l'inconvénient de cette méthode réside dans l'absence d'uniformité du produit obtenu: la concentration en alginate décroît de la surface au centre du gel. Néanmoins, on peut contrôler

l'homogénéité dont le maximum sera obtenu en utilisant des alginates de haut poids moléculaire avec de fortes concentrations aussi bien en ions gélifiants que non-gélifiants; on peut également améliorer l'homogénéité en ajoutant du chlorure de sodium (cf. partie expérimentale).

I.10.1.2. Gélification interne

Dans cette technique, le calcium est présent dans la masse du produit et réagit avec l'alginate suivant une cinétique contrôlée. Elle a lieu, tout comme pour la méthode précédente, à température ambiante. Pour obtenir un gel d'alginate homogène, il convient de piéger le calcium du milieu. Une fois le calcium piégé, l'alginate peut se dissoudre. Ensuite, un sel de calcium à dissolution lente libère progressivement le calcium qui peut réagir avec l'alginate pour donner un gel. La source de calcium est principalement du sulfate dihydraté dans les systèmes à pH neutre et du phosphate di-calcique dans les systèmes à pH acide. Dans les systèmes acides, c'est le pH acide qui permet de solubiliser et d'ioniser le calcium. La cinétique peut être contrôlée en jouant sur la taille des particules et l'abaissement du pH avec la glucono-o-Lactone par exemple. Dans les systèmes neutres, un séquestrant du calcium est utilisé pour réagir avec celui-ci avant l'alginate. La présence de séquestrant permet d'homogénéiser les solutions avant la gélification.

I.10.1.3. Gélification par refroidissement

Tous les constituants nécessaires à la gélification (alginate, source de calcium, séquestrant) sont mélangés à chaud. L'organisation du gel se met en place au refroidissement. Le gel n'est pas thermoréversible mais il est moins sujet à la synérèse que les gels mis en œuvre à froid.

(Des prairies, 2002) (Algorithm, 2001) (Draget et coll., 1997)

I.11. Comportement rhéologique

Le comportement des alginates est quasi-newtonien, le type d'alginate, la concentration de la solution, la composition chimique de l'alginate, sa masse moléculaire moyenne, etc. ; peuvent l'affecter (déviations), voici un Rhéogramme obtenu par (Carturan et al 2006). Pour des solutions d'alginate de sodium de différentes concentrations. Le comportement était newtonien, sauf que pour les concentrations élevées on observe des déviations.

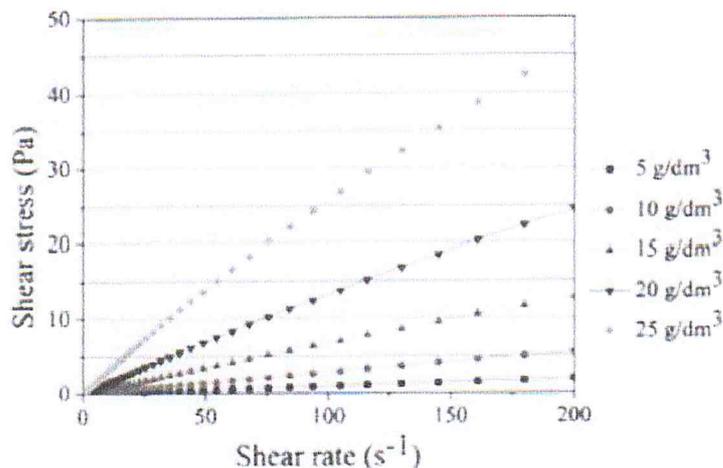


Figure.I.10. Rhéogramme contrainte de cisaillement-vitesse de cisaillement pour des solutions d'alginate de sodium de différentes concentrations (Carturan et al. 2006).

I.12. Le codage des alginates commerciaux

- l'acide alginique (E400)
- l'alginate de sodium (E401)
- l'alginate de potassium (E402)
- l'alginate de calcium (E403)
- l'alginate d'ammonium (E404)
- l'alginate propylène glycol (E405)
- l'alginate de triéthanolamine.

(Pérez, 1992) (Schmitt, 1986).

I.13.L'utilisation de l'alginate

De par ses diverses propriétés colloïdales, c'est-à-dire la rétention d'eau, la gélification et la stabilisation des émulsions, les alginates sont employés dans de nombreux domaines. Ces propriétés sont utilisées dans de nombreuses industries et notamment dans le textile :

- L'alginate donne la rhéologie souhaitée pour les pâtes et teintures. L'imprimerie les emploie dans les encres pour en améliorer la viscosité mais également dans les livres où ils possèdent des propriétés anti-graisse, augmentent la résistance à l'huile, la prise d'encre et l'imprimabilité.

- L'alginate trouve un emploi jusque dans le domaine de la soudure. La fabrication des baguettes à souder y a recours dans l'étape de séchage et de cuisson pour apporter un effet lubrifiant et liant.
- L'industrie alimentaire est un gros consommateur d'alginate pour des emplois variés. Les additifs alimentaires sont les suivants : l'acide alginique E400, l'alginate de sodium E401, l'alginate de potassium E402, l'alginate d'ammonium E403, l'alginate de calcium E404 et l'alginate de propylène glycol E405.
- Ils sont retrouvés dans les laits gélifiés en vue de la préparation de desserts lactés, dans les gelées alimentaires pour leurs propriétés gélifiantes. Les glaces et les yaourts contiennent également de l'alginate pour améliorer la texture et la saveur : ces produits deviennent alors plus onctueux.
- Dans les crèmes glacées et les sorbets, cet additif empêche la formation de cristaux. Par ailleurs un rôle secondaire dans cette industrie est l'effet stabilisant des alginate. Ce phénomène est notamment trouvé dans les jus de fruits.
- Les aliments reconstitués sont également utilisateurs d'alginate pour leur grande capacité de gélification, leur stabilité à la chaleur et leur maniabilité qui permettent de former facilement le produit final (exemples : poissons panés, jambons, cordons bleus). Dans la bière, l'alginate permet de maintenir un taux de mousse suffisant.

Le milieu médical fait aussi partie des consommateurs d'alginate. Des inserts oculaires ont été mis au point à base d'alginate. Ils sont constitués d'un réservoir central chargé en pilocarpine dans une matrice d'acide alginique : ce sont les Ocusert® (figure.I.11). Ces implants permettent le traitement du glaucome. D'autres applications dans le domaine du remplissage vasculaire utilisent l'alginate comme modificateur de la viscosité des préparations.

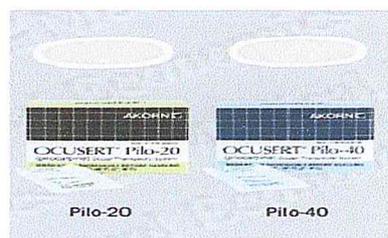


Figure.I.11. Insert oculaire contenant de l'alginate : Ocusert®

Les chirurgiens-dentistes se servent de l'alginate pour effectuer des moulages dentaires en vue de la prise d'empreintes. L'avantage de ce produit est qu'il est hypoallergénique. Cette même propriété est appliquée pour les moulages des parties du corps au cinéma afin de créer des effets spéciaux (figure.I.12).

Les propriétés adoucissantes, filmogènes, hydratantes, font des alginates de bons composés pour les produits de beauté. En effet, ils ont la capacité à former des préparations qui s'étalent bien sur la peau et sont agréables au toucher.



Figure.I.12. Moulage du visage réalisé avec de l'alginate.

La cuisine moderne appelée cuisine moléculaire, s'est inspirée des différentes applications déjà connues des alginates afin de les appliquer dans son domaine. C'est ainsi que les cuisiniers l'utilisent aujourd'hui pour former des billes remplies de différents produits gustatifs (figure.I.13).



Figure.I.13. billes d'alginate contenant un colorant vert ainsi qu'un arôme pour la cuisine moléculaire.

Tableau.I.03. Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications. (Vauchel, 2007).

Application	Rôle de l'alginate
Industrie textile (50%)	Épaississant pour les pâtes d'impression, Épaississant et stabilisateur des teintures, Agent d'imperméabilisation, Agent plastifiant et filmogène.
Industrie agroalimentaire (30%) codes E401 à E405	Épaississant, texturant, conservateur, dans de nombreux produits : confitures, jus de fruits, sauces (moutarde, mayonnaise), potages, produits laitiers, stabilisateur dans les crèmes glacées (empêche la formation de cristaux).
Industrie du papier (5%)	Agglomérant pour les fibres, apprêt de surface, Épaississant et stabilisant dans les colles, Maintien des pigments en suspension.
Industrie pharmaceutique (5%)	Stabilisateur d'émulsions, agglomérant dans les comprimés, épaississant et hémostatique dans les pommades, pansements, mèches nasales, Gélifiant dans les pâtes à empreinte dentaire.
Divers (10%)	Épaississant dans les produits de beauté et pâtes à dentifrice, stabilisateur pour les peintures et vernis, Flocculant en traitement des eaux, Agglomérant pour les électrodes de soudure, Agent absorbant dans les couches pour bébé.

(Emilie Vincent 2010)

Chapitre II
Micro-encapsulation

II.1. Introduction

La micro encapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation de microparticules individualisées, constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active (**Richard et Benoit, 2000**). La terminologie « microcapsules » sous-entend des entités dont le diamètre est compris entre 1 et 1000 μm . Le terme nano capsules est réservé aux capsules dont la taille est inférieure au micron. Comme le précisent Boh et Sumiga (2008), la substance encapsulée peut se présenter sous la forme de fines particules de solide, d'un liquide, ou encore d'un composé gazeux.

La microcapsule permet de préserver la substance encapsulée sous la forme d'un état finement divisé, et de la reléguer dans les conditions souhaitées. L'encapsulation d'un liquide permet de convertir ce liquide sous la forme d'une poudre solide, tout en préservant sa réactivité à l'état liquide. De ce fait, l'encapsulation facilite la manipulation de réactifs liquides, et permet de ne démarrer la réaction chimique visée que quand la capsule est rompue (**Finch et Bodmeier, 2005**).

II.2. Définition

La micro encapsulation est une technique de protection de matières sensibles (à l'état solide, liquide ou gazeux) appelées aussi matières actives à l'aide d'une matière enrobant par formation de particules de taille micrométrique (**Augustin et al 2009**). Ce procédé permet de créer une barrière de protection pour les molécules encapsulées et de contrôler leur relargage dans un milieu donné. Le contenu d'une capsule individualisée est protégé de l'environnement par la matière enrobant et peut être libéré sous l'action de la température, d'enzymes, du changement de pH du milieu, de l'action mécanique ou simplement par la diffusion à travers la matière enrobant poreuse.

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

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

- ❖ la libération contrôlée ou ciblée de composants actifs.

II.3. Historique

La première application industrielle de microparticules date des années 1950 quand Green et Schleicher ont encapsulé des particules de pigments dans des polymères naturels (protéine/gélatine et polysaccharide/gomme arabique) par coacervation complexe. Cette stratégie, utilisée pour la production de papier "carbone", permet la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression en encapsulant des colorants (Dubey et al 2009). Le principe repose sur la préparation d'une dispersion de microcapsules où la matière encapsulée est composée d'un agent colorant qui couvre le recto des feuilles de papier. Le contenu des capsules se libère grâce à l'action mécanique d'une machine à écrire et il change de couleur quand il réagit avec la colle acide qui couvre l'autre face du papier (Figure.II.1). Le papier autocopiant est l'un des produits les plus importants fabriqués par la méthode de micro encapsulation. Il représente encore aujourd'hui une application très importante en volume de microparticules produites par plusieurs milliers de tonnes par an.

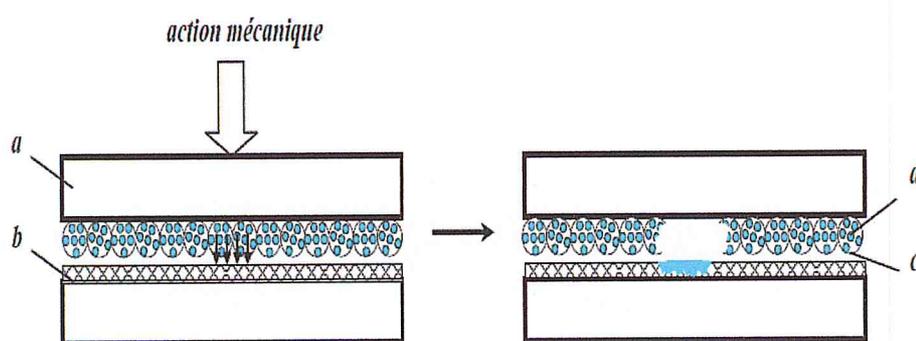


Figure.II.1. Système de triple couche du papier autocopiant avec des microcapsules : (a) papier, (b) colle acide, (c) microcapsule, (d) solution du colorant.

Dans les années 1960, l'encapsulation de cristaux liquides par la gélatine et la gomme d'acacia pour la production de matériaux pour écrans thermosensibles a été décrite par Ferguson (Ferguson 1964). Cette méthode d'encapsulation a permis le développement des écrans à cristaux liquides utilisés pour les structures aérospatiales. Au cours des dernières années, la micro encapsulation s'est considérablement développée à l'échelle industrielle. Les microparticules ont des applications très variées, elles sont utilisées pour la production de textiles parfumés (Rodrigues et al., 2008) et de produits cosmétiques (ElZawahry et al, 2007, Ge et al, 2009), pour la protection des récoltes agricoles (Stelinski et al, 2007, Bingham et

al.2007), dans l'agroalimentaire pour donner de nouvelles propriétés aux aliments (encapsulation d'arômes, colorants, épices) (Augustin 2009), mais aussi dans les produits phytosanitaires (Nordstierna et al, 2010, Scher et al, 1998), et dans le domaine de la médecine et de la pharmacie (Benita et al, 1985, Sugamori et al, 1989).

II.4. Classification des microparticules

Le type de particules obtenues par micro encapsulation dépend des propriétés physico-chimiques de la matière active et de la matière enrobant, de leur composition et de la technique utilisée. Les microparticules peuvent se présenter sous différentes structures dont les deux plus simples sont la structure réservoir (microcapsule) et la structure matricielle (microsphère) (Richard et al, 2000).

La microcapsule est une particule réservoir constituée d'un cœur de matière active liquide ou solide, entouré d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant alors que la microsphère est constituée d'un réseau macromoléculaire continu, formant une matrice dans laquelle la matière active est finement dispersée, à l'état de fines particules solides ou encore de gouttelettes liquides. Ces deux types de morphologie de microparticules ainsi que quelques variantes plus complexes sont présentés sur la (Figure.II.2).

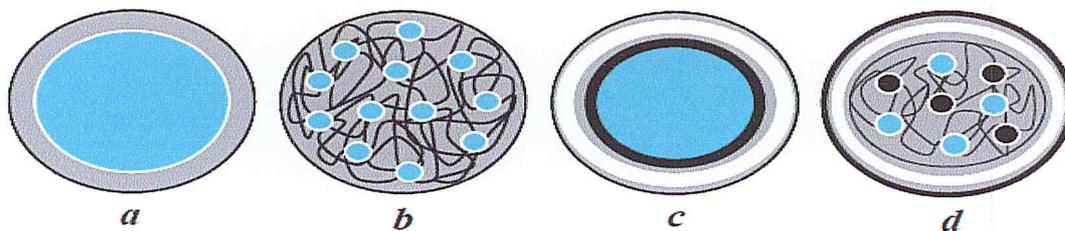


Figure.II.2. Morphologie de particules obtenues par micro encapsulation : (a) microcapsule simple, (b) microsphère simple, (c) microcapsule multi enveloppe, (d) microsphère avec double cœur actif/multi enveloppe.

En ce qui concerne leur forme, les microparticules ne sont pas nécessairement sphériques, elles peuvent également avoir une forme irrégulière. Lorsqu'une particule solide est encapsulée, la matière enrobant épouse généralement les contours de la particule, ce qui conduit à une grande variété de formes. En revanche, la taille est un dénominateur commun à ces systèmes : elle est comprise entre $1\mu\text{m}$ et $1000\mu\text{m}$. En deçà, on parlera de nanoparticules et au-delà de mini granules. La production de microparticules s'accompagne fréquemment d'une certaine polydispersité en taille distribution gaussienne, apparition de deux ou plusieurs populations.

Seules les techniques basées sur la formation de gouttelettes ou sur la polymérisation en milieu dispersé permettent l'obtention de microparticules proches de la mono dispersité. Comme la taille moyenne et la distribution granulométrique sont en relation directe avec la surface spécifique des microparticules, ces paramètres vont influencer certaines propriétés comme notamment la libération de la matière active dans le milieu environnant. La teneur en matière active (taux d'encapsulation) peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 % à 90 %. Au contraire, les teneurs habituellement rencontrées dans les microsphères sont plus faibles, de l'ordre de 20 % à 50 %. Par contre les propriétés de relargage de matière active sont souvent plus avantageuses dans le cas des microsphères. La diffusion progressive du principe actif du fait de sa dispersion dans la matrice est particulièrement adaptée à certaines applications, notamment dans les domaines agroalimentaire et pharmaceutique (**Richard et al, 2000**).

En ce qui concerne le relargage, deux systèmes existent : les systèmes à libération déclenchée et ceux à libération prolongée. Les systèmes à libération déclenchée sont généralement des microcapsules formées d'une membrane étanche qui vont libérer brutalement leur contenu par rupture ou éclatement de la membrane. Les systèmes à libération prolongée se distinguent les uns des autres par les mécanismes de libération mis en jeu (diffusion passive, dégradation/dissolution du matériau enrobant, échange d'ions) et par leur structure (microcapsule ou microsphère) qui vont directement influencer la cinétique de libération résultante (**Richard et al, 2000**).

II.5. Microparticule et ses composés

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

(**alla nesterenko2012**).

II.6. Les molécules encapsulées – la matière active

La matière active est la partie qui détermine l'utilisation suivante des microparticules produites. La nature des substances actives utilisées dans la micro encapsulation est très variable. Parmi les ingrédients que l'on peut protéger et isoler se trouvent :

- des arômes, des huiles essentielles et des substances aromatisantes volatiles (**Dardelle et al, 2007, Marcuzzo et al, 2010**).
- des vitamines, comme l'acide ascorbique (vitamine C) (**Wilson et al, 2007, Pierucci et al, 2006**), le α -carotène (vitamine A) (**Junyaprasert et al, 2001, Priamo et al, 2010**), l' β -tocophérol (vitamine E) (**Somchue et al, 2009, Yoo et al, 2006**).
- des lipides sensibles à l'oxydation tels que des acides gras polyinsaturés (**Keogh et al, 1999, Kapusniak et al, 2006, Wehrle et al, 1999**).
- des acides et bases alimentaires (acide citrique, bicarbonate de sodium) (**Abbasi et al 2009**).
- des additifs alimentaires (colorants, conservateurs) (**Rascon et al, 2011**).
- des bactéries et des enzymes (**Hammill et al, 1997, Anjani et al, 2007**).
- des principes actifs pour l'industrie pharmaceutique (**Benita et al, 1985, Sefton et al, 1982, Sugamori et al, 1989**).
- des principes actifs cosmétiques (**El-Zawahry et al, 2007, Ge et al, 2009**).
- des minéraux (sels du calcium ou du fer) (**Abbasi et al, 2011**).

II.7. Additifs

En plus du matériau enrobant et la matière active, certains additifs peuvent également être ajoutés dans le système avant la micro encapsulation. Parmi les additifs les plus souvent utilisés en micro encapsulation on trouve les agents tensioactifs (**Salaüna et al, 2011 Theron et al, 2012, Saihi et al, 2006, Krishnan et al, 2005, Shaikh et al, 2006, Gan et al, 2008, Yu et al, 1997, Yoo et al, 2006, Irache et al, 1995, Hildebrand et al, 2000**), les agents antimicrobiens (**Gharsallaoui et al, 2012, Wang et al, 2011**), ou encore les agents réticulant (**Ezpeleta et al, 1996, Lazko et al, 2004**). Dans le cas de l'utilisation d'un principe actif hydrophobe, la stabilisation de l'émulsion, avant l'étape de micro encapsulation, peut se faire en présence d'un agent tensioactif. Les surfactants utilisés pour stabiliser la phase huileuse de l'émulsion sont les oléates de sorbitane (Span) (**Salaüna et al, 2011, Saihi et al, 2006, Gan et al, 2008**), les polysorbates (Tween) (**Theron et al, 2012, Krishnan et al, 2005, Shaikh et al, 2006, Yu et al, 1997, Yoo et al, 2006**), le polyricinoléate de poly glycérolé (**Augustin et al., 2009**) et les copolymères à blocs (Synperonic) (**Irache et al, 1995, Hildebrand et al, 2000**). Ces tensioactifs sont ajoutés dans les préparations liquides en faible quantité (de 0,5 % à 5 %). Afin de prévenir la multiplication des micro-organismes dans le système et de le stabiliser effica-

cement, des agents antimicrobiens, notamment l'azoture de sodium, peuvent être utilisés **(Gharsallaoui et al, 2012, Wang et al, 2011)**.

Les agents de réticulation sont parfois utilisés après l'étape de micro encapsulation pour consolider l'enrobage polymérique et lui apporter de meilleures propriétés mécaniques dans le but de protéger les particules formées contre la coalescence et la libération préalable de la matière active. Par exemple, dans le cas de l'encapsulation de principes actifs par des protéines, le glutaraldéhyde est souvent utilisé comme agent de réticulation **(Ezpeleta et al, 1996, Lazko et al, 2004)**.

Avant l'utilisation d'un additif il est nécessaire de connaître ses propriétés, notamment la compatibilité avec l'application visée. Par exemple, les additifs comme l'azoture de sodium et le glutaraldéhyde présentent une toxicité élevée et leur utilisation dans les produits destinés à la consommation humaine est limitée **(Faqi et al 2008 Leung et al 2001)**.

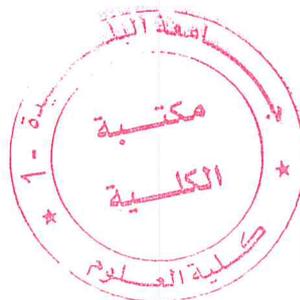
II.8. Techniques d'encapsulation

Les procédés de micro encapsulation sont variés; il existe plusieurs classifications de ces techniques. Elles peuvent être classées selon l'utilisation ou non de solvants organiques, selon le coût énergétique des techniques **(Richard et al, 2000)**, ou encore selon leur application dans un domaine ou un autre. Cependant, la classification la plus courante est présentée dans le (Tableau II.01).

Tableau.II.01.Procédés de micro encapsulation

Type de procédé	Mode d'encapsulation	Gamme de tailles de microcapsules obtenues	Types de produits obtenus
Procédés physico-chimiques	Séparation de phases ou coacervation (simple ou complexe)	2 – 1200 μm	Microcapsules Microsphères
	Evaporation – extraction de solvant	0,5 – 200 μm	Microsphères
	Gelification thermique d'emulsions (hot melt)		Microsphères
Procédés chimiques	Polycondensation interfaciale	2 – 2000 μm	Microcapsules
	Polymerisation interfaciale	2 – 2000 μm	Microcapsules
	Polymérisation en milieu dispersé par voie radicalaire ou anionique		Microsphères
Procédés mécaniques	Nébulisation/séchage (spray drying)	1 – 200 μm	Microspheres
	Gélification ou congélation de gouttes (prilling)	200 – 800 μm	Microsphères
	Enrobage en lit fluidisé (spray-coating)	35 – 5000 μm	Microcapsules
	Extrusion/sphéronisation	$\geq 200 \mu\text{m}$	Microsphères

Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé (d'après Richard et Benoit, 2009, et Finch et Bodmeier, 2005).



II.9. Caractéristiques des microparticules

II.9.1. Structure et taille

Les microparticules sont composées d'un matériau enrobant constitué de polymères synthétiques ou naturels ou encore de lipides et, en général, d'une matière active. Elles présentent une taille comprise entre 1 et 1000 μm . Leur distribution granulométrique est de type gaussien, varie avec le procédé de fabrication choisi et est déterminée par granulométrie à variation de résistance électrique ou diffraction laser. La morphologie des microparticules peut être observée par microscopie optique ou électronique. Deux structures peuvent exister : les microsphères et les microcapsules (Figure II.3). Les premières sont formées d'une matrice continue de polymère ou de lipide au sein de laquelle le principe actif est dissout ou dispersé. Les microcapsules sont quant à elles des réservoirs constitués d'un cœur de principe actif sous forme liquide, solide ou éventuellement gazeux, entouré par une membrane de matériau enrobant.

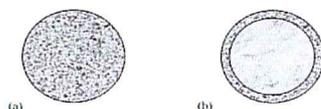


Figure II.3. Microsphère (a) et microcapsule (b)

Les polymères formant le matériau enrobant peuvent être d'origine naturelle (gélatine, chitosane, alginate de sodium, agarose...), hémisynthétique (dérivés de la cellulose...) ou synthétique comme les copolymères des acides lactique et glycolique couramment utilisés. Selon le domaine d'application des microparticules, des propriétés de biocompatibilité et/ou de biodégradabilité seront requises. Les lipides (acides gras, alcools gras, glycérides, cholestérol...) seront plutôt utilisés sous forme solide, de même que les cires naturelles ou minérales. D'autres matériaux tels que des stabilisants (tensioactifs, dispersants, antimottants...) ou des cryo protecteurs peuvent être ajoutés à la formulation des microparticules. L'ensemble des composés va intervenir dans le profil de libération de la matière active.

II.9.2. Encapsulation et cinétique de libération

Les microparticules contiennent une manière très variable entre 1 et 90% en masse de matière active. Les taux d'encapsulation déterminés par HPLC ou spectrophotométrie sont généralement plus élevés au sein des réservoirs formés par les microcapsules. Différents facteurs physico-chimiques tels que la charge électrique de surface, la mouillabilité, la porosité et le degré de gonflement des microparticules, ainsi que les polymères utilisés (caractérisés par analyse

calorimétrique différentielle ou chromatographie d'exclusion stérique) peuvent influencer la libération du principe actif encapsulé. L'état physique de ce dernier est également un facteur à connaître. En effet, une dispersion moléculaire de matière active encapsulée ne se libérera pas de la même manière que des cristaux et n'aura pas non plus la même stabilité au sein du système. Certaines particules fabriquées pour l'encapsulation de cellules, d'enzymes ou de bactéries sont destinées à garder leur contenu. D'autres doivent le libérer de manière brutale comme dans le domaine des autocopiants en papeterie, par exemple. Dans ce cas, la membrane doit être étanche et la libération se fera par éclatement ou fusion de la particule sous les effets respectifs de la pression ou de la température. Lorsque la libération de la matière active doit être prolongée, deux mécanismes principaux existent et peuvent cohabiter : diffusion passive et dégradation ou dissolution du matériau enrobant. Les cinétiques de libération obtenues par diffusion passive pour des microcapsules suivent logiquement les lois de Fick et sont généralement d'ordre 0 ou 1. Dans ce dernier cas, la vitesse initiale de libération peut être soit accélérée (« buste ») si beaucoup de matière active se trouve à la surface de la particule, soit retardée si au contraire, un laps de temps est nécessaire pour que la matière active imprègne la membrane de la microcapsule, étape indispensable à sa libération dans le milieu extérieur. Dans le cas des microsphères, les cinétiques obtenues par diffusion passive suivent la loi d'Higuchi décrivant une quantité de matière libérée proportionnelle à la racine carrée du temps.

(Philippe Legrand et al 2007).

Il existe plusieurs techniques de libération du principe actif :

- Libération déclenchée, rapide : rupture de la membrane par augmentation de la température ou par application d'une pression **(Empereur J, 2006, Conception de nouveaux papiers autoadhésifs, Thèse de l'INPG, p. 29-31 ; Richard J, Benoit J.P, 2000, Micro encapsulation, Techniques de l'ingénieur, J2210, p. 2-5).**

- Libération prolongée :

- Soit par diffusion à travers la membrane, poreuse et perméable, qui permet un largage lent et régulier du matériau cœur. Le temps de largage dépend principalement des caractéristiques de la membrane (porosité, épaisseur ...).

- Soit par dégradation progressive de la membrane : au contact d'une enzyme, d'une flamme ou d'eau, le matériau carapace se dégrade progressivement, libérant la substance active **((Boh B, Sumiga B, 2008, Microencapsulation technology and its applications in building Construction materials, RMZ – Materials and geoenvironment, vol. 55 (3) , p. 329-344.)).**

Chapitre III
Traitement et Analyse d'image

III.1.Introduction

L'analyse d'image est la reconnaissance des éléments contenus dans l'image. Il ne faut pas confondre analyse (décomposition en éléments) et traitement (action sur les composantes) de l'image.

Le but de l'analyse d'image est de fournir une description quantitative de l'image (nombre de cellules d'une certaine taille) ou une reconnaissance de forme (utile si les caractéristiques morphologiques de l'image sont liées aux propriétés de l'objet). Elle trouve des applications dans de nombreux domaines : sciences des matériaux, sciences de la vie, géologie, robotique.

Les analyseurs d'images quantitatifs se composent d'une caméra de télévision qui peut être combinée à un microscope optique, un appareil de projection ou un microscope électronique. Les signaux provenant de l'image reçue par la caméra sont traités par une unité centrale qui calcule les surfaces, effectue les comptages et répartit les particules en classe de diamètre. Il est également possible de déterminer des caractéristiques telles que le rapport entre les diamètres maximal et minimal. La zone en cours d'examen est visualisée sur un écran; le système est accessible au clavier ou commandé par menu. Avec un tel dispositif, il est possible de choisir les objets à examiner, d'en effacer et de séparer des particules adjacentes. Ces systèmes permettent fréquemment la correction des images ou l'utilisation de méthodes de classement telles que l'intensification d'image par détection du niveau de gris pour obtenir un meilleur contraste.

III.2.Applications

Une évaluation quantitative par analyse d'image permet de comparer un échantillon avec des normes. Les applications au contrôle de qualité sont nombreuses. On va pouvoir contrôler la qualité du lait cru par numération bactérienne, l'aptitude à la mise en forme d'alliages d'aluminium. De même, on peut évaluer les inclusions non métalliques dans un acier ou la composition de prélèvements de houille. Des applications variées peuvent être trouvées aussi dans les domaines suivants :

- ◆ photographie
- ◆ cinéma numérique
- ◆ astronomie

- ♦ contrôle non destructif
- ♦ médecine
- ♦ sécurité
- ♦ microscopie
- ♦ micro-tomographie
- ♦ contrôle non destructif moyens exposés.

III.3. Analyse d'image informatique

L'utilisation des ordinateurs permet l'automatisation de l'analyse du contenu d'images. On y a recours dans les domaines militaires (repérage de forces armées sur des images de satellites), de la sécurité (reconnaissance faciale), en astronomie (analyse de mouvement de corps célestes), en biologie / médecine (numération de cellules), en biologie moléculaire (analyse de gels d'électrophorèse), dans la vie de tous les jours (reconnaissance de caractères).

Ces logiciels mettent en œuvre des algorithmes tels que la squelettisation, les convolutions, le seuillage, les opérations (addition, soustraction, multiplication, division) d'images, les opérations binaires (et, ou, Nor, Xor...) d'images, ...etc. La programmation de ces opérations permet à l'utilisateur d'effectuer rapidement l'analyse d'un grand nombre d'images en fonction de sa problématique.

III.4. Traitement d'image

Le traitement d'images commence à être étudié dans les années 1920 pour la transmission d'images par le câble sous-marin allant de New York à Londres. Harry G. Bartholomew et Maynard D. Macfarlane effectuent la première numérisation d'image avec compression de données pour envoyer des fax de Londres à New York. Le temps de transfert passe ainsi de plus d'une semaine à moins de trois heures. Il n'y a pas vraiment d'évolution par la suite jusqu'à la période d'après-guerre (**Gonzalez, woods 2008 introduction p.3-4**).

Le traitement du signal prend de l'importance vers la fin de la seconde guerre mondiale avec l'arrivée du radar. La prospection pétrolière participe aussi beaucoup, au développement des techniques de traitement du signal.

Le véritable essor du traitement d'images n'a lieu que dans les années 1960 quand les ordinateurs commencent à être suffisamment puissants pour travailler sur des images.

Peu après, la redécouverte de la transformée de Fourier rapide (FFT) qui révolutionne le domaine, en rendant possible les manipulations du contenu fréquentiel des signaux sur ordinateur, cependant, l'essentiel des recherches porte encore, à cette époque, sur l'amélioration des images et leur compression.

En 1980, David Marr formalise le premier la détection de contours de manière précise (**D. Marr et E. Hildreth : Theory of Edge Détection, Proc. R. Soc. London, B 207, 187-217, 1980**). Au cours des années 1980, un véritable engouement se fait jour pour le traitement de l'image et surtout pour la compréhension de l'image par des systèmes experts. Les ambitions étaient beaucoup trop grandes, l'échec fut d'autant plus cuisant.

Les années 1990 sont témoins de l'amélioration constante des opérateurs. La recherche médicale devient un très gros demandeur en traitement d'images pour améliorer les diagnostics faits à partir des nombreuses techniques d'imagerie médicale, la technique reine étant l'IRM. Les publicitaires, puis le grand public se familiarisent avec la retouche d'image grâce au logiciel Photoshop, et le traitement d'images dans un objectif esthétique se répand avec l'apparition d'autres logiciels dédiés (The Gimp, PaintShop Pro). Enfin, la décennie s'achève sur l'engouement pour les ondelettes et les images multimodales.

Depuis quelques années, le traitement d'image informatique analyse les contenus techniques des images numériques en les détaillant et les modifiant par le traitement d'images est une discipline de l'informatique et des mathématiques appliquées qui étudie les images numériques et leur transformation, dans le but d'améliorer leur qualité ou d'en extraire de l'information.

Il s'agit d'un sous-ensemble du traitement du signal dédié aux images et aux données dérivées comme la vidéo (par opposition aux parties du traitement du signal consacrées à d'autres types de données : son et autres signaux monodimensionnels notamment), tout en opérant dans le domaine numérique (par opposition aux techniques analogiques de traitement du signal, comme la photographie ou la télévision traditionnelles).

Dans le contexte de la vision artificielle, le traitement d'images se place après les étapes d'acquisition et de numérisation, assurant les transformations d'images et la partie de calcul permettant d'aller vers une interprétation des images traitées. Cette phase d'interprétation est d'ailleurs de plus en plus intégrée dans le traitement d'images, en faisant appel notamment à l'intelligence artificielle pour manipuler des connaissances, principalement sur les informa-

tions dont on dispose à propos de ce que représentent les images traitées (connaissance du « domaine »).

La compréhension du traitement d'images commence par la compréhension de ce qu'est une image. Le mode et les conditions d'acquisition et de numérisation des images traitées conditionnent largement les opérations qu'il faudra réaliser pour extraire de l'information. En effet, de nombreux paramètres entrent en compte, les principaux étant :

1. la résolution d'acquisition et le mode de codage utilisé lors de la numérisation, qui déterminent le degré de précision des éventuelles mesures de dimensions,
2. les réglages optiques utilisés, (dont la mise au point) qui déterminent par exemple la netteté de l'image,
3. les conditions d'éclairage, qui déterminent une partie de la variabilité des images traitées,
4. le bruit de la chaîne de transmission d'image.

Quelques exemples types d'informations qu'il est possible d'obtenir d'une image numérique :

- ♦ La luminance moyenne
- ♦ Le contraste moyen
- ♦ La couleur prédominante
- ♦ Le taux d'acuité moyen (précis ou flou)
- ♦ Le taux d'uniformité des couleurs
- ♦ La présence ou l'absence de certains objets
- ♦ Une photographie modifiée et traitée par ordinateur

III.5.Types de données manipulées

Le traiteur d'image dispose principalement d'images numériques, donc échantillonnées. Il dispose également de données intermédiaires de diverses natures : cartes de régions, listes de points connexes, tableaux de valeurs mesurées, etc. En ce qui concerne les images proprement dites, la représentation la plus utilisée est celle d'un tableau à 2 dimensions composé d'un ensemble de lignes et de colonnes. Chaque cellule du tableau, appelée pixel, contient une valeur quantifiée. Cette valeur est une sémantique dépendant du type de signal qu'elle code (intensité lumineuse du point, distance à un point de référence, ou numéro de la région d'appartenance

par exemple). Dans le cas des images 3D d'IRM, la représentation n'est plus un tableau à 2 dimensions mais un tableau à 3 dimensions.

III.6.Acquisition d'une image

L'acquisition d'images est une mesure spatiale d'une interaction entre une onde et de la matière. L'onde est émise par une source et reçue par un capteur. Par exemple dans le cas de l'échographie, l'ultrason, une onde acoustique est émise et reçue par la sonde. L'interaction est la réflexion de l'ultrason sur la structure du corps.

Dans le cas d'onde électromagnétique, la photographie utilise le spectre visible c'est-à-dire qui est visible pour l'œil humain. Il y a des applications sur l'ensemble du spectre électromagnétique, des rayons gamma jusqu'aux ondes radio. Ainsi, les images acquises par rayons X ou par rayons gamma sont surtout utilisées en imagerie médicale et en astronomie (**Gonzalez, woods 2008 introduction p.7-24**). En médecine, on utilise des imageurs IRM, TEP, scanner X, échographie Doppler, échographie, scintigraphie, Tomographie (**Gonzalez, woods 2008 introduction p.7-24**).

Les deux caractéristiques importantes de la mesure spatiale est la taille du plus petit élément (pixel), mais aussi l'inter corrélation de deux éléments voisins : plus cette inter corrélation est faible, meilleure est l'image.

III.7.Transformation de l'image numérique en image binaire

En fonction des formes recherchées (grains de telles tailles, zones de couleurs particulières), on va séparer les structures intéressantes des autres par l'opération de seuillage. Elle consiste à donner la valeur 1 aux structures qui vérifient les critères sélectionnés et 0 aux autres. On obtient donc une matrice binaire.

III.8.Traitement de l'image binaire

Les structures de cette image binaire peuvent être étudiées sous deux aspects : la morphométrie ou la stéréologie. La morphométrie est une analyse quantitative de l'image d'un objet ou d'une structure, elle définit des grandeurs mesurables. La stéréologie est un ensemble de méthodes mathématiques qui permet de passer d'une analyse bidimensionnelle sur coupe à une analyse tridimensionnelle.

III.9. Opérateurs de traitement d'images

Par analogie avec les opérateurs mathématiques, on appelle opérateurs de traitement d'images des traitements plus ou moins complexes prenant en entrée une image ou un ensemble d'informations relatif à une image, et produisant une image ou un ensemble d'informations relatif aux données initiales.

III.10. Filtres linéaires

Un filtre linéaire transforme un ensemble de données d'entrée en un ensemble de données de sortie selon une opération mathématique appelée convolution. Lorsqu'il s'agit de données numérisées comme dans le cas du traitement d'image, la relation entre les valeurs des pixels de sortie et celle des pixels d'entrée est décrite par un tableau de nombres, généralement carré, appelé matrice de convolution. Le temps de calcul est souvent réduit lorsqu'on veut séparer un filtre en deux filtres dont la convolution mutuelle permet de le reconstituer. Cette remarque est utilisée en particulier pour créer un filtre à deux dimensions à partir de deux filtres à une seule dimension (vecteurs) dans le sens horizontal et le sens vertical.

III.11. Détection de contours

Ces filtres transforment l'image d'entrée en une image noire sauf aux points où un contour est détecté qui est marqué en blanc. Les valeurs absolues importent peu, il est sans intérêt de changer d'échelle comme pour un lissage. La détection est basée sur la dérivation selon les deux coordonnées. Si on considère classiquement les signaux comme des sommes de sinusoïdes, la dérivation apparaît comme un filtre passe-haut qui introduit donc du bruit à l'origine de faux contours. Pour l'amateur il est recommandé, avant d'utiliser un filtre simple, d'atténuer ce bruit par passage dans un filtre flou. Des méthodes plus élaborées ont été systématisées pour les professionnels.

Filtre dérivées premières : Le filtre le plus simple consiste à calculer les différences entre pixels voisins sur les horizontales puis sur les verticales. Chaque extremum correspond à un point d'un contour.

Filtre de Prewitt: le filtre de Prewitt introduit un flou, chacune des deux matrices étant le produit du filtre dérivation dans la direction considérée par un filtre de flou rectangulaire selon l'autre direction.

Filtre de Sobel: la technique précédente est améliorée en remplaçant le filtre rectangulaire par un filtre triangulaire.

Filtre de Canny: c'est un filtre de Sobel précédé par un lissage gaussien et suivi par un seuillage. Ce filtre est conçu pour être optimal, au sens de trois critères.

Filtre de Deriche: variante du filtre de Canny tout aussi efficace.

Filtre dérivées secondes: celles-ci se calculent simplement en différences finies et c'est maintenant un changement de signe qui correspond à un point d'un contour. On les utilise généralement à travers leur somme qui est le Laplace.

Filtre de Marr-Hildreth: le calcul du laplacien est précédé par un lissage gaussien avec deux variances ajustables pour filtrer les hautes fréquences.

III.12. Opérateurs morphologiques

La morphologie mathématique offre des opérateurs non linéaires particulièrement utiles pour filtrer, segmenter et quantifier des images. Initialement destinée au traitement des images binaires, elle a très vite été généralisée aux images à niveaux de gris, puis aux images en couleurs et multi-spectrales.

La nature des opérateurs morphologiques fait qu'ils se prêtent bien au développement de circuits électroniques spécialisés (ou bien à l'utilisation de FPGA) dans les opérateurs morphologiques.

III.13. Reconnaissance d'objets

La reconnaissance d'objets est une branche de la vision artificielle et un des piliers de la vision industrielle. Elle consiste à identifier des formes pré-décrites dans une image numérique, et par extension dans un flux vidéo numérique.

Il ne faut pas confondre reconnaissance d'objets (en anglais : « object recognition » ou « shape recognition ») et reconnaissance de formes (« pattern recognition » en anglais). La première s'attache à reconnaître des formes géométriques dans une image, alors que la seconde cherche à identifier des motifs dans des données statistiques. La confusion vient du fait qu'on utilise souvent la reconnaissance de formes comme technique appliquée à la reconnaissance d'objets.

Tout d'abord objet d'algorithmes dirigés par l'homme, jusqu'en 1995 (tentatives de reproduire par un algorithme un raisonnement humain d'identification, comme par exemple dans « un vélo possède deux roues, un cadre ... »), la reconnaissance d'objets a fait l'objet de progrès importants par la suite au travers de la mise en œuvre de techniques d'apprentissage, comme par exemple les séparateurs à vaste marge. Ces techniques visent à faire exploiter des bases d'exemples positifs et négatifs (contre-exemples) par un algorithme de recherche de critères discriminants, c'est-à-dire de critères permettant de séparer au mieux les exemples des contre-exemples.

III.14. Quelques exemples concrets de traitement d'images

Contrôle de présence/absence. Sur des chaînes de production, on vérifie en bout de chaîne avec une caméra vidéo la présence d'une pièce dans un ensemble plus complexe. Pour cela bien souvent il suffit de faire un simple seuillage dans une région spécifique.

Contrôle du niveau de maturation des fruits sur une chaîne de conditionnement. Il s'agit de reconnaître à la couleur et à la texture du fruit son degré de maturité et donc la catégorie sous laquelle il sera emballé puis vendu.

Construction et correction de cartes géographiques d'après des images satellites ou des images aériennes. On recalcule d'après des informations topographiques les images reçues, puis on les met sur la carte en correspondance avec les informations trouvées dans l'image : voies de communication, voies et plans d'eau, parcelles agricoles...

Surveillance et évaluation de la production agricole. Il est possible de déterminer le degré de maturation des cultures, la quantité d'eau nécessaire pour l'irrigation, leur rendement moyen etc. On peut ainsi établir des prévisions à large échelle de la récolte à venir.

Reconnaissance de l'écriture. La reconnaissance de l'écriture manuscrite progresse de jour en jour. Elle est suffisamment opérationnelle pour que la majorité des adresses, même manuscrites, soient reconnues automatiquement sur le courrier postal.

Recherche d'image par le contenu. L'objectif de cette technique est de rechercher, parmi une base de données d'images, les images similaires à une image exemple, ou ayant certaines caractéristiques, par exemple rechercher toutes les images comportant un vélo.

Analyse de la vidéo. L'objectif de cette technique devenue une discipline depuis les années 2000 lorsque la puissance des processeurs peu onéreux et en particulier des PC a permis des traitements puissants en temps réel est d'interpréter les faits observés à l'image afin de signaler ou d'enregistrer des faits marquants. Le plus souvent, la caméra est fixe et observe les mouvements d'une scène. Les applications sont nombreuses : protection des biens (détection d'intrusion, détection d'objet abandonné ou déposé), identification (biométrie faciale), sécurité des personnes (détection de chutes de personnes, franchissement de rambardes,...), animations (planchers animés selon les mouvements des danseurs), détection de feux (industriel, forêts, tunnels,...), surveillance de tunnels (comptage, mesure de vitesse, détection de fuites/anomalies dans les plafonds), surveillance de tuyaux et autres process industriels.

Segmentation et suivi de cellules vivantes en microscopie. Cela permet d'analyser le comportement d'une population de cellules et ainsi de détecter certaines anomalies.

Analyse et authentification de tableaux. L'étude des niveaux des couleurs des pigments et des vernis permet une analyse approfondie des œuvres. Il est ainsi possible de voir les restaurations successives et d'identifier les faux.

III.15. Termes spécifiques

Calibration : opération consistant à trouver la relation entre les coordonnées dans l'image et les coordonnées dans l'espace de la scène.

Filtre : autre nom d'un opérateur prenant une image en entrée et produisant une image.

Pixel : contraction de « Pictureélément », plus petit élément d'une image numérique 2D.

Recalage : technique consistant à trouver une transformation géométrique permettant de passer d'une image (dite source) à une autre image (dite cible).

Segmentation : opération qui consiste à extraire d'une image des primitives géométriques. Les primitives les plus employées sont les segments (contours) ou les surfaces (régions).

Squelettisation : permet d'obtenir le squelette d'une forme (objet de dimension inférieure que l'objet initial et qui préserve des informations topologiques ou géométriques par rapport à l'objet).

Voxel : déformation de pixel (« volumic pixel ») pour les images 3D.

Zone d'intérêt : dans la mise au point d'un système de traitement d'images, il n'est que rarement intéressant d'appliquer un opérateur de traitement d'images à la totalité de l'image. Le plus souvent seule une partie de l'image doit être traitée. Cette zone est nommée « zone d'intérêt ».

Informations tirées de Wikipédia

III.16. Logiciels pour traitement d'image

- ✓ ICY
- ✓ Cell Profiler
- ✓ IMAGE J
- ✓ Mountains Map

Les exemples fournis dans cette étude seront sur Image j

III.16.1. Image j



Figure.III.01.Logo d'imagej

ImageJ est un logiciel multiplate-forme et open source de traitement et d'analyse d'images développé par les National Institutes of Health. Il est écrit en Java et permet l'ajout de nouvelles fonctionnalités via des plugins et macros.

ImageJ est exécuté comme un applet téléchargeable sur n'importe quel ordinateur disposant d'une machine virtuelle Java 5 ou ultérieure. Des distributions pour Microsoft Windows, Mac OS, Mac OS X, Linux, et Zaurus sont disponibles en téléchargement (**page de téléchargement officielle**).

Le développeur du projet, Wayne Rasband, fait partie du Research Services Branch du National Institute of Mental Health.

III.16.2.Fonctionnalités

ImageJ se présente sous la forme d'une fenêtre principale flottante qui ouvre des fenêtres de données, elles aussi flottantes. La fenêtre principale contient les menus et les boutons des outils disponibles (sélection rectangulaire, ovale, main libre, etc.).

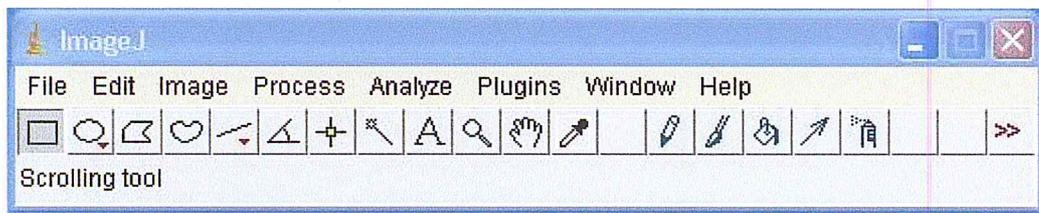


Figure.III.02.Fenêtre principale d'ImageJ.

La plupart des opérations courantes de traitement d'images sont réalisables avec ImageJ, visualisation et ajustement de l'histogramme des niveaux de gris, débruitage, correction d'éclairage, détection de contours, transformation de Fourier directe et inverse, seuillage, opérations logiques et arithmétiques entre images, et d'une manière générale, tout type de transformation linéaire par définition personnalisée de masques. Des traitements issus de la morphologie mathématique sont aussi disponibles : érosion/dilatation, ligne de partage des eaux, squelettisation, ...etc. En analyse d'image, ImageJ permet de dénombrer des particules, d'évaluer leurs ratios d'aspect, de mesurer diverses grandeurs (distances, surfaces), d'extraire des coordonnées de contours...

III.16.3.Applications

ImageJ a été initialement développé pour des applications biomédicales. Il permet par exemple de faire des analyses de gels d'électrophorèse, ou de la détection et analyse de tumeurs. Son usage s'est depuis étendu à d'autres domaines, comme la science des matériaux (détermination de tailles de grains, traitement d'images obtenues par micro tomographie X par exemple).

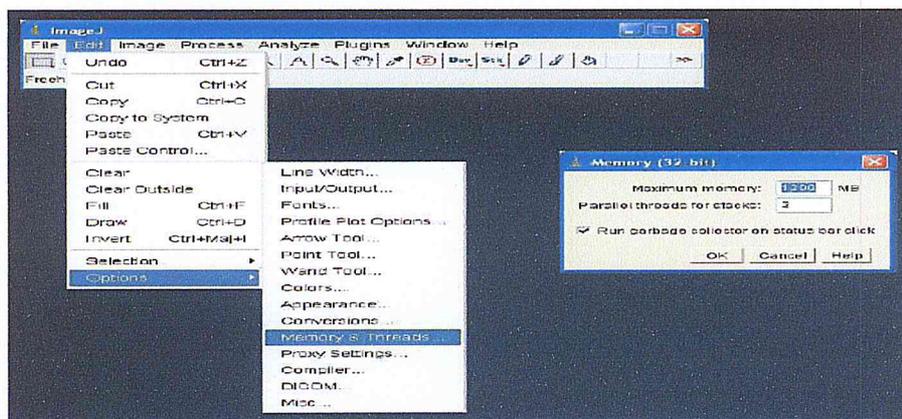
III.16.4.Caractéristiques

ImageJ peut visualiser, éditer, traiter, et analyser les images ou des piles d'images (stack) en 8-bits, 16-bits, 32-bits et les images couleur. ImageJ est capable d'ouvrir et sauver des images

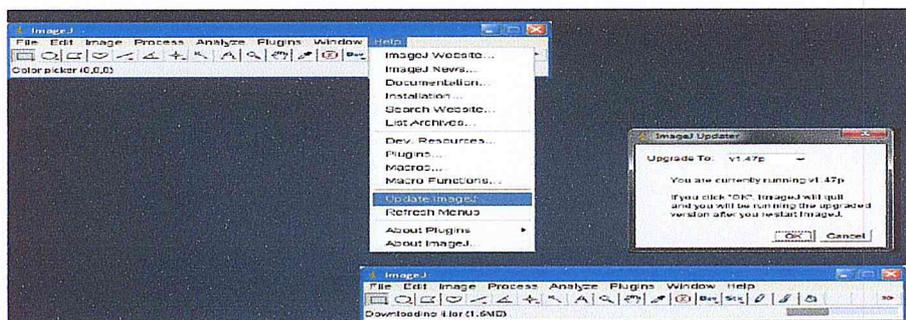
dans de nombreux formats, notamment en TIFF, PNG, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS, mais aussi des images en format brut (raw).

ImageJ est un logiciel libre : le code source est en accès libre et peut être modifié. C'est un logiciel multi- plateformes, en raison de son fonctionnement sur une machine virtuelle Java. Ses fonctions sont extensibles; de nombreux plug-ins existent, qui abordent des domaines jusque-là réservés aux logiciels commerciaux comme Aphelion : manipulation et visualisation d'images tridimensionnelles, filtrages médians et morphologiques 3D, contours actifs (snakes), filtres diffusifs, ...etc. Par ailleurs, il est possible de combiner les fonctions natives ou ajoutées en créant des macros - la maîtrise de Java n'est pas alors nécessaire. La diversité des plug-ins disponibles - plus d'une centaine - en fait son avantage principal, mais peut dérouter les néophytes : il est parfois difficile de trouver rapidement une fonction correspondant à un besoin précis (**site officielle et documentations et documentation plugins**)

III.17. Configuration du logiciel



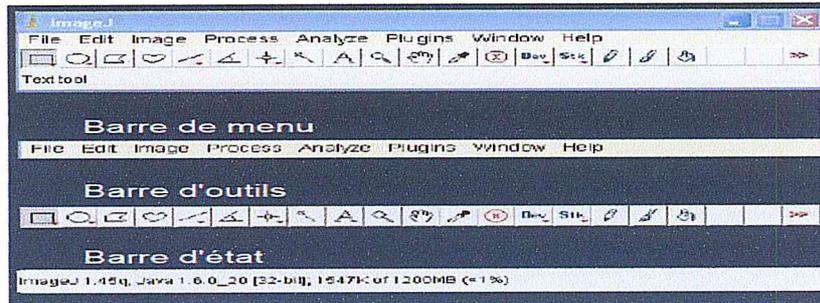
Edit → Option → Memory &Treads...



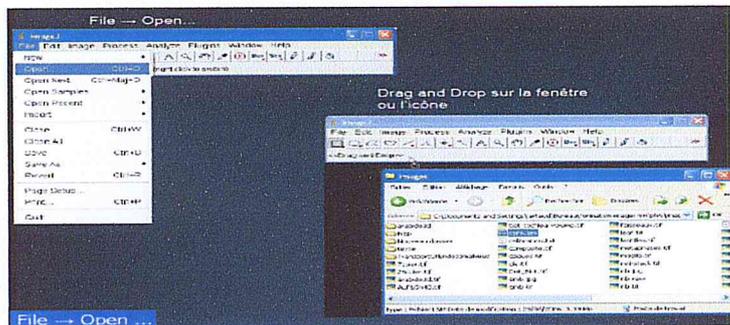
Help → Update ImageJ...

III.17.1. Les opérations de base sur ImageJ

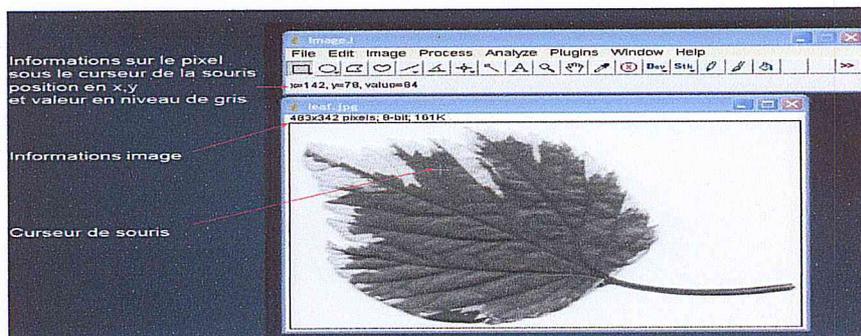
a) Interface



b) Ouvrir une image



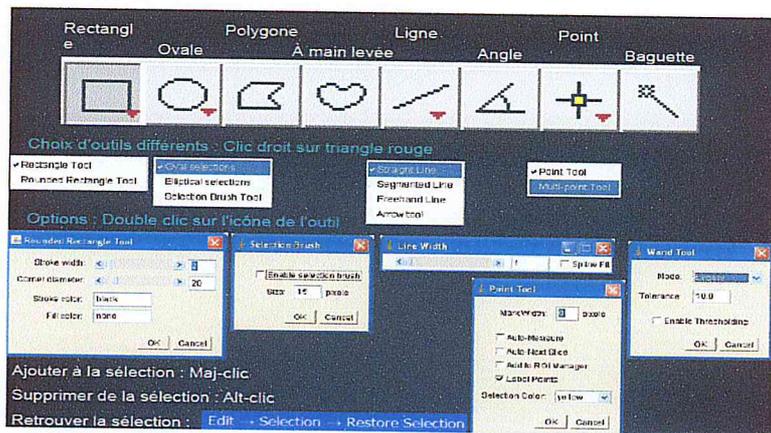
c) Informations pixel



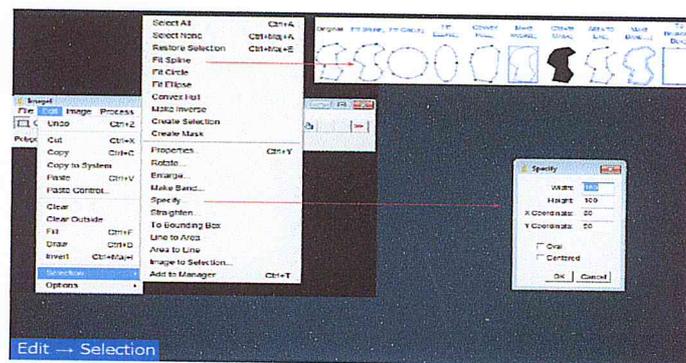
d) Zoom



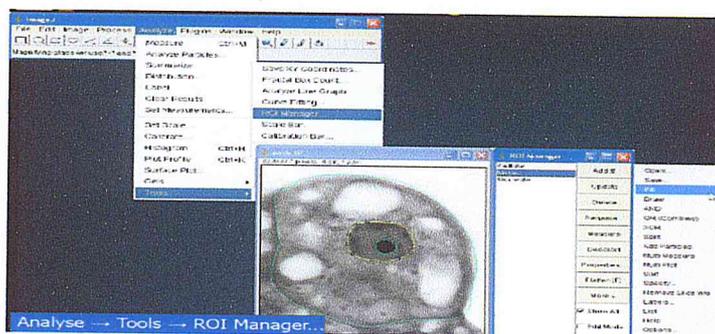
e) Outils de sélection (ROI)



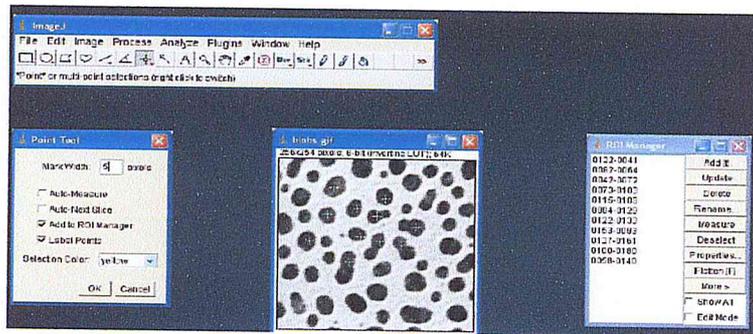
f) Menus de sélection



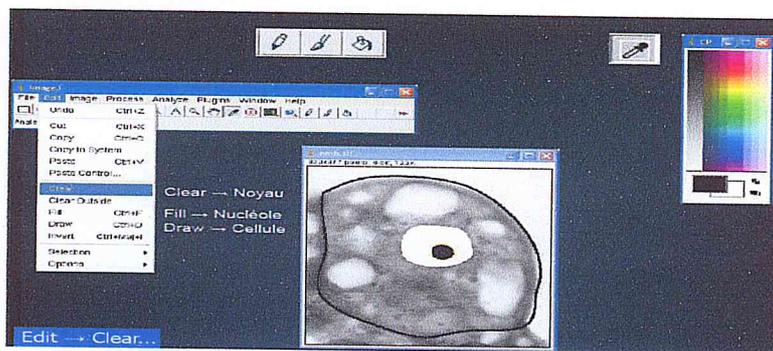
g) ROI Manager



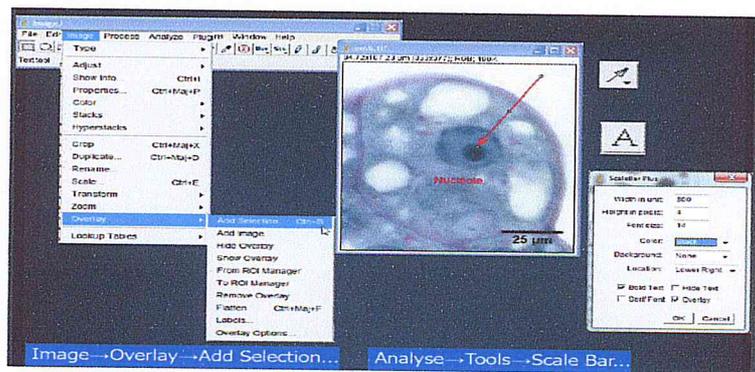
h) Outil Point pour le comptage



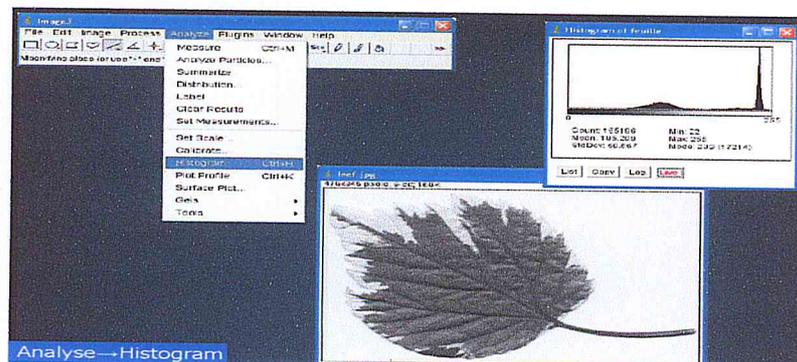
i) Dessin



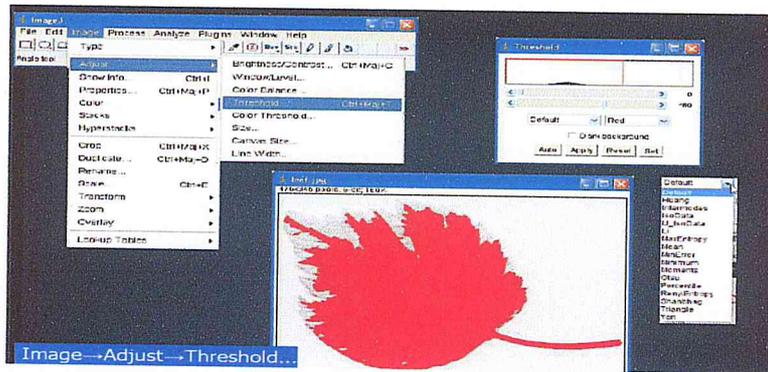
j) Annotations



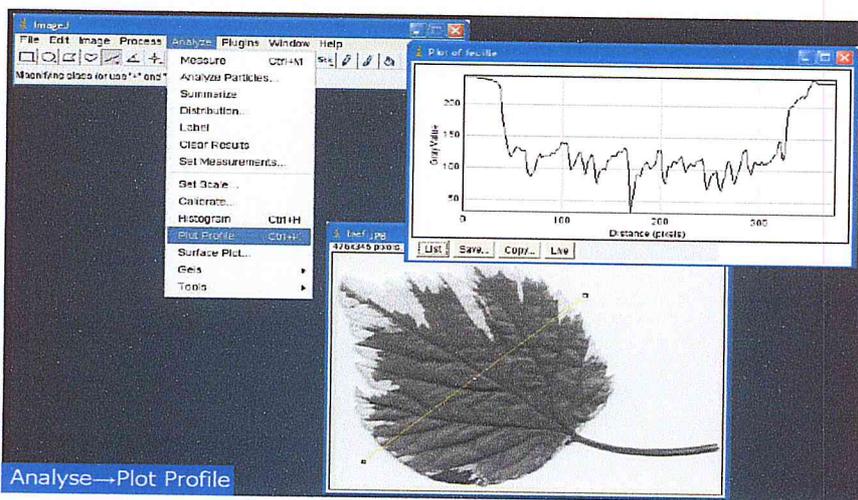
k) Histogramme



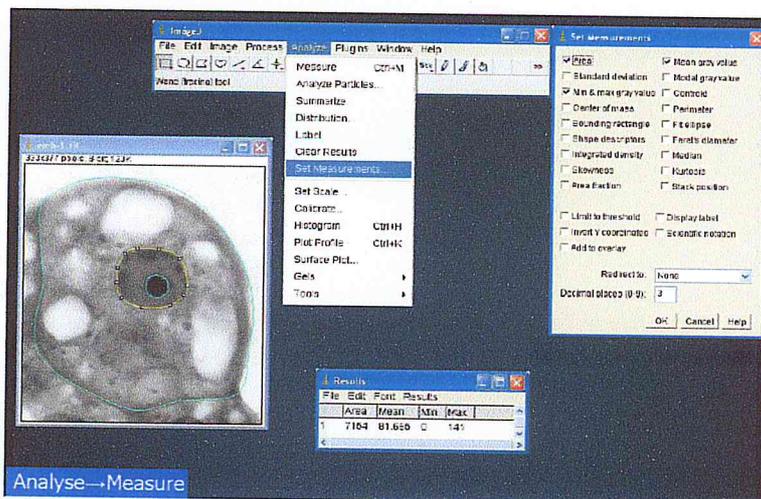
L) Seuillage



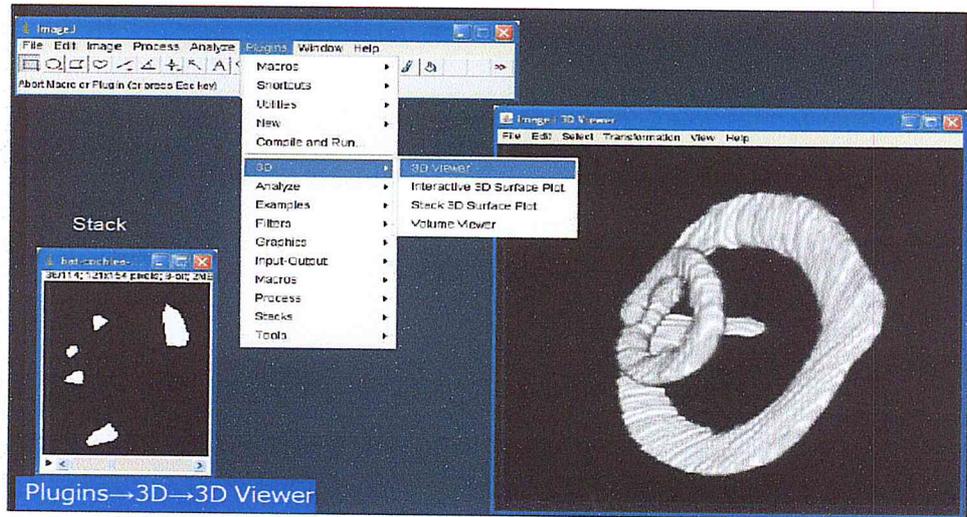
m) Plot Profile



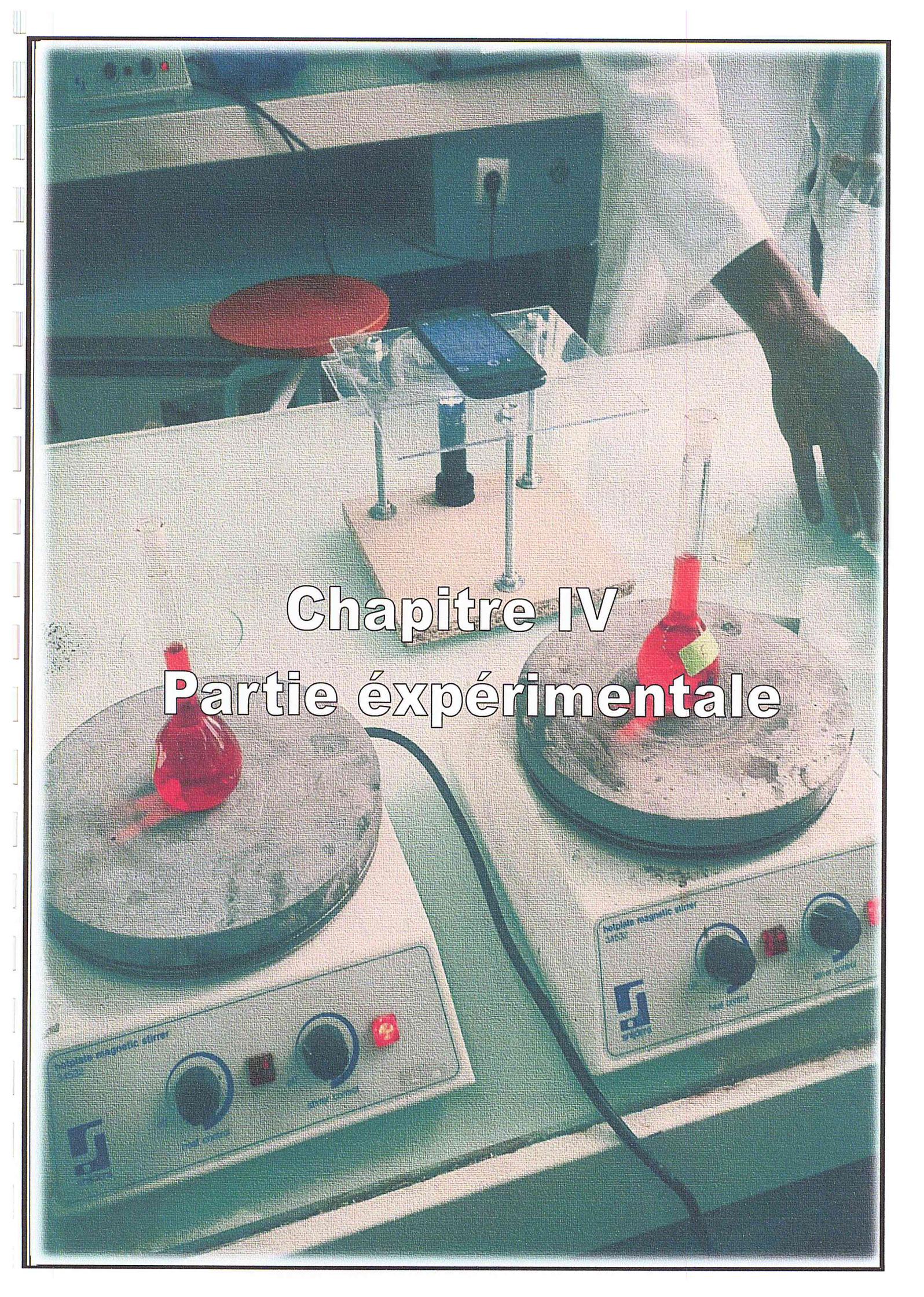
n) Mesures de sélection



o) Mesures d'objets



(MRI, VOLKR BEAKER-MARK LARTAUD)



Chapitre IV
Partie expérimentale

IV.1.Introduction

La conservation des substances de valeur (telle que les principes actifs, les arômes, les huiles essentielles) souvent sensibles à la chaleur et à la lumière est primordiale afin d'éviter la désintégration de ces dernières qui va sûrement conduire à une perte économique et même affecter la qualité des produits destinés aux consommateurs vu que l'industrie dépend beaucoup de ces substances, donc pouvoir protéger ces molécules sensibles est un défi qui a poussé les chercheurs en ce domaine à innover une méthode qui s'appelle la micro-encapsulation. Cette dernière a apporté beaucoup, presque dans tous les domaines (médecine ; agroalimentaire ; textiles ; cosmétique ; papeteries). On entend ce mot maintenant partout là où on va, à travers la micro-encapsulation on peut même guider un principe actif dans le corps humain de telle sorte que ce dernier sera libéré là où on veut quand on veut, il faut juste maîtriser les techniques d'encapsulation et avoir aussi des informations sur les milieux de libération et même sur la matière par laquelle on encapsule nos substances, tout cela donne à ces dernières de nouvelles caractéristiques physico-chimiques. Notre travail n'était pas de maîtriser la micro-encapsulation, c'est vrai qu'on est arrivé à produire des capsules de différentes tailles et formes, vides et pleines (l'élément encapsulé était le rouge de cochenille plus précisément le ponceau 4R). Mais était de pouvoir utiliser l'outil informatique, on parle bien sûr du traitement et analyse d'image que ça soit dans le côté caractérisation ou bien le suivi du gonflement des capsules, et par suite suivre le profil de libération du colorant. Il est facile de se procurer un logiciel souvent licence ouverte. On a choisi imagej à cause de ses qualités, développé par l'institut nationale de santé en USA ce logiciel est en domaine public java, il propose beaucoup de commande et offre plusieurs opérations, sa manipulation est trop facile, on peut même télécharger un guide d'utilisateur et même pouvoir discuter avec des utilisateurs dans des forums conçu que pour imagej, nos résultats obtenus seront discutés dans cette partie.

IV.2.Matériels et réactifs utilisés

IV.2.1. Matériels

- Spectrophotomètre UV visible (Pharmacia BiotechNovaspectre II)
- Spectrophotomètre infrarouge à transformé de fourrier (Jasco FT/IR-4100)
- Plaque chauffante et agitateur magnétique (Snijders 34532)
- Microscope optique (Motic^R)
- pHmètre (OHAUS STARTER 2C)
- Papier pH
- Papier filtre (micron et macro)
- Béchers

- Pipettes (1-10-15ml)
- Eprouvettes
- Erlen Meyer
- Entonnoirs
- Seringues à aiguilles 21G et 15G
- Nébuliseur
- Balance analytique (ACCULAB, sartoriusvicon)
- fioles jaugées
- Spatules
- Balance (Balance AnalytiqueEXPLOREROhaus^R)
- Microscope électronique à balayage (FEI Quanta 650)

IV.2.2.Produits utilisés

- Alginate de sodium d'algues brunes (FlukaBioChemika 71240)
- Chlorures de calcium $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Panreac 131232.1211)
- Rouge de cochenille A (ponceau4R)

IV.2.2.1.Propriétés physico-chimiques d'alginate de sodium (TerkmaneNai-la 2005) et du ponceau4R (Megha international) Tableau.IV.01.

paramètres	Alginate de sodium	Ponceau 4R
Formule chimique brute	$\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_4\text{COONa}$	$\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{10}\text{S}_3$
Solubilité	soluble	soluble
Point de fusion	/	/
Teneur en eau	15%	114gms/ litre
Résidu à la calcination	20-24%	/
Chlorures	/	18
Sulfates	/	18
Métaux lourds	/	40 ppm
Substances insolubles	0.6%	0.2%

IV.3. Préparation des macros capsules vides et pleines

la préparation des capsules se fait en premier par la dissolution de l'alginate de sodium dans l'eau distillée à une proportion de 2%, dans une température ambiante et sous agitation (pour s'assurer que l'alginate de sodium soit totalement dissoute, il faut attendre a peu près une heure) cette solution est ensuite mise dans des seringues (bien sur le choix des tailles des seringues est important, c'est ce qui détermine le volume des capsules) l'extrusion des gouttes à travers les seringues leur donne une forme plus ou moins sphérique, on laisse ces gouttelettes tomber directement dans une solution de chlorure de calcium qui leur donnent par suite la rigidité souhaitée (le temps et la température de réticulation n'ont pas une grande importance sur l'aspect des capsules. Une température ambiante et 30 minutes sont suffisantes pour obtenir de bonnes capsules), pour encapsuler le colorant ce dernier peut être ajouté directement dans la solution d'alginate de sodium, la quantité ajoutée était de 0.05 gramme dans une solution de 50 millilitres d'eau avec 1 gramme d'alginate de sodium.

IV.3.1. Préparation des microcapsules

Même démarche comme pour les macros sauf qu'on utilise dans ce cas un nébuliseur à la place des seringues (Il faut faire attention à la quantité nébulisée car les microcapsules se colent les unes aux autres et froment un film .Nébuliser qu'une seule fois est très recommandé.

IV.3.2 Schématisation des deux procédés (micro et macro-encapsulation)

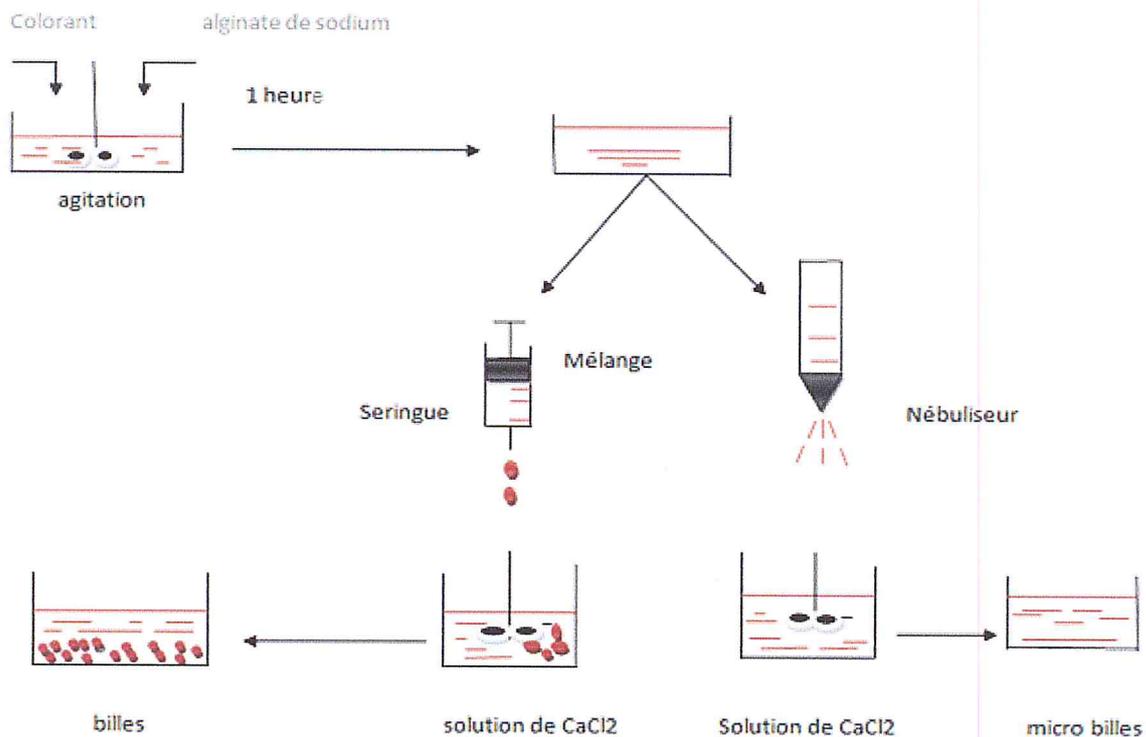
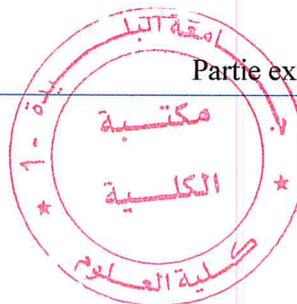


Figure.IV.1.Schématisation des deux procédés d'encapsulation (micro et macro).



IV.3.3. Préparation des films

La solution d'alginate de sodium est directement coulée dans des boîtes à pétries. Les proportions d'alginate de sodium dans la solution d'eau distillée sont ; 2% et 1%, on peut ajouter un colorant à la solution pour obtenir un film coloré.

IV.4. Conception de l'outil d'agrandissement pour la prise d'images et de vidéos

Le but de ce montage est de permettre une prise d'images ou de vidéos de façon nette et sans problèmes, l'agrandissement se fait par une lentille d'un laser de poche simple ; la camera est placée directement sur la lentille ; notre montage est très simple.

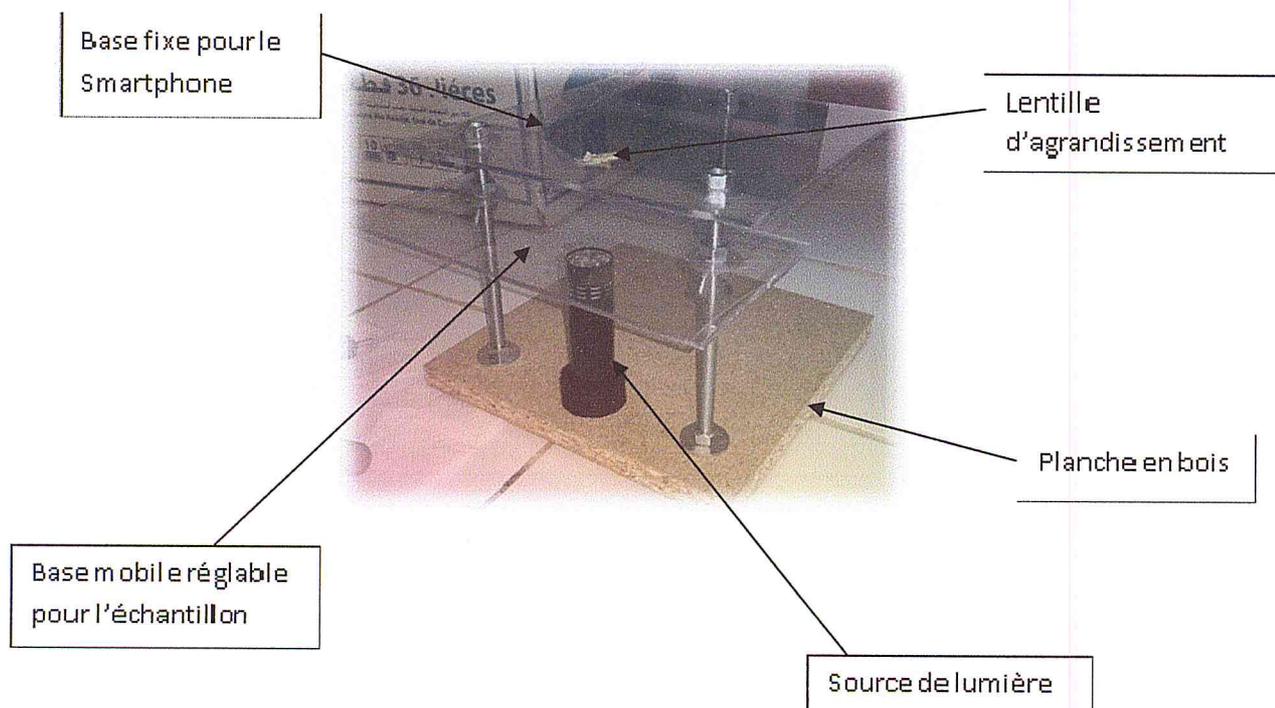


Figure.IV.2. Description de l'outil d'agrandissement.

(Instructables.com, by yoshinok 2015)

IV.5. Caractérisation des micros et macro capsules

Afin de déterminer les différents paramètres concernant la forme et la taille des capsules ; nous avons utilisé le logiciel imagej, les différentes étapes et opérations sont mentionnées par suite avec une série d'images explicatives. Une fois l'image prise ; on l'ouvre avec imagej et c'est ici que le traitement d'image (si nécessaire) commence pour éliminer toutes parties indésirables

ou bien modifier certains paramètres dans l'image (contraste ,taille, couleurs, luminosité...etc.) qui peuvent affecter le résultat final ; une fois que l'image soit prête à être analysée. On peut choisir une analyse manuelle, ou bien une analyse automatique et cela bien sûr est dû à plusieurs facteurs. Il est important de signaler qu'on a utilisé une échelle en papier millimétré intégré dans la lame à échantillon.

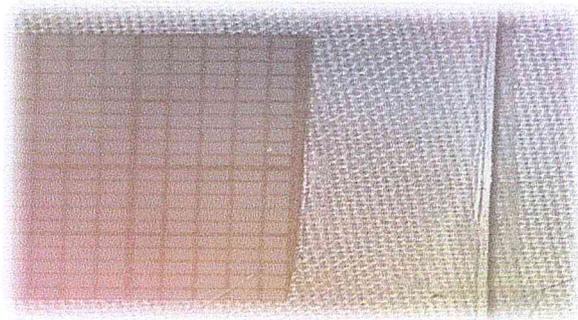


Figure.IV.3. L'échelle prise pour le calcul.

IV.5.1. Techniques de caractérisations sur imagej

IV.5.1.1. Macro capsules

utiliser les outils **File<Open** pour ouvrir notre image; après utiliser la ligne droite pour mesurer la longueur en pixel afin de la transformer en millimètre, et cela se fait par **Analyse<Set Scale**.

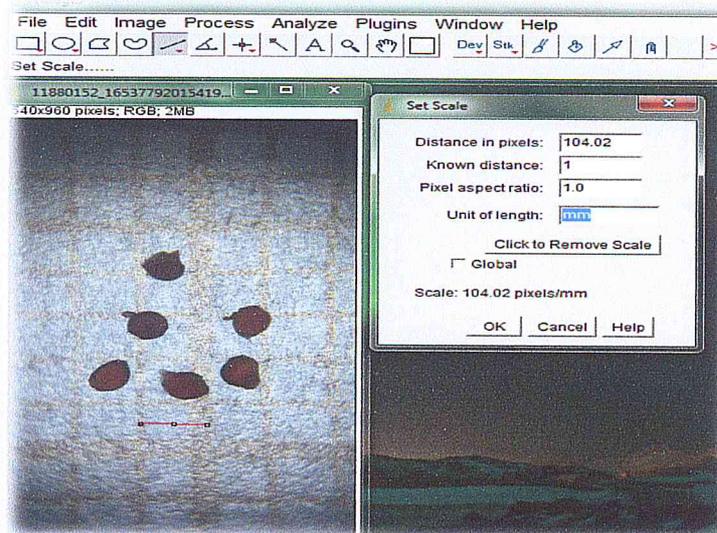


Figure.IV.4. Démonstration sur <<Comment établir l'échelle>>.

On utilise l'outil rectangle pour sélectionner une surface d'analyse convenable, on obtient une nouvelle image qui sera prête à être binarisée **Image<Crop**.

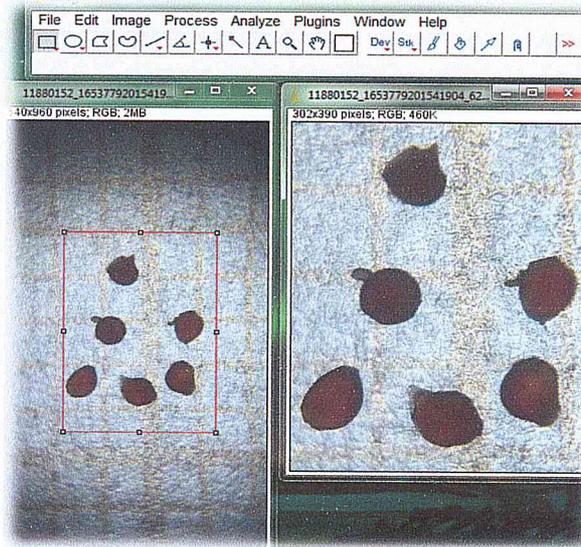


Figure.IV.5.Démonstration de l'opération « crop ».

L'opération **Process<Binary<MakeBinary** nous conduit à l'image binaire cette dernière subira quelques retouches si nécessaire les opérations sont dans **Process**, pour lancer l'analyse il faut choisir les capsules à analyser dans l'image et cela se fait par la WandTool une fois que les capsules sont sélectionnées on va à **Analyze<Mesure**, un tableau apparaîtra avec les différents paramètres cochés au paravent dans **Analyze<SetMeasurements**, cette opération se refait pour arriver au nombre de particules souhaité, on est parvenu à compter 203 particules l'histogramme des différents paramètres est obtenu grâce à la fonction **Results<Distribution** dans le tableau de résultats, une boîte de dialogue apparaît pour choisir le paramètre à analyser.

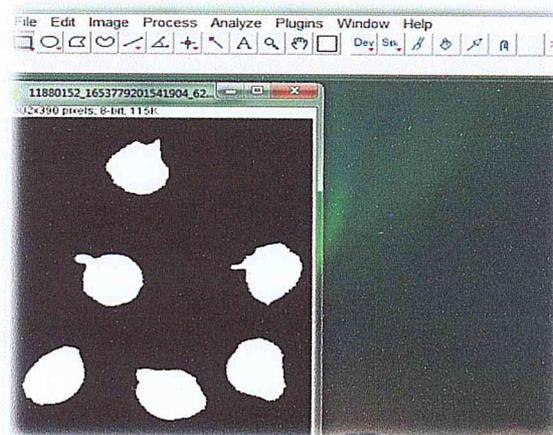


Figure.IV.6.Image binaire de macro capsules.

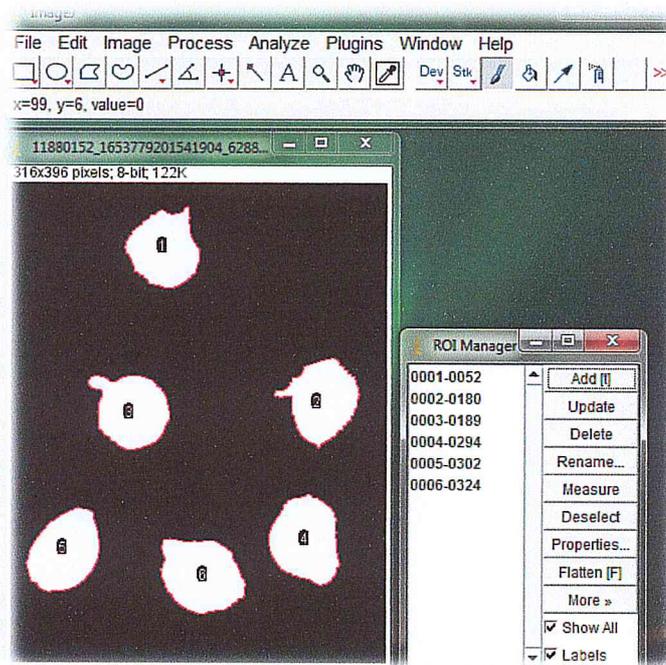


Figure.IV.7.Macrocapsules libellées dans le « Roi Manager ».

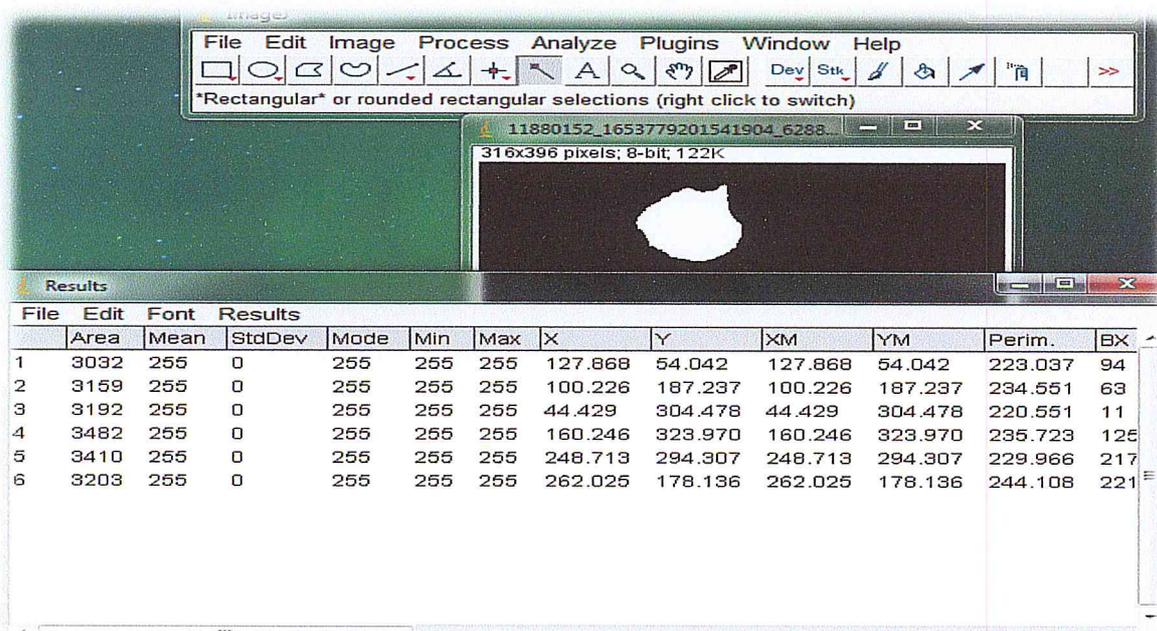


Figure.IV.8.Affichage des résultats sur imagej des capsules libellées.

IV.5.1.2. Micro capsules

On les traite comme les macros sauf qu'on lance une analyse automatique (**Analyse particls**)

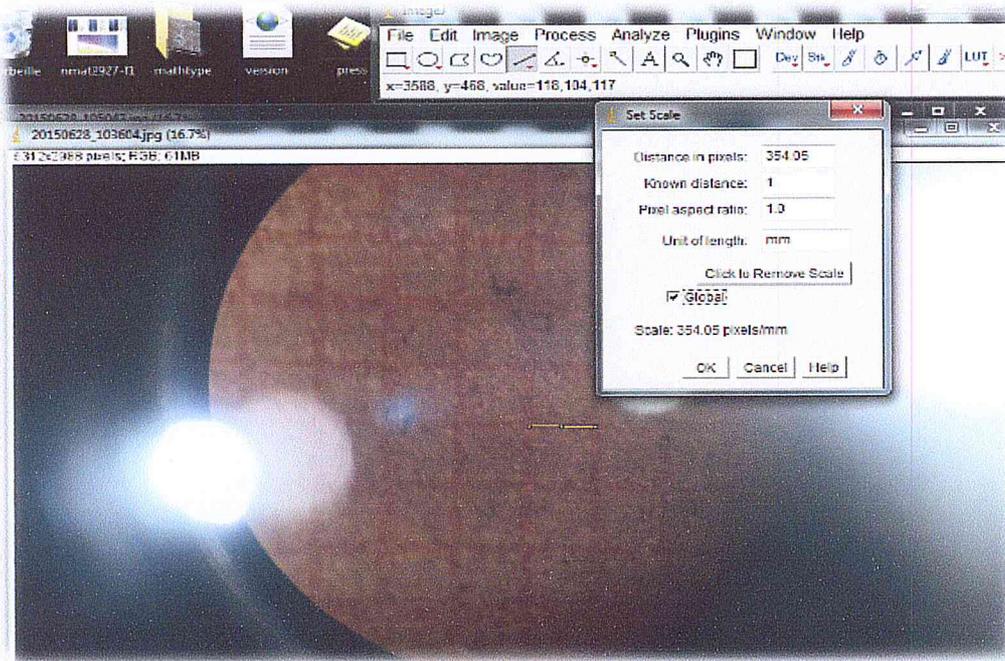


Figure.IV.9. Démonstration sur Comment établir l'échelle.



Figure.IV.10. Démonstration de l'opération « crop ».

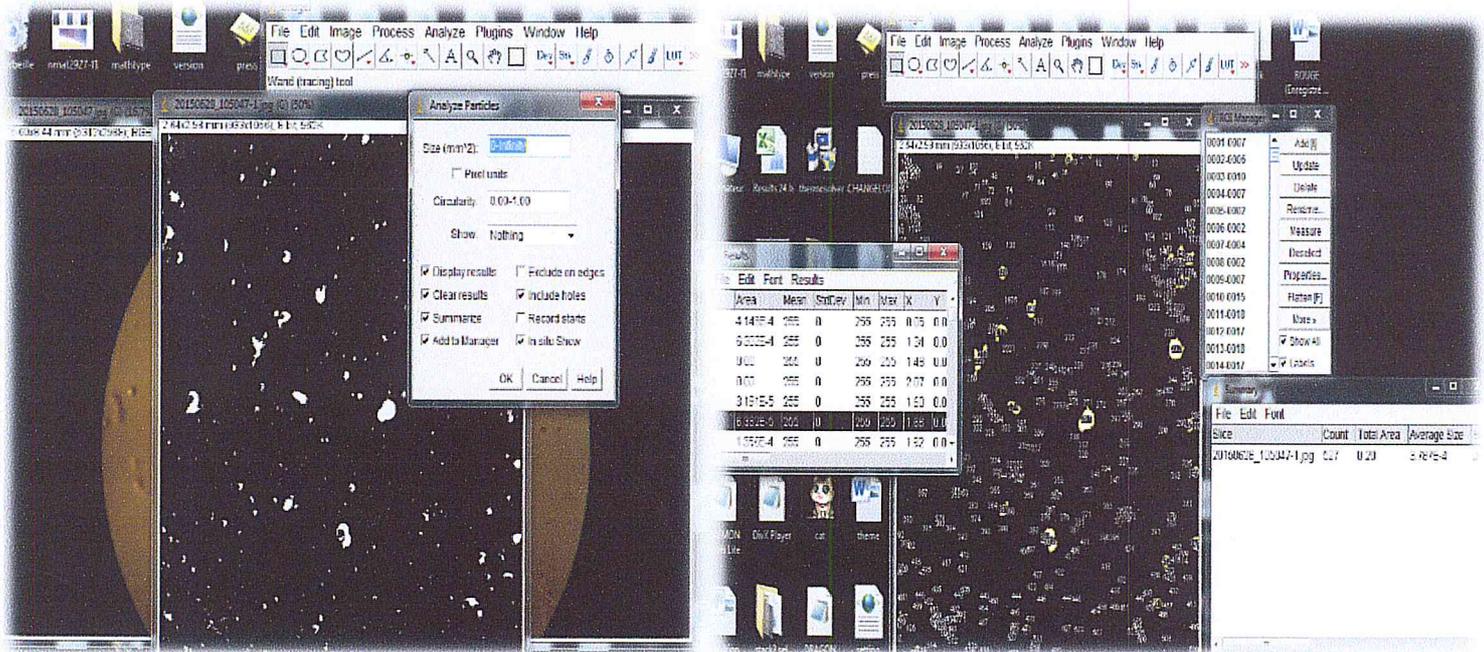
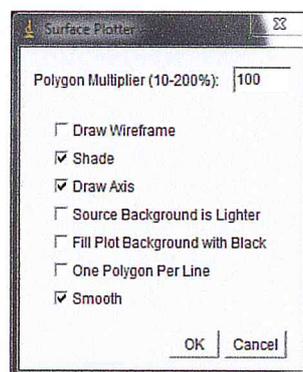


Figure.IV.11. Image binaire de microcapsules et les résultats des mesures.

IV.5.1.3. L'opération plot surface

L'opération Plot Surface nous offre une très bonne vision de la surface des capsules, elle est effectuée par les commandes suivantes :

En premier lieu, il faut ouvrir la photo, ensuite la rendre binaire après effectuer cette commande (**Analyse > Surface Plot**) il faut juste cocher les paramètres souhaités pour aboutir à un graphe significatif.



Figures.IV.12. Options d'affichage des « surfaces plot ».

IV.6. Etude du gonflement des capsules pleines et suivi du phénomène de libération du colorant dans les milieux eau distillé et eau physiologique par analyse d'image

Les capsules ont été choisies aléatoirement, deux tests ont été effectués pour chaque milieu (la capsule est mise sur la lame et l'ajout du milieu se fait par une seringue).

Le suivi des capsules lors du gonflement nous donne une idée sur le changement de forme et la façon par laquelle notre colorant est libéré, en parallèle le suivi de libération en fonction du temps nous informe sur la concentration et la vitesse par laquelle le colorant est libéré. On peut alors trouver le lien entre le gonflement et la libération.

IV.7. Etude de la libération du colorant par spectrophotométrie UV/visible

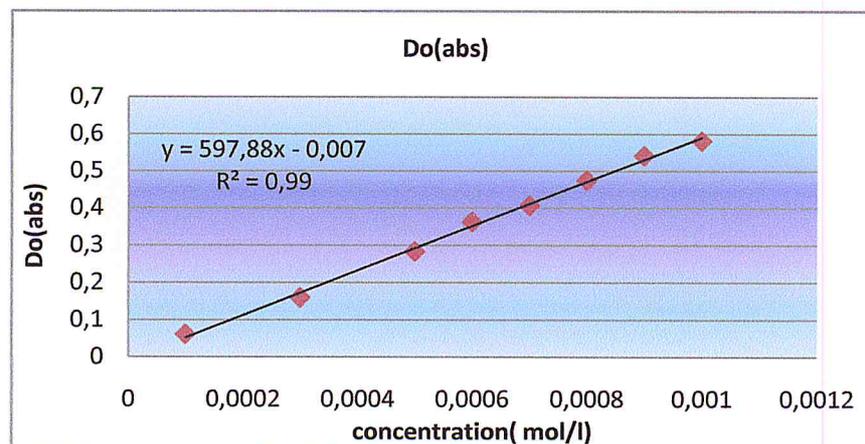


Figure.IV.13. Spectrophotomètre UV/visible.

Courbe d'étalonnage : pour cela nous avons préparé huit solutions filles

Conc (mol/l)	0,0001	0,0003	0,0005	0,0006	0,0007	0,0008	0,0009	0,001
Absorbance	0,062	0,16	0,283	0,363	0,407	0,475	0,542	0,582

$$R^2=0.99$$



Figures.IV.14. Droite d'étalonnage.

Pour étudier la libération du colorant dans les deux milieux (eau physiologique et eau distillée) en fonction du temps, un volume de huit millilitres pour chaque milieu est versé dans deux creusés (chacun contenant un milieu), on a pesé trois milligrammes de capsules, pour chaque dosage, on a prélevé quatre millilitres pour des intervalles de temps prédéfinis.

L'équation (1) nous permet de calculer la concentration libérée en fonction de l'absorbance

$$C = 0,0017A + 1E-05 \dots\dots\dots(1)$$

C : concentration mol/l, A : absorbance



Figure.IV.15.Montage pour les tests de libération.

IV.8. Calcul des rapports des intensités de couleur (rouge) avant et après l'ajout du milieu (pour les deux milieux)

Pour pouvoir calculer les intensités il faut faire un montage des deux images de la capsule avant et après l'ajout du milieu (voir manuel imagej) après il faut séparer l'image en trois chaînes rouge, verte, bleue. On sélectionne la zone d'intérêt, L'histogramme sera sur la chaîne rouge parce que notre colorant est rouge, les commandes sur le logiciel sont comme suite :

File < open (on choisit le montage) après **image < color < channel stools** on choisit **Color** à la place de composite **Analyse < histogram** on observe après un histogramme qui nous donne les intensités de couleur rouge dans la zone sélectionnée, bien sûr on prend la moyenne.

IV.9.Photos des films préparés

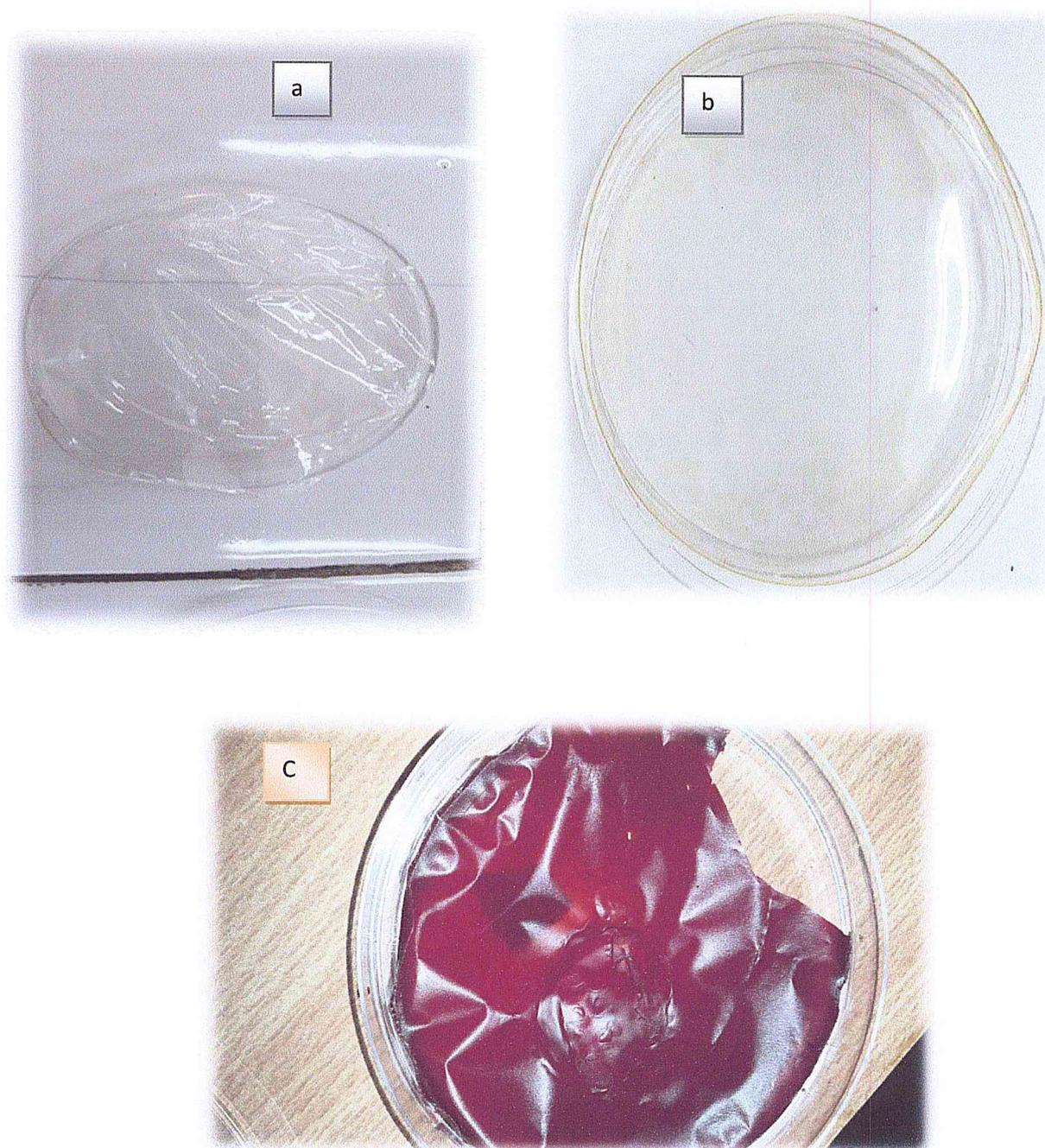


Figure.IV.16.Les trois membranes préparées à partir de différentes solutions d'alginate de sodium a)-membrane diluée, b)-membrane concentrée, c)-membrane colorée.

IV.9.1. Analyse spectrophotométrie infrarouge du film produit à partir d'une solution d'alginate de sodium à 1%



Figure.IV.17.Spectrophotomètre FT/IR à transformée de fourier.

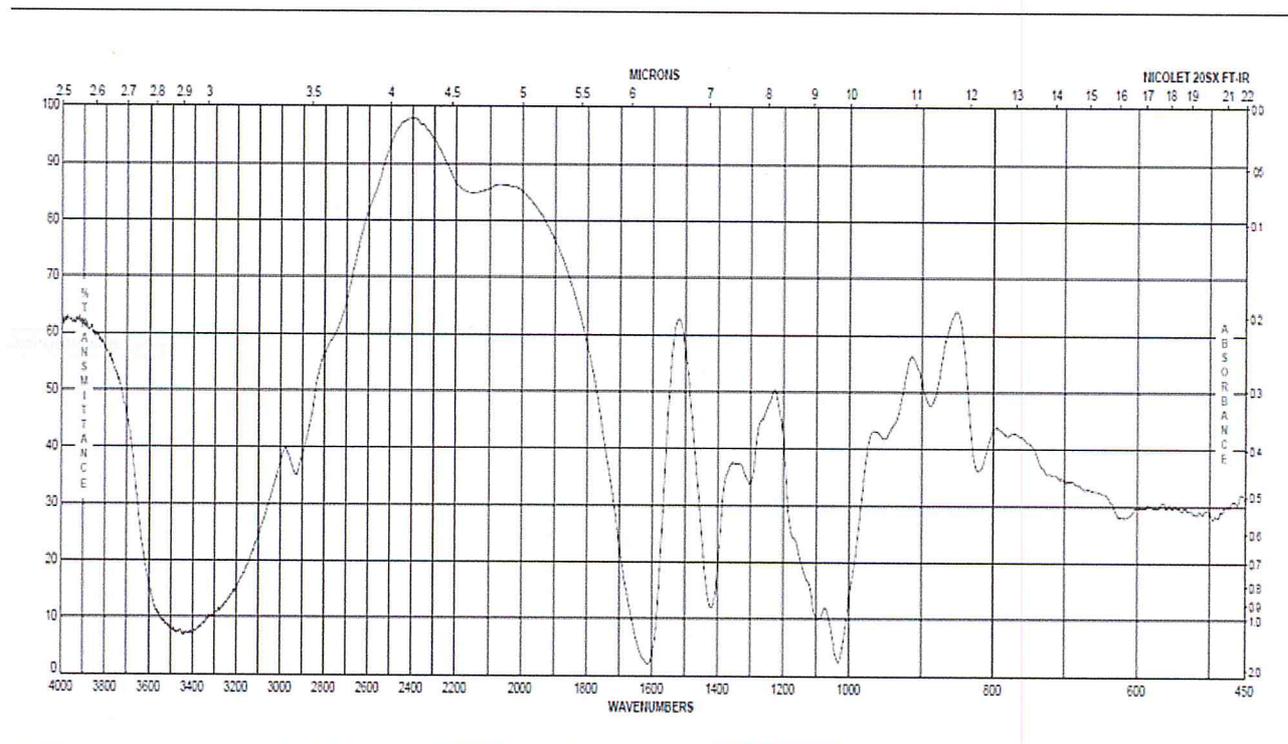


Figure.IV.18.Spectre IR Référence d'alginate de sodium commercial. (Fluka 71240)

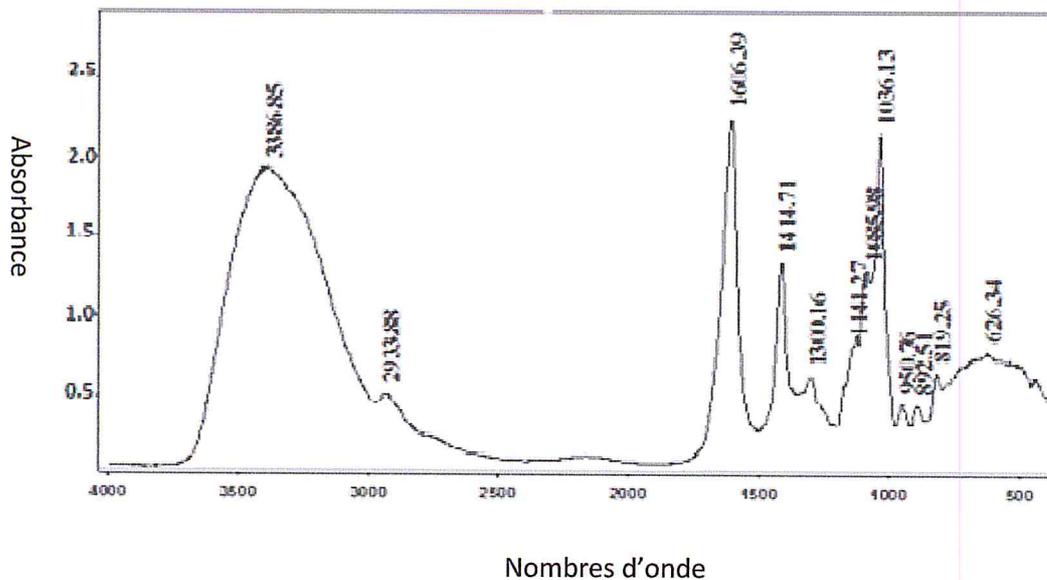


Figure.IV.19. Spectre IR du film d'alginate de sodium préparé à partir d'une solution à 1% commerciale (fluka).

L'analyse IR nous a confirmé la qualité de notre polymère, c'est bien de l'alginate de sodium le test a été effectué seulement pour vérifier notre matière première. On peut dire que les deux bandes d'absorption caractéristiques à 1606 cm^{-1} et 1414 cm^{-1} , sont dues à la vibration dissymétrique et Symétrique respectivement du groupe $-\text{COO}-$, et une bande d'absorption à 3386 cm^{-1} qui est due à la vibration des groupes $-\text{OH}$.

IV.9.2. Analyse des films par microscope électronique à balayage MEB

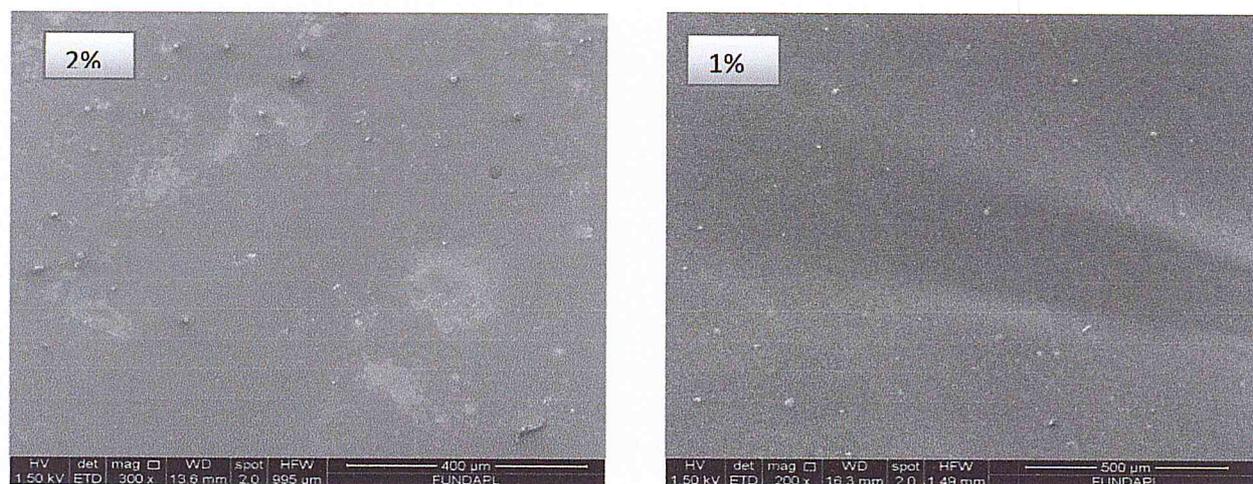


Figure.IV.20. image microscopiques 400 et 500 μm des films à 2% et 1%.

IV.10. Macro capsules vides et pleines

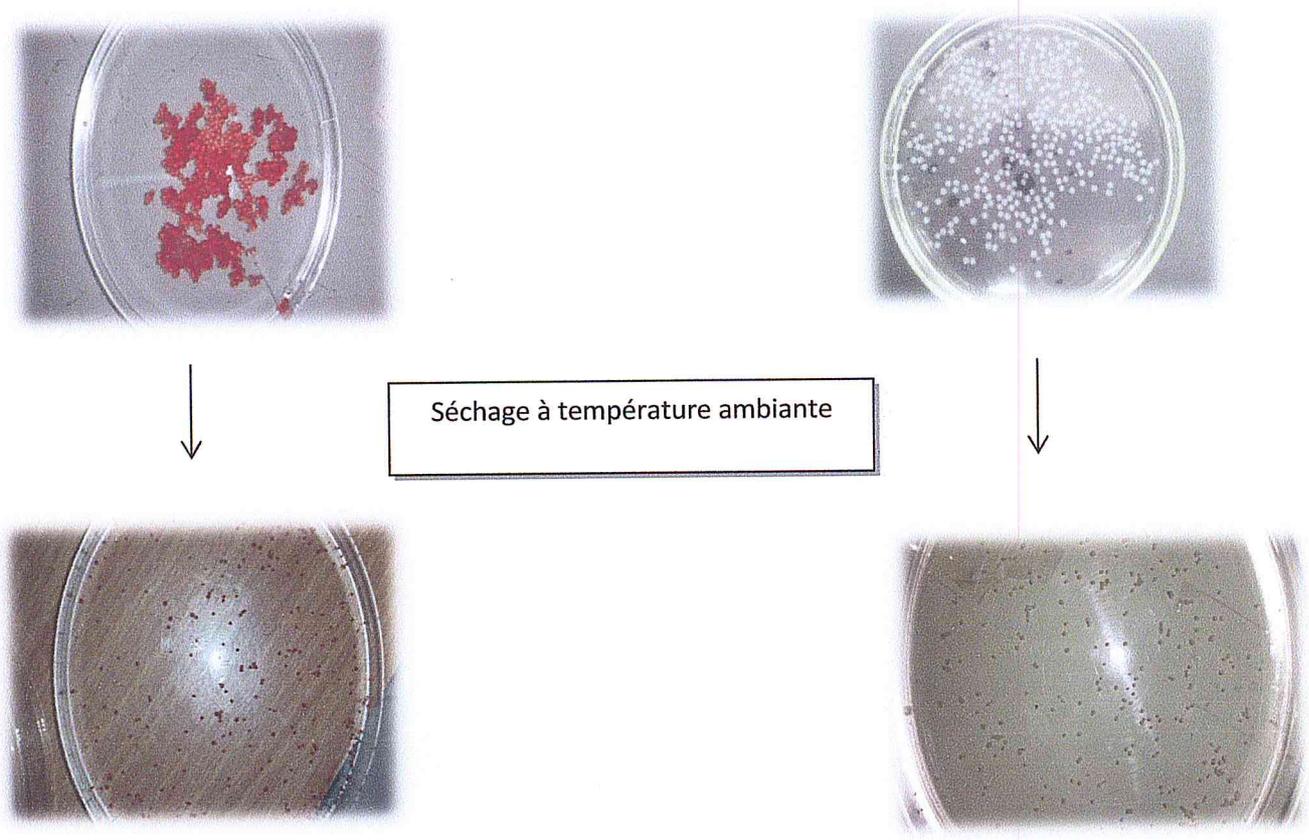


Figure.IV.21. Macros capsules avant et après séchage.

IV.11. Microcapsules pleines

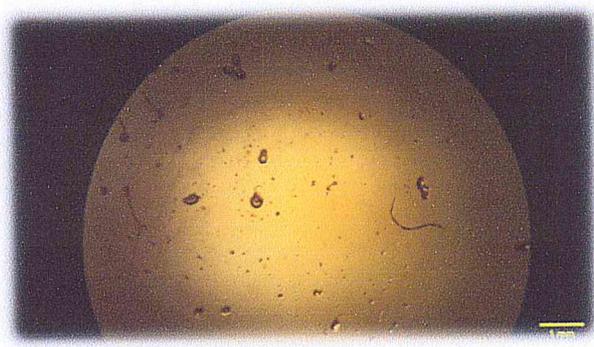


Figure.IV.22. Image des microcapsules prise à travers un microscope optique.

1-Discussion

La qualité de nos films est bonne, elle est confirmée par la technique MEB ou on peut voir de plus près les surfaces des films qui sont homogènes (les petites points sont des impuretés), même la transparence des films est bonne. Nos capsules sont plus ou moins sphériques et leur diamètre varie de 0.5 à 2 millimètre (les macros capsules), pour les microcapsules la gamme était de 0.004 à 0.2 millimètre.

IV.12. quelques images prises à travers le dispositif d'agrandissement



Figure.IV.23. Macro Capsules vides avant le séchage.

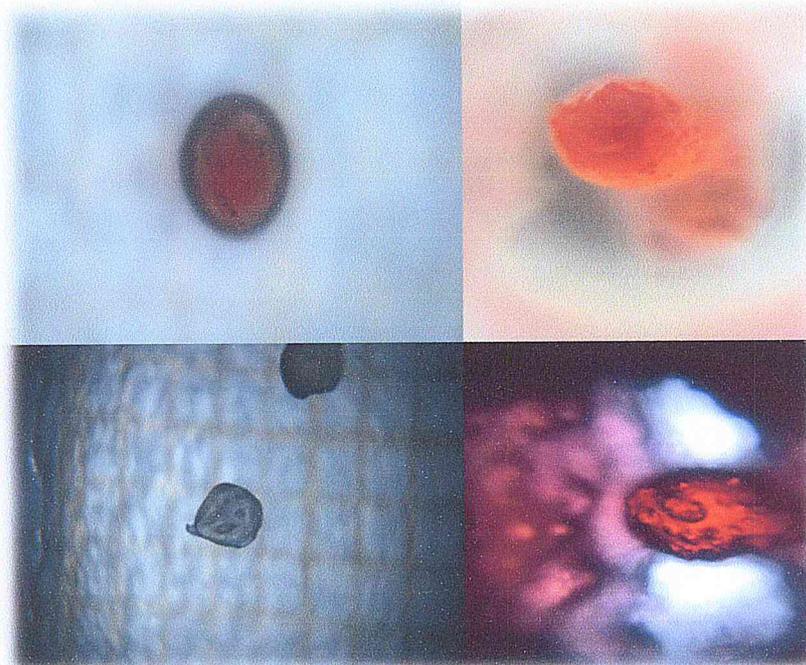


Figure.IV.24. Une macro capsule vide sèche et trois capsules pleines avant le séchage.

2-Discussion

La qualité des photos présent nous permet d'effectuer de bonnes mesures à travers le logiciel imagej et tout cela nous aide à bien caractériser nos capsules. On peut même observer leurs profils de surface et par suite observer les profils de libérations.

IV.13. Histogrammes des diamètres de féret (macro et microcapsules) et Quelques Graphes décrivant les surfaces de capsules (par imagej)



Figure.IV.25.Histogramme du diamètre de féret. (Macro)

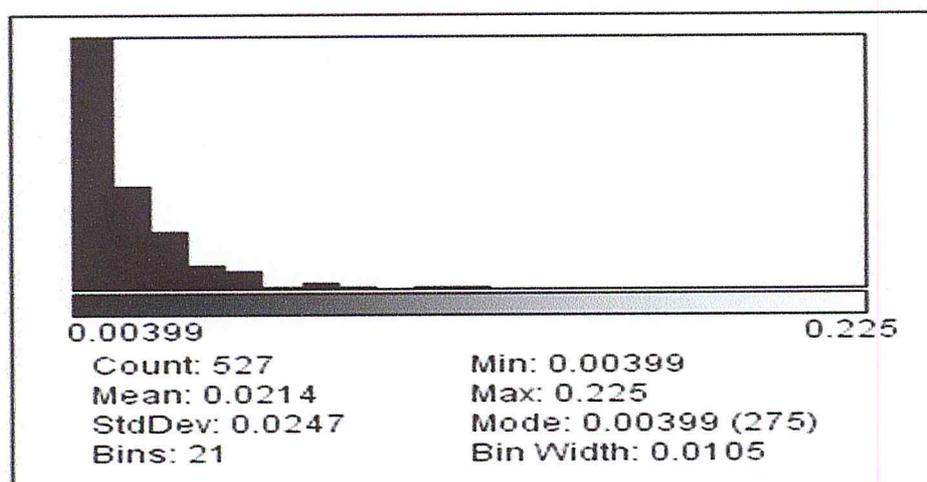


Figure.IV.26. Histogramme pour le diamètre de féret. (Micro)

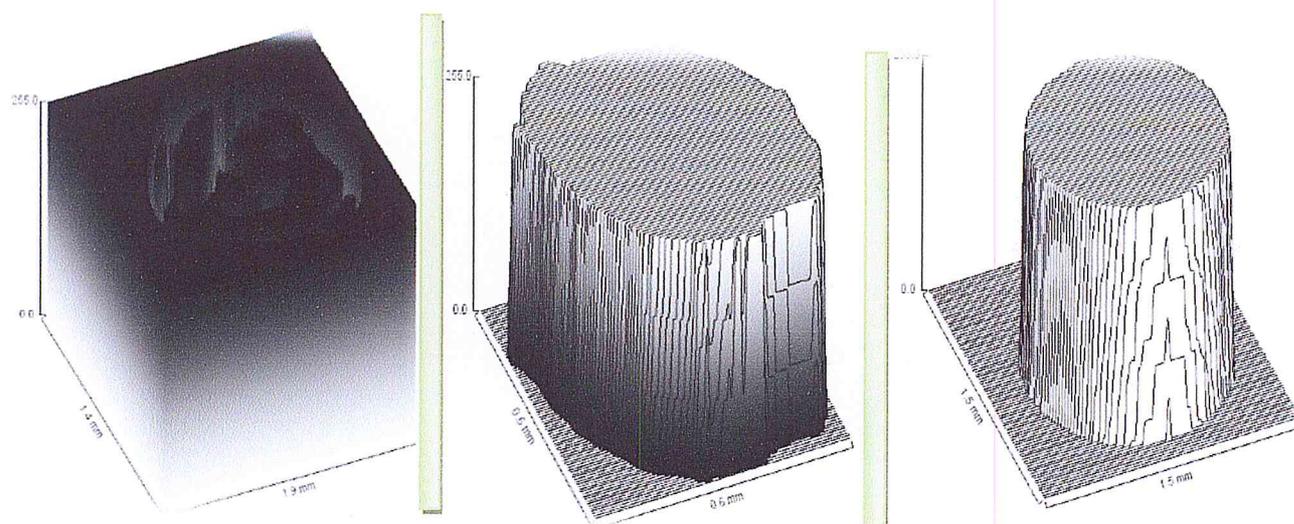


Figure.IV.27. Graphes décrivant les surfaces decapsules.

IV.14. Résultats de l'étude du gonflement des capsules pleines et suivi du phénomène de libération du colorant dans les milieux eau distillée et eau physiologique par analyse d'image

Suivi des différents paramètres des capsules dans le temps « périmètre et diamètre »

a)-Eau physiologique a 25 degré et pH =7.40

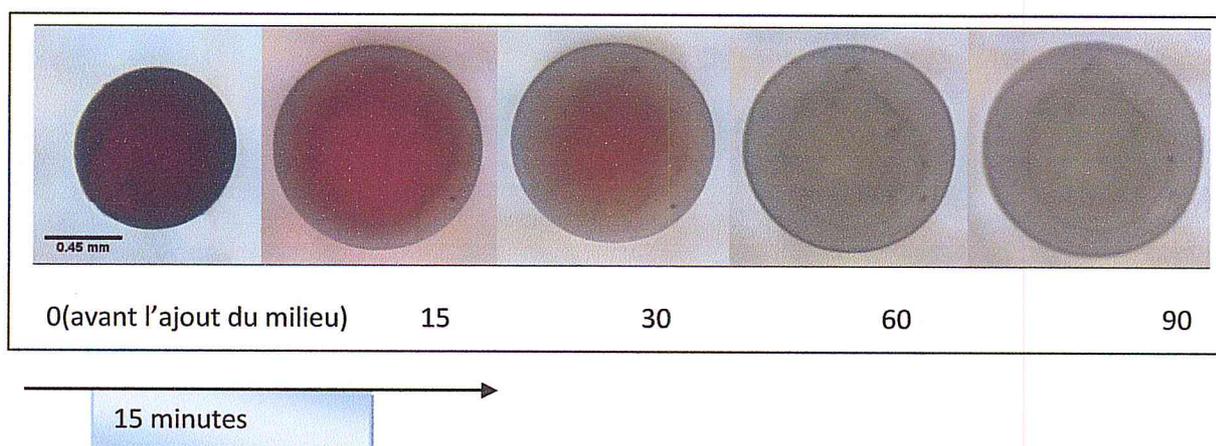


Figure.IV.28. Succession d'images (suivi du phénomène de libération et de gonflement d'une capsule dans le milieu eau physiologique).

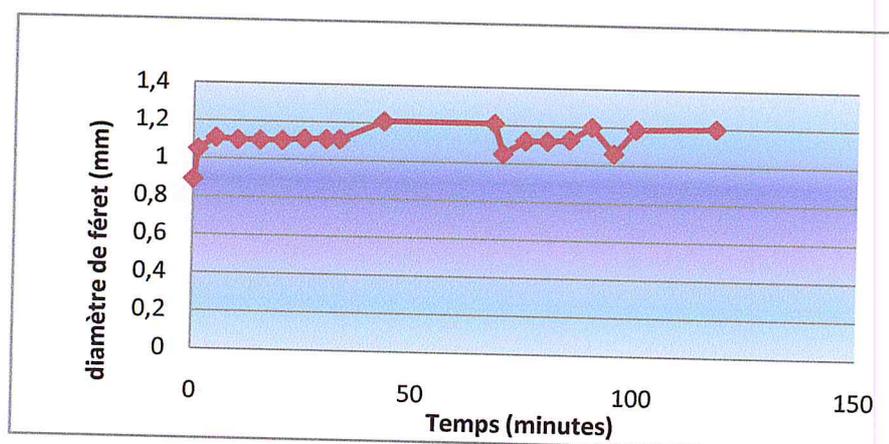


Figure.IV.29.Suivi du diamètre de fœret en fonction du temps.

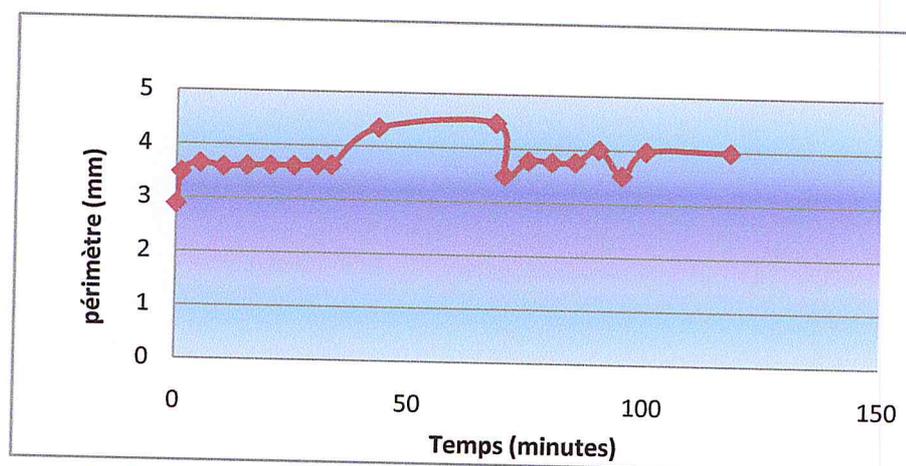


Figure.IV.30.Suivi du périmètre en fonction du temps.

IV.14. 1.Analyse des graphes (eau physiologique)

Lors du suivi de ces deux paramètres (périmètre et diamètre de fœret) on remarque un saut dans le volume dès les premières secondes après l'ajout de l'eau physiologique tous cela suivi d'une stabilisation jusqu'à environ trente minutes, ou en a remarqué un deuxième saut, on peut dire que c'est dû aussi à l'ajout d'une autre quantité de ce milieu, à chaque fois la capsule absorbe la quantité ajoutée et le polymère renferme toute la quantité d'eau physiologique dans ses réseaux formés grâce à la réticulation (le cation Ca^{+} forme un pont entre deux chaînes polymériques), le volume était stable, après la soixantième minute en voit que la capsule s'est rétrécie jusqu'à une valeur inférieure à celle mesurée après le premier saut. Il ne faut pas oublier que notre polymère a une certaine élasticité, la diminution de taille est due alors à la relaxation des chaînes polymériques après leurs élongation. Un petit saut est marqué après

70 minutes, la capsule regagne du volume (ajouts du milieu) à la 90 minute ; une petite diminution de volume est observée après cela, on retrouve le volume mesuré après le deuxième saut. Donc il est juste de dire que l'eau physiologique est favorable pour le gonflement.

b)-Eau distillée a 25 degré et pH =7.1

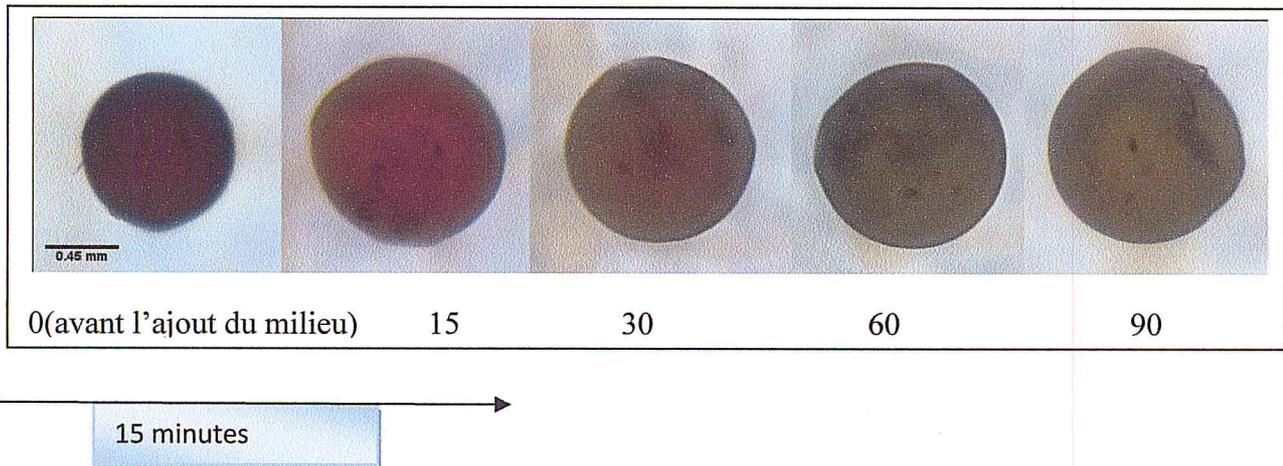


Figure.IV.31. Succession d'images (suivi du phénomène de libération et de gonflement d'une capsule dans le milieu eau distillée).

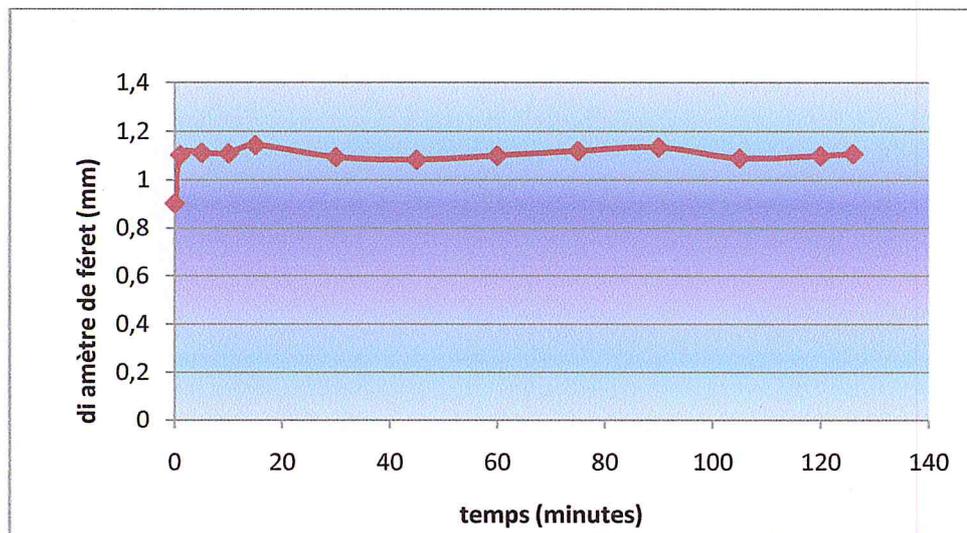


Figure.IV.32. Suivi du diamètre de féret en fonction du temps.

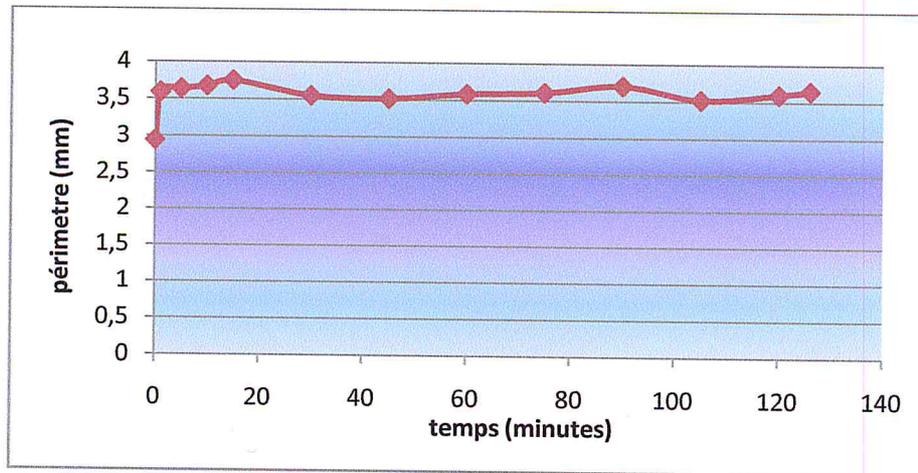


Figure.IV.33. Suivi du périmètre en fonction du temps.

IV.14. 2. Analyse des graphes (eau distillée)

Dans l'eau distillée on ne remarque pas beaucoup de changements vis-à-vis du volume sauf un saut après l'ajout du milieu. Après 10 minutes, le volume était plus ou moins stable jusqu'à la fin du test (après 126 minutes). Donc il est juste de dire que l'eau physiologique est le milieu le plus favorable pour le gonflement.

IV.15. Résultats du suivi de la concentration du colorant dans les deux milieux

a). Milieu eau physiologique pH=7.40 à température ambiante

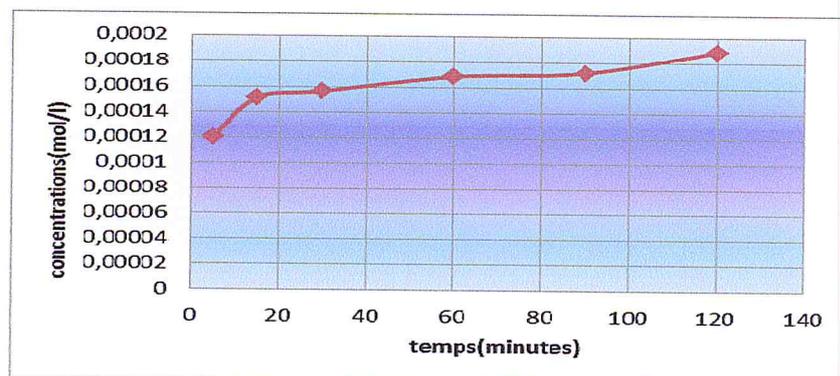


Figure.IV.34. Concentration du colorant libéré en fonction du temps dans l'eau physiologique.

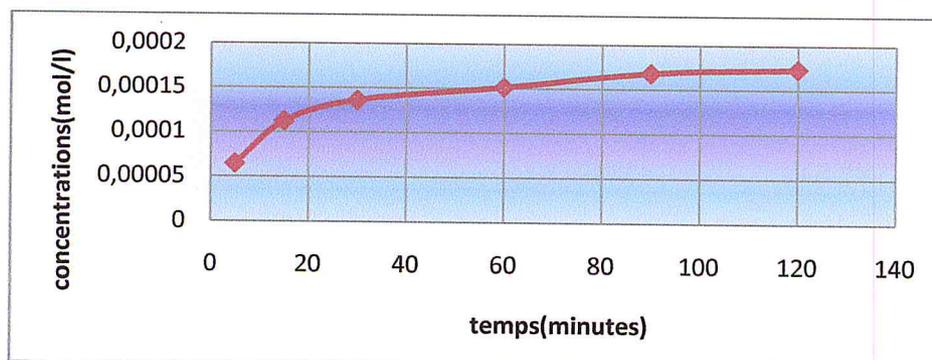
a). Milieu eau distillée pH=7.1 à température ambiante

Figure.IV.35. Concentration du colorant libéré en fonction du temps dans l'eau distillée.

IV.15.1. Analyse des graphes

On peut dire que les deux graphes ont la même allure sauf que les quantités libérées (après 5 minutes) sont différentes, les capsules dans l'eau physiologiques ont libéré plus que celles mises dans l'eau distillée.

A la fin de ces deux tests, on peut associer le gonflement à la libération et dire que là où les capsules ont gagné beaucoup de volume, la libération était importante, alors ce qui se passe lors du gonflement (occupation du vide dans les chaînes polymériques par l'eau) permet au colorant de s'échapper par l'intermédiaire du milieu de libération.

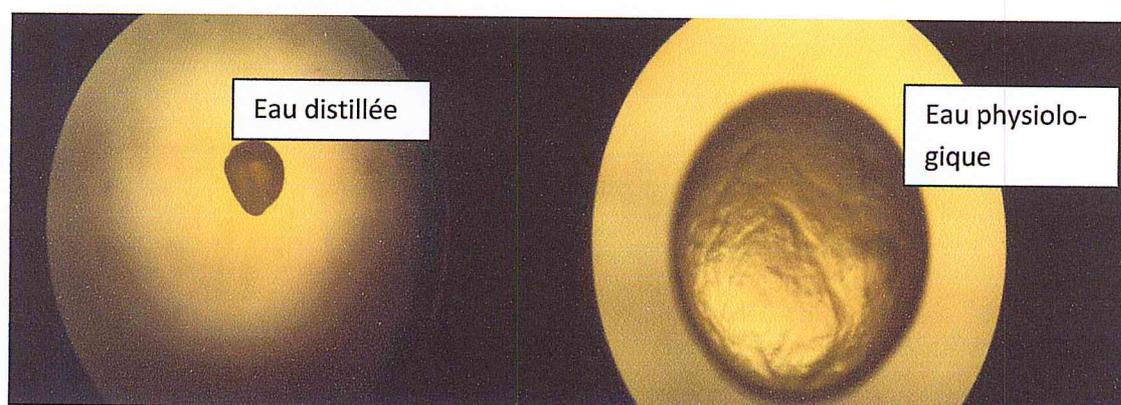


Figure.IV.36. Images de capsules gonflées pour les deux milieux.

Le diamètre de fêret a passé d'une valeur moyenne de 0.638 millimètre à 3.01 millimètre dans le milieu physiologique. Dans l'eau distillée le diamètre a évolué d'une valeur de 0.638 millimètre à 0.920, tandis que le poids a passé de 3 milligrammes à 104.8 milligramme dans le milieu physiologique et de 3 milligrammes à 3.4 milligramme dans l'eau distillée

IV.16. résultats de Calculs des rapports des intensités de couleur (rouge) avant et après l'ajout du milieu

a)-Eau physiologique a 25 degré et pH=7.40 capsule

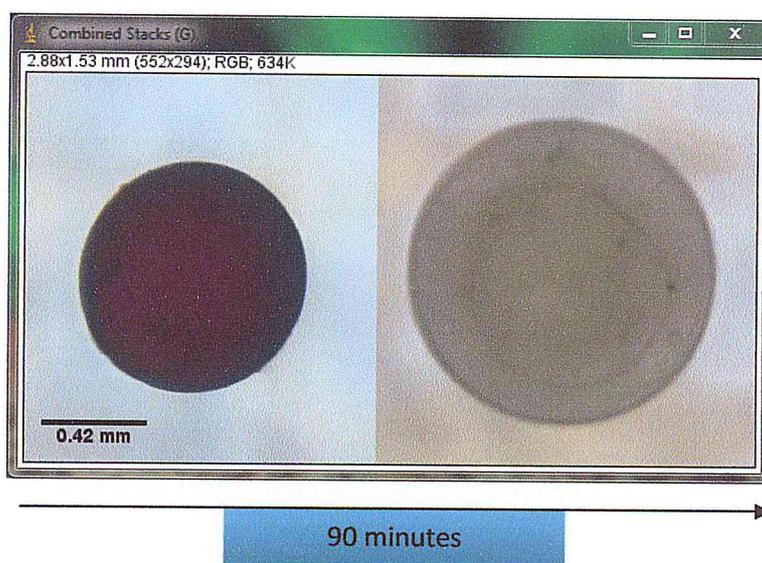


Figure.IV.37.capsule pleine avant et après l'ajout du milieu (Eau physiologique).

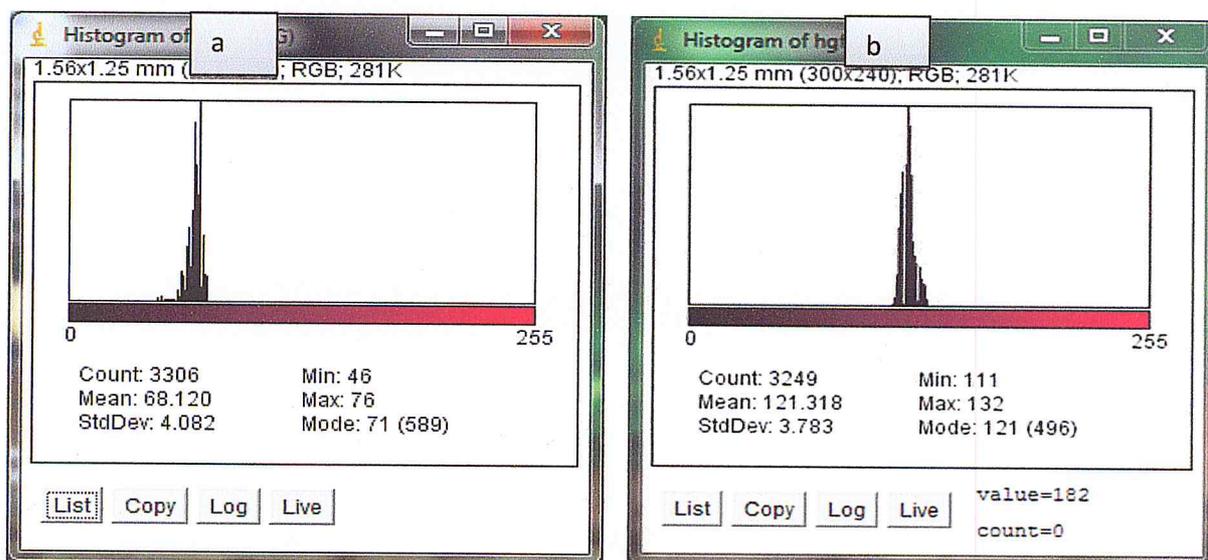


Figure.IV.38.Histogrammes des intensités de couleur avant(a)et après(b) l'ajout de l'eau physiologique.

Calcul du rapport :

$$\frac{\text{moyenne des intensités de couleur avant l'ajout du milieu}}{\text{moyenne des intensités de couleur après l'ajout du milieu}} = \frac{121}{71} = 1.7$$

b)-Eau distillée à 25 degrés et pH =7.1

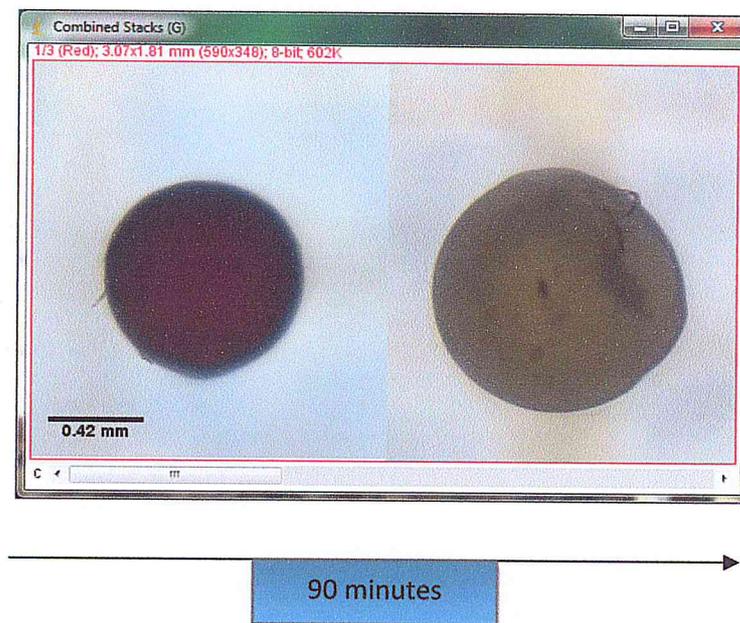


Figure.IV.39.capsule pleine avant et après l'ajout du milieu (Eau distillée).

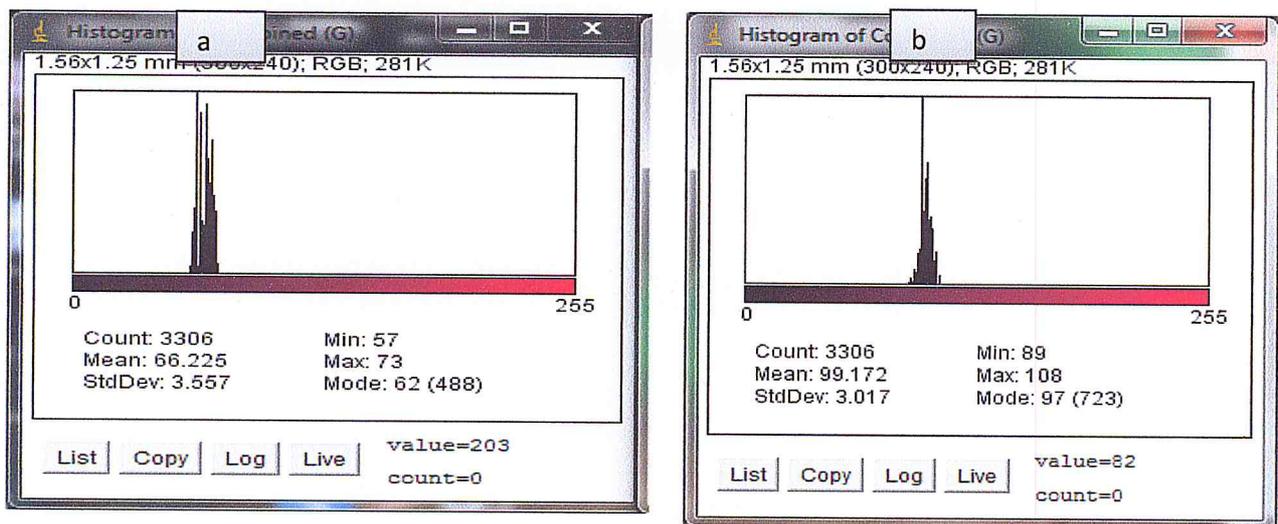


Figure.IV.40.Histogrammes des intensités de couleur avant(a), et après(b) l'ajout de l'eau distillée.

Calcul du rapport :

$$\frac{\text{moyenne des intensités de couleur avant l'ajout du milieu}}{\text{moyenne des intensités de couleur après l'ajout du milieu}} = \frac{97}{62} = 1.56$$

Comparaison entre les deux rapports $1.70 > 1.56$

IV.16.1. Discussion

Ce test est effectué comme analyse secondaire, l'intérêt de calculer ces rapports est de montrer qu'on peut utiliser le logiciel imagej pour lier l'intensité de couleur à la libération du colorant.

En comparant les deux rapports on peut dire que la capsules dans le milieu physiologique libèrent plus de colorant par rapport à l'eau distillée.

Conclusion générale

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'apport de l'analyse d'image par ordinateur pour la caractérisation d'un support destiné à contenir, ensuite à libérer un agent actif. En effet, pour cette raison nous avons pu préparer des capsules de tailles variées ainsi qu'un film mince par réticulation d'un matériau bio polymérique : l'alginate. L'agent actif était modélisé par un colorant rouge.

Au préalable, l'usage d'un logiciel dédié à l'analyse d'image nous a permis de voir grossièrement la morphologie ainsi que la taille des capsules que nous avons préparé. La prise d'image a été faite simplement à l'aide d'un Smartphone couplé à un 'microscope' modeste que nous avons construit pour cette occasion. Les résultats montraient qu'il était possible d'obtenir des capsules pratiquement sphériques d'un diamètre de l'ordre du mm ou des microcapsules beaucoup plus petites par pulvérisation (atomisation). Celles-ci avaient des diamètres de quelques dizaines à quelques centaines de microns. Par ailleurs, des informations complètes sur ces capsules ont été obtenues à l'aide de diverses fonctions associées au logiciel utilisé. Ces informations étaient notamment liées au nombre de capsules caractérisées, le diamètre, le périmètre, la surface et la rondeur.

Dans une deuxième phase de notre étude, nous avons montré qu'il était possible d'inclure dans la capsule le colorant servant dans notre cas comme agent actif pour faciliter notamment l'observation. Les différents paramètres géométriques mentionnés ci-dessus servaient dans cette partie pour évaluer le taux de gonflement de la capsule dans un milieu simple constitué par l'eau distillée et un milieu plus réaliste qui est l'eau physiologique. Le phénomène de libération a également été observé dans les mêmes conditions.

A l'aide des différentes observations suivies de l'analyse, il était possible de faire quelques conclusions palpables quant aux systèmes étudiés :

1. Il y a une relation directe entre le phénomène de gonflement de la capsule, lui-même lié à l'absorption du liquide ou de la solution environnant, et la libération du colorant qui est relativement facile et rapide. Ceci peut montrer que l'interaction de celui-ci avec l'alginate est faible, autrement il serait retenu à l'intérieur de la capsule ;
2. Le phénomène de gonflement semble conséquent dans l'eau physiologique (riche en ions) par rapport à l'eau distillée.
3. Il semble possible d'évaluer la variation de la concentration du colorant dans la capsule en fonction du temps à l'aide de la mesure de la variation de l'intensité par analyse d'image. Cette mesure semble conforter l'analyse classique par spectrophotométrie.
4. L'analyse d'image est démontrée ici comme un outil fiable pour l'exploration du monde des capsules avec l'obtention d'informations très intéressantes concernant la morphologie et la texture des capsules (macro et micro) et le phénomène de libération d'un agent actif. Cependant, ce modeste travail doit être approfondi et étendu pour

mettre au point des procédures d'analyse complètes capables de constituer des outils de contrôle innovants dans le domaine de la micro encapsulation dans différents domaines.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Alla nesterenko étude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en micro encapsulation **2012**.

algaebase.org (2015)

Akiyama M.TsugeT.Doi Y. (2003).Environmental life cycle comparison of polyhydroxyalkanoates produced from renewable carbon resources by bacterial fermentation.*Polym.Degrad. Stab.* 80, p. 183–194.

Auras R, Harte B, Selke S.(2004). An overview of polylactides as Packaging Materials.*Macromol.Biosci.* 4, p. 835–864.

Algorithme, (2001)Algorithme n° 55 3ème trimestre 2001 p 5 Dossier: Les alginates: hydrocolloïdes incontournables dans la fabrication des produits alimentaires restructurés.

Augustin M.A. and Hemar Y., Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients.*CheamSoc Rev*, **2009**, 38, 902-912.

Abbasi S, Rahimi S. and Azizi M.H., Influence of microwave-microencapsulated citric acid on some sensory properties of chewing gum. *J Microencapsul*, **2009**, 26, 90-96.

Anjani K, Kailasapathy K. and Phillips M., Microencapsulation of enzymes for potential application in acceleration of cheese ripening.*Int Dairy J*, **2007**, 17, 79-86.

Abbasi S. and Azari S., Efficiency of novel iron microencapsulation techniques: fortification of milk. *Int J Food SciTechn*, **2011**, 46, 1927-1933.

B. Fawcett. A textbook of histology. Chapman and Hall, USA12th Ed

Boh B., Sumiga B., 2008, Microencapsulation technology and its applications in building Construction materials, *RMZ – Materials and geoenvironment*, vol. 55 (3), p. 329-344.).

Bingham G, Gunning R.V, Gorman K, Field L.M. and Moores G.D, Temporal synergism by microencapsulation of piperonylbutoxide and α -cypermethrin overcomes insecticide resistance in crop pests. *Pest ManagSci*, **2007**, 63, 276-281.

Benita S, Hoffman A. and Donbrow M, Microencapsulation of paracetamol using polyacrylate resins (Eudragit Retard), kinetics of drug release and evaluation of kinetic model. *J PharmPharmacol*, **1985**, 37, 391.

cargilltexturizing.com(2015)

Carturan G., Campostrini R. Tognana L. Boninsegna S., Dal Toso R. & Dal Monte R. (2006). Gas-phase silicon alkoxide reactivity vs. Na-alginate droplets for conjugation of alginate and sol-gel technologies. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 3, 77.

Chen SC., Lu Y. (2004). Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug Delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.* 56, p. 1621–1633.

D. Marr ET E. Hildreth: Theory of Edge Detection, *Proc. R. Soc. London, B* 207, 187-217, 1980.

Desprairies, (2002) Desprairies M. Société Degussa- texturant systems Les hydrocolloïdes autres que l'amidon Septembre 2002.

Draget et coll., (1997) Draget K.I., Skjak-Braek G., Smidsrod O. Alginate based new materials *International Journal of Biological Macromolecules*, 21, p. 47-55, 1997.

Dubey R, Shami T.C. and Bhasker Rao K.U., Microencapsulation technology and application. *Defence Sci J*, 2009, 59, 82-95.

Dardelle G., Normand V., Steenhoudt M., Bouquerand P., Chevalier M. et al. Flavour-encapsulation and flavour-release performances of a commercial yeast-based delivery system. *Food Hydrocolloid*, 2007, 21, 953-960

Emilie Vincent les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie *application à la construction d'un biomatériau 2010*).

El-Zawahry M.M., El-Shami S. and El-Mallah M.H., Optimizing a wool dyeing process with reactive dye by liposome microencapsulation. *Dyes Pigments*, 2007, 74, 684-691.

Ezpeleta I., Irache J.M., Stainmesse S., Chabenat C., Gueguen J. et al., Preparation of lectin-vicilin nanoparticle conjugates using the carbodiimide coupling technique. *Int J Pharm*, 1996, 142, 227- 233.

Finch ET Bodmeier, 2005.

Ferguson J.L., Liquid crystals. *Scientific American*, 1964, 211, 77.

fmcbiopolymer.com(2015)

Gonzalez, woods 2008 introduction p.3-4.

GU, JD. (2003). Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials.

Ge X., Wan Z., Song N., Fan A. and Wua R., Efficient methods for the extraction and microencapsulation of red pigments from a hybrid rose. *J Food Eng*, **2009**, *94*, 122-128.

Gan C.Y, Cheng L.H. and Easa A.M, Evaluation of microbial transglutaminase and ribose crosslinked soy protein isolate-based microcapsules containing fish oil. *Innov Food SciEmerg Tech*, **2008**, *9*, 563-569.

Gharsallaoui A., Roudaut G., Beney L., Chambin O., Voilley A. et al., Properties of spray-dried food flavours microencapsulation with two-layered membranes: Roles of interfacial interactions and water. *Food Chem*, **2012**, *132*, 1713-1720

Haut, A. and B. Larsen. (1970). "An extracellular polysaccharide from *Beijerinckiaindica*, containing L-guluronic acid residues." *ActaChemScand* 24(5): 1855-1856.

Hammill T.B. and Crawford R.L, Bacterial microencapsulation with three algal polysaccharides. *Can J Microbiol*, **1997**, *43*, 1091-1095.

Hildebrand G.E. and Tack J.W, Microencapsulation of peptides and proteins. *Int J Pharm*, **2000**, *196*, 173-176.

Instructables.com, by yoshinok 2015.

Irache J.M, Bergougnoux L, Ezpeleta I, Gueguen J. and Orecchioni A.M, Optimization and in vitro stability of legumin nanoparticles obtained by a coacervation method. *Int J Pharm*, **1995**, *126*, 103-109.

Jouanneau D(2010),Jouanneau D., Les phycocolloïdes, www.sb.roscoff.fr/Phyto

Jarroux, N. (2012). Les biopolymères : différentes familles, propriétés et applications. *Techniques de l'ingénieur, Traité AM 3580.*

Jorgensen, T. E., M. Sletmoen, K. I. Draget and B. T. Stokke. (2007). Influence of Oligoguluronates on alginate gelation, kinetics, and polymer organization. *Bio macromolecules* 8(8): 2388-2397.

Junyaprasert V.B., Mitrevej A., Sinchaipanid N., Broome P. and Wurster D.E., Effect of process variables on the microencapsulation of vitamin A palmitate by gelatin-acacia coacervation. *DrugDevIn Pharm*, **2001**, *27*, 561-566.

Keogh M.K. and O'Kennedy B.T., Milk fat microencapsulation using whey proteins.*Int Dairy J*, 1999, 9, 657-663.

Kapusniak J. and Tomasik P., Lipid microencapsulation in starch.*J Microencapsul*, 2006, 23, 341- 348.

Krishnan S., Bhosale R. and Singhal R.S., Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *CarbohydrPolym*, 2005, 61, 95-102.

Lazko J, Popineau Y, Renard D. and Legrand J., Microcapsules based on glycinin-sodium dodecyl sulfate complex coacervation.*J Microencapsul*, 2004, 21, 59-70.

marevita.org (2015)

Mokrani nadir préparation et étude du comportement de membranes bio polymères alginate de sodium/chitosane 2012.

Megha international (informations sur le colorant)

MRI, volkr beaker-mark lartaud (tutorial imagej)

Mjahed, H. (2009). Caractérisation physico-chimique des films multicouches dePoly électrolytes à base de polysaccharides en vue d'applications dans le domaine desBiomatériaux, thèse de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg, pp. 22-29.

Marcuzzo E., Sensidoni A., Debeaufort F. and Voilley A., Encapsulation of aroma compounds in biopolymeric emulsion based edible films to control flavour release. *CarbohydrPolym*, 2010, 80, 984-988.

Nordstierna L, Abdalla A.A, Masuda M, Skarnemark G. and Nydén M, Molecular release from painted surfaces: Free and encapsulated biocides. *Prog Org Coat*, 2010, 69, 45-48.

Nathistoc.bio.uci.edu (2015)

Okada M. (2002). Chemical syntheses of biodegradable polymers.*Prog. Polym. Sci.* 27, p. 87– 133.

Pérez.(1997) Pérez R. Ces algues qui nous entourent: conception actuelle, rôle dans la biosphère, Utilisations, culture éditions Ifremer, 1997.

Pérez.(1992) Perez R. La culture des algues marines dans le monde Ifremer 1992 p 16 à 60.

Philippe Legrand, Jean-Pierre Benoit, Stéphanie Briançon, Elias Fattal, Hatem Fessi, et al. Sphéroïdes et formes vectorisées. Malouine. Pharmacie Galénique Formulation et Technologie pharmaceutique, Malouine, pp.221-250, 2007.hal 00385473.

Pierucci A.P.T.R., Andrade L.R., Baptista E.B., Volpato N.M. and Rocha-Leao M.H.M., New microencapsulation system for ascorbic acid using pea protein concentrate as coat protector. *JMicroencapsul*, 2006, 23, 654-662.

Priamo W.L., Cezaro A.M., Ferreira S.R.S. and Oliveira J.V., Precipitation and encapsulation of β - carotene in PHBV using carbon dioxide as anti-solvent. *J SupercritFluid*, 2010, 54, 103-109.

Page de téléchargement officielle d'ImageJ (2015)

Rabetafika H., Paquot M. et Dubois P., Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés Spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 10: 185-196, (2006).

Rodrigues S.N., Fernandes I., Martins I.M., Mata V.G., Barreiro F. et al. Microencapsulation of limonene for textile application. *IndEngChem Res*, 2008, 47, 4142-4147.

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

Rascon M.P., Beristain C.I., Garcie H.S. and Salgado M.A., Carotenoid retention and storage stability of spray-dried paprika oleoresin using gum arabic and soy protein isolate as wall materials. *FoodSciTechnol*, 2011, 44, 549-557.

Smidsrod O., painter t. Effect of periodates oxidation upon the stiffness of the alginate -- molecule in solution. *Carbohydr. Res.*, 1973, 26: 125.

Schmitt.(1986) Schmitt L. A propos de l'utilisation des algues en thérapeutique actuelle: perspectives d'avenir Thèse de Docteur en Pharmacie, Nancy, 1986.

Site officielle et documentations et documentation plugins pour ImageJ (2015)

Seely, G. R. and R. L. Hart.(1974). the binding of alkaline earth metal ions to alginate. *Macromolecules* 7(5): 706-710.

Stequert, A. (2009). Transfert de matière dans les gels d'alginate, thèse de diplôme d'Etat de Docteur en pharmacie, Nancy, pp. 21-30.

Stelinski L.L, McGhee P, Haas M, Ilichev A.L. and Gut L.G, Sprayable microencapsulated sex pheromone formulations for mating disruption of four tortricid

species: effects of application height, rate, frequency, and sticker adjuvant. *J EconomEntomol*, **2007**, *100*, 1360-1369.

Scher H.B, Rodson M. and Lee K.S, Microencapsulation of pesticides by interfacial polymerization utilizing isocyanate or aminoplast chemistry. *PesticSci*, **1998**, *54*, 394-400.

Sugamori M.E. and Sefton M.V, Microencapsulation of pancreatic islets in a water insoluble polyacrylate. *ASAIO Trans*, **1989**, *35*, 791.

Somchue W., Sermsri W., Shiowatana J. and Siripinyanond A., Encapsulation of α -tocopherol in protein-based delivery particles. *Food Res Int*, **2009**, *42*, 909-914.

Sefton M.V. and Broughton R.L, Microencapsulation of erythrocytes. *BiochimBiophysActa*, **1982**, *717*, 473.

Salaüna F., Bedeka G., Devaux D., Dupont D. and Gengembre L., Microencapsulation of a cooling agent by interfacial polymerization: Influence of the parameters of encapsulation on poly (urethane-urea) micro particles characteristics. *J Membrane Sci*, **2011**, *370*, 23-33.

Saihi D., Vroman I., Giraud S. and Bourbigot S., Microencapsulation of ammonium phosphate with a polyurethane shell. Part II. Interfacial polymerization technique. *ReactFunctPolym*, **2006**, *66*, 1118-1125.

Shaikh J, Bhosale R. and Singhal R, Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food Chem*, **2006**, *94*, 105-110.

Terkmane Naila, Youcef Ettoumikhadidja 2005/2006, préparation et caractérisation des microsphères contenant du paracétamol université de Médéa.

Theron F., Anxionnaz-Minvielle Z, Le Sauze N. and Cabassud M. Transposition from a batch to a continuous process for microencapsulation by interfacial polycondensation. *ChemEngineerProces*, **2012**, *54*, 42-54.

Vert M. (2002). Polymères de fermentation. Les polyacides lactiques et leurs précurseurs, les Acides lactiques. Actual. Chim. 11-12, p. 79-82.

Vandamme, E. J.S. DeBaets and A. Steinbüchel. (2002). "Biopolymers, Volume 6, Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes", Wiley-Vch.

Vauchel, P. (2007). Optimisation de procédés innovants pour l'obtention des Phycocolloïdes, Thèse de doctorat de l'université de Nantes, centre IFREMER, Nantes, pp. 32.

Wang R., Tian Z. and Chen L., A novel process for microencapsulation of fish oil with barley protein. *Food Res Int*, **2011**, *44*, 2735-2741.

Wehrle K., Gallagher E., Neville D.P., Keogh M.K. and Arendt E.K., Microencapsulated high-fat powders in biscuit production. *Eur Food Res Tech*, **1999**, *208*, 388-393.

Wikipedia (2015)

Wilson N. and Shah N.P., Microencapsulation of vitamins. Review paper. *ASEAN Food J*, **2007**, *14*, 1-4.201.

Yoo S.H, Song Y.B, Chang P.S. and Lee H.G., Microencapsulation of a-tocopherol using sodium alginate and its controlled release properties. *Int J BiolMacromol*, **2006**, *38*, 25-30.

Yu J.Y. and Lee W.C, Microencapsulation of pyrrolnitrin from *Pseudomonas cepacia* using gluten and casein. *J Ferment Bioeng*, **1997**, *84*, 444-448.

ANNEXE

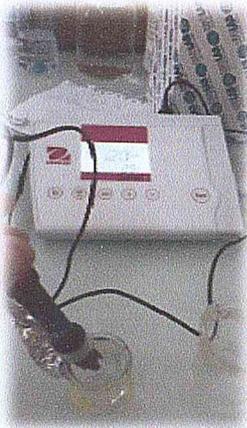
MATÉRIELSET MONTAGES :



Filtration de capsules



Solution d'alginate de sodium



PH mètreSolution d'alginate de sodium+colorant



Seringues



Balanace analytique



Microscope optique

PRODUITS :



Alginate de sodium Chlorure de calcium Ponceau 4R

QUELQUES TABLEAUX (RÉSULTATS) :**Macro-capsules (sèches) :**

particule	Area	périmètre	féret	circ	solidity	round
1	0.361	2.630	0.656	0.947	0.910	0.799
2	0.375	2.587	0.703	0.854	0.912	0.851
3	0.382	2.798	0.613	0.886	0.889	0.829
4	0.376	2.381	0.833	0.723	0.969	0.850
5	0.415	2.799	0.666	0.764	0.944	0.934
6	0.402	2.575	0.762	0.801	0.955	0.839
7	0.427	3.881	0.357	0.867	0.899	0.858
8	0.288	2.132	0.796	0.928	0.956	0.665
9	0.336	2.281	0.813	0.762	0.953	0.794
10	0.257	1.958	0.842	0.732	0.969	0.693
11	0.274	2.153	0.744	0.853	0.938	0.716
12	0.348	2.769	0.571	0.934	0.914	0.760
13	0.840	5.365	0.367	0.711	0.885	1.262
14	0.416	3.538	0.417	0.846	0.869	0.878
15	0.367	2.931	0.537	0.947	0.888	0.802
16	0.478	3.348	0.536	0.828	0.907	0.909
17	0.434	3.341	0.488	0.889	0.910	0.889
18	0.352	2.440	0.744	0.830	0.943	0.797
19	0.404	2.593	0.755	0.877	0.951	0.842
20	0.350	2.429	0.746	0.873	0.954	0.741
22	0.517	3.782	0.455	0.789	0.892	0.972
23	0.399	3.141	0.508	0.818	0.894	0.947
24	0.389	2.520	0.770	0.974	0.947	0.764
25	0.327	2.350	0.743	0.863	0.944	0.724
26	0.360	2.435	0.763	0.884	0.952	0.764
27	0.344	2.202	0.892	0.918	0.972	0.720
28	0.463	2.706	0.795	0.866	0.955	0.866
29	0.221	2.033	0.673	0.745	0.927	0.644
30	0.313	2.426	0.669	0.930	0.942	0.691
31	0.406	3.012	0.563	0.864	0.926	0.843
32	0.442	3.693	0.408	0.596	0.835	1.195
33	0.741	3.451	0.782	0.771	0.967	1.161
34	0.395	2.562	0.757	0.881	0.935	0.809
35	0.800	3.763	0.709	0.827	0.956	1.151
36	0.673	3.770	0.595	0.842	0.942	1.083
37	0.429	3.101	0.560	0.596	0.888	0.982
38	0.328	4.157	0.238	0.777	0.811	0.865
39	0.323	2.471	0.664	0.885	0.922	0.734
40	0.351	2.412	0.758	0.960	0.955	0.715
41	0.245	2.988	0.345	0.869	0.864	0.723
42	0.262	2.262	0.643	0.779	0.945	0.693
43	0.316	2.158	0.853	0.867	0.967	0.706
44	0.583	2.999	0.815	0.917	0.966	0.936
45	0.374	2.434	0.794	0.855	0.956	0.764

46	0.435	5.214	0.201	0.751	0.768	0.991
47	0.562	3.334	0.636	0.886	0.945	0.940
48	0.310	2.243	0.774	0.965	0.946	0.681
49	0.881	5.366	0.385	0.608	0.802	1.448
50	0.322	2.474	0.661	0.791	0.927	0.773
51	0.248	2.022	0.764	0.703	0.951	0.710
52	0.334	2.267	0.816	0.821	0.962	0.758
53	0.340	2.230	0.858	0.778	0.973	0.787
54	0.264	2.053	0.787	0.814	0.951	0.721
55	0.248	1.913	0.853	0.916	0.965	0.622
56	0.270	2.003	0.846	0.873	0.967	0.654
57	0.285	2.041	0.859	0.840	0.968	0.675
58	0.340	2.328	0.789	0.921	0.942	0.725
59	0.343	2.296	0.818	0.802	0.957	0.793
60	0.162	1.536	0.861	0.957	0.963	0.493
61	0.300	2.260	0.738	0.814	0.924	0.775
62	0.525	2.808	0.836	0.815	0.965	0.925
63	0.309	2.419	0.664	0.868	0.898	0.743
64	0.400	3.669	0.373	0.816	0.854	0.902
65	0.292	2.757	0.483	0.951	0.867	0.779
66	0.583	3.363	0.648	0.877	0.916	1.020
67	0.552	3.313	0.632	0.964	0.945	0.912
68	0.596	3.403	0.647	0.967	0.955	0.943
69	0.341	2.553	0.657	0.890	0.941	0.738
70	0.216	1.955	0.710	0.852	0.931	0.628
71	0.301	2.169	0.803	0.891	0.959	0.687
72	0.338	2.439	0.714	0.774	0.942	0.808
73	0.452	3.377	0.498	0.973	0.871	0.884
74	0.718	4.575	0.431	0.941	0.866	1.200
75	0.424	2.725	0.717	0.842	0.916	0.880
76	0.214	1.795	0.834	0.829	0.921	0.630
77	0.357	2.381	0.792	0.956	0.917	0.751
78	0.182	1.751	0.746	0.959	0.896	0.578
79	0.648	3.244	0.774	0.944	0.929	1
80	0.803	5.756	0.304	0.794	0.825	1.330
81	0.559	5.236	0.256	0.832	0.748	1.113
82	0.327	2.691	0.567	0.726	0.847	0.872
83	0.309	2.464	0.639	0.943	0.866	0.805
84	0.649	3.414	0.700	0.867	0.910	1.065
85	0.625	3.193	0.770	0.867	0.932	1.026
86	0.391	2.503	0.783	0.873	0.926	0.841
87	0.255	3.469	0.266	0.785	0.751	0.732
88	0.321	2.621	0.587	0.908	0.920	0.712
89	0.240	2.253	0.593	0.794	0.879	0.701
90	0.345	2.721	0.586	0.895	0.904	0.759
91	0.248	2.241	0.620	0.956	0.910	0.616
92	1.047	4.375	0.687	0.862	0.921	1.299
93	0.282	3.055	0.380	0.777	0.801	0.789

94	0.421	2.553	0.811	0.959	0.935	0.817
95	0.609	3.552	0.607	0.861	0.937	0.983
96	0.632	3.145	0.803	0.973	0.976	0.937

Suivi du gonflement (eau distillée)

Minutes	Area	perim	Circ	Féret	Round	Solidity
0	0.86	3.46	0.90	1.07	0.97	0.99
5	1.43	4.46	0.90	1.36	0.99	0.99
10	1.40	4.49	0.87	1.35	0.99	0.99
15	1.40	4.43	0.89	1.35	0.99	0.99
20	1.43	4.47	0.90	1.36	0.99	0.99
25	1.39	4.46	0.88	1.35	0.99	0.99
30	1.16	4.04	0.89	1.22	0.99	0.99
45	1.22	4.14	0.90	1.26	0.99	0.99
60	1.24	4.16	0.90	1.27	0.99	0.99
75	1.28	4.24	0.90	1.29	0.99	0.99
90	1.34	4.33	0.90	1.32	1.00	0.99

Suivi du gonflement (eau physiologique)

Minutes	Area	Perim	Circ.	Féret	Round	Solidity
0	0.759	3.363	0.843	1.011	0.980	0.982
1	1.115	3.963	0.892	1.218	0.994	0.990
5	1.134	4.027	0.878	1.230	0.991	0.989
10	1.097	3.962	0.878	1.209	0.991	0.989
15	1.144	4.013	0.893	1.265	0.944	0.990
30	1.091	3.949	0.879	1.208	0.975	0.990
45	1.072	3.910	0.881	1.197	0.977	0.990
60	1.111	3.960	0.890	1.216	0.979	0.990
75	1.147	4.220	0.810	1.269	0.977	0.981
90	1.184	4.083	0.893	1.253	0.986	0.989
105	1.079	3.891	0.895	1.204	0.981	0.990
120	1.103	3.975	0.877	1.215	0.995	0.989
126	1.123	4.031	0.869	1.223	0.993	0.989

Suivi des concentrations :

temps	eau physiologique		eau distillé	
	abs	concentration (mol/l)	abs	concentration (mol/l)
5	0.071	0.000121	0.038	0.0000646
15	0.089	0.000151	0.066	0.0001122
30	0.92	0.000156	0.08	0.000136
60	0.099	0.000168	0.089	0.0001513
90	0.101	0.000172	0.099	0.0001683
120	0.111	0.000189	0.102	0.0001734

Microcapsules (humides) :

Count	Total Area	Average Size	%Area	Mean	Perim.	Circ.	Solidity	Feret	MinFeret
527	0.20	3.787E-4	2.54	255	0.06	0.85	0.86	0.02	0.01

	Area	Mean	StdDev	Perim	Circ.	Feret	IntDe n	Media n	Roun d	Solidi ty
1		255	0	0.11	0.40	0.04	0.11	255	0.47	0.73
2		255	0	0.11	0.68	0.05	0.16	255	0.36	0.85
3		255	0	0.19	0.84	0.07	0.64	255	0.71	0.94
4		255	0	0.15	0.73	0.05	0.33	255	0.83	0.90
5		255	0	0.02	0.70	0.01	0.01	255	0.38	0.67
6		255	0	0.03	1	0.01	0.02	255	0.81	0.94
7	1.356	255	0	0.04	0.91	0.02	0.03	255	0.56	0.87

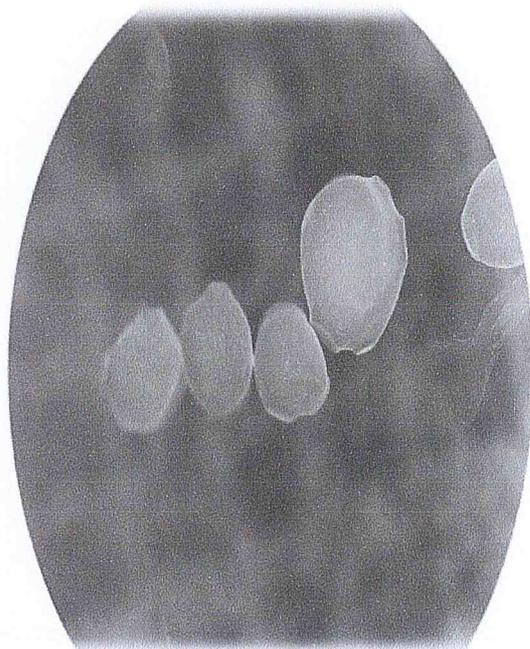
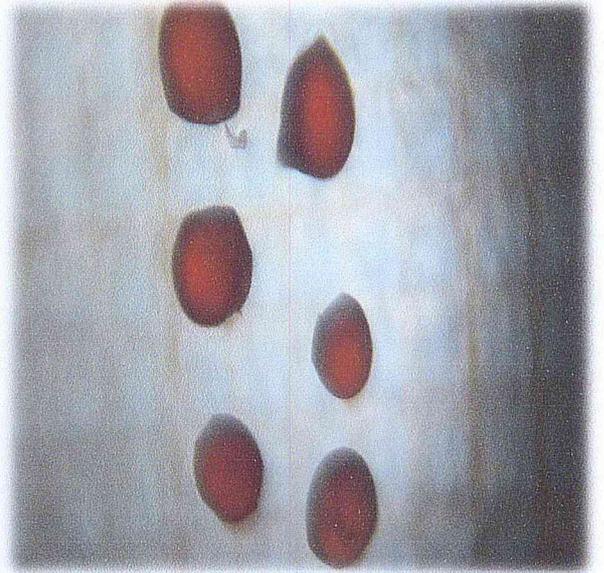
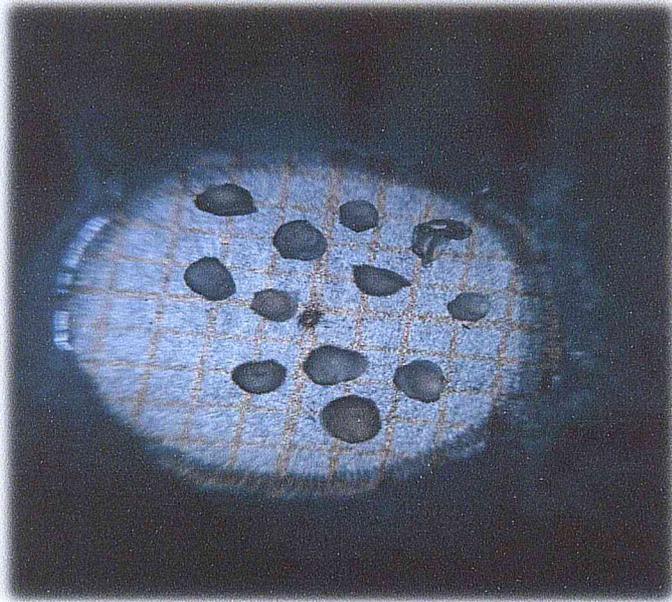
	E-4									
8	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
9	2.393 E-5	255	0	0.02	0.64	0.01	0.01	255	0.37	0.67
10	1.596 E-4	255	0	0.05	0.90	0.02	0.04	255	0.58	0.87
11	1.835 E-4	255	0	0.08	0.35	0.03	0.05	255	0.54	0.50
12	1.197 E-4	255	0	0.04	0.87	0.02	0.03	255	0.79	0.81
13	1.835 E-4	255	0	0.05	0.80	0.02	0.05	255	0.55	0.77
14	2.393 E-5	255	0	0.02	0.64	0.01	0.01	255	0.37	0.67
15	3.909 E-4	255	0	0.08	0.80	0.03	0.10	255	0.56	0.84
16	6.462 E-4	255	0	0.17	0.29	0.05	0.16	255	0.58	0.56
17	5.425 E-4	255	0	0.10	0.69	0.04	0.14	255	0.64	0.81
18	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
19	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1
20	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1
21	6.382 E-5	255	0	0.03	1	0.01	0.02	255	0.52	0.84
22	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
23	1.596 E-5	255	0	0.02	0.79	0.01	0.00	255	0.38	0.67
24	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1
25	1.835 E-4	255	0	0.06	0.66	0.02	0.05	255	0.65	0.74
26	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
27	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
28	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1
29	1.596 E-5	255	0	0.02	0.79	0.01	0.00	255	0.38	0.67
30	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
31	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1

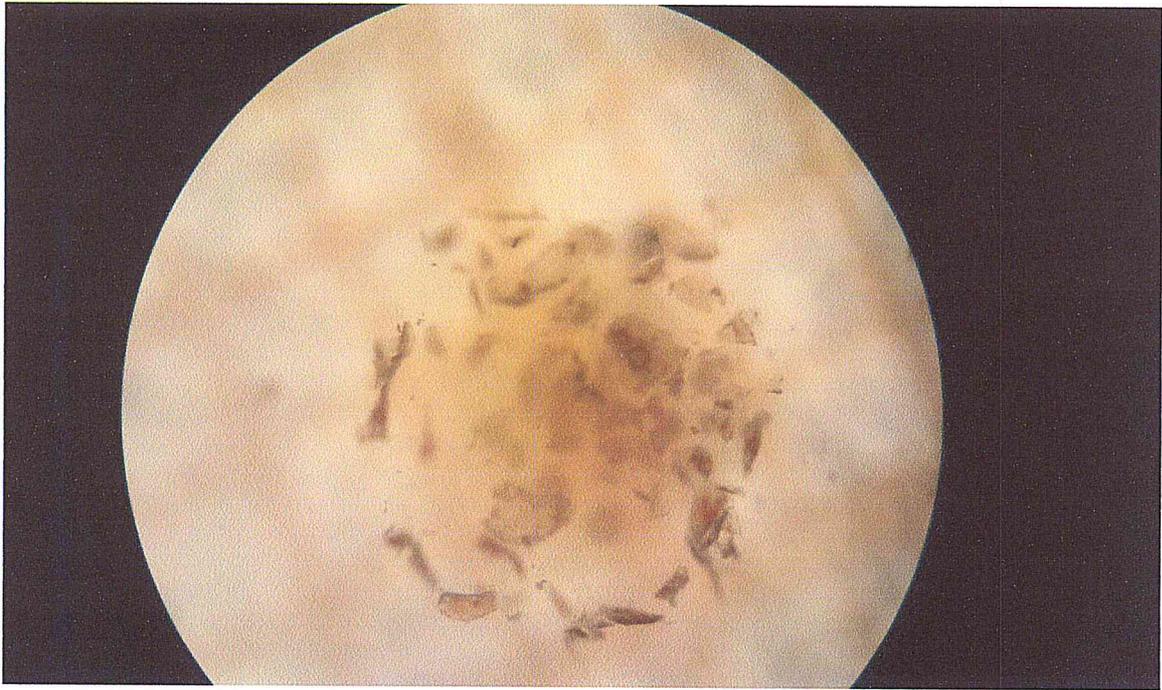
32	3.989 E-5	255	0	0.02	0.87	0.01	0.01	255	0.67	0.71
33	3.191 E-5	255	0	0.02	0.86	0.01	0.01	255	0.50	0.80
34	4.787 E-5	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	0.67	1
35	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
36	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
37	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
38	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
39	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1
40	2.393 E-5	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	0.68	0.86
41	2.393 E-5	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	0.68	0.86
42	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
43	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
44	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
45	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
46	1.596 E-5	255	0	0.02	0.79	0.01	0.00	255	0.38	0.67
47	3.191 E-5	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	1	1
48	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
49	3.191 E-5	255	0	0.02	0.70	0.01	0.01	255	0.63	0.62
50	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
51	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
52	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
53	2.393 E-5	255	0	0.02	0.64	0.01	0.01	255	0.37	0.67
54	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
55	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
56	3.191	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	1	1

	E-5									
57	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
58	1.356 E-4	255	0	0.04	0.91	0.02	0.03	255	0.52	0.85
59	3.191 E-5	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	1	1
60	2.393 E-5	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	0.68	0.86
61	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1
62	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
63	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1
64	2.553 E-4	255	0	0.06	0.80	0.03	0.07	255	0.59	0.82
65	2.393 E-5	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	0.68	0.86
66	1.197 E-4	255	0	0.04	0.80	0.02	0.03	255	0.46	0.81
67	3.191 E-5	255	0	0.03	0.46	0.01	0.01	255	0.50	0.57
68	7.180 E-5	255	0	0.03	1	0.01	0.02	255	0.75	0.86
69	4.787 E-5	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	0.77	0.80
70	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
71	2.313 E-4	255	0	0.06	0.78	0.02	0.06	255	0.56	0.83
72	0.00	255	0	0.13	0.85	0.05	0.29	255	0.64	0.90
73	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
74	1.994 E-4	255	0	0.06	0.71	0.03	0.05	255	0.55	0.78
75	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
76	3.430 E-4	255	0	0.09	0.58	0.04	0.09	255	0.46	0.75
77	0.00	255	0	0.14	0.73	0.05	0.29	255	0.65	0.85
78	2.712 E-4	255	0	0.08	0.60	0.03	0.07	255	0.31	0.77
79	2.313 E-4	255	0	0.09	0.35	0.03	0.06	255	0.42	0.60
80	7.260 E-4	255	0	0.11	0.82	0.04	0.19	255	0.64	0.90
81	5.425 E-4	255	0	0.09	0.90	0.03	0.14	255	0.76	0.85

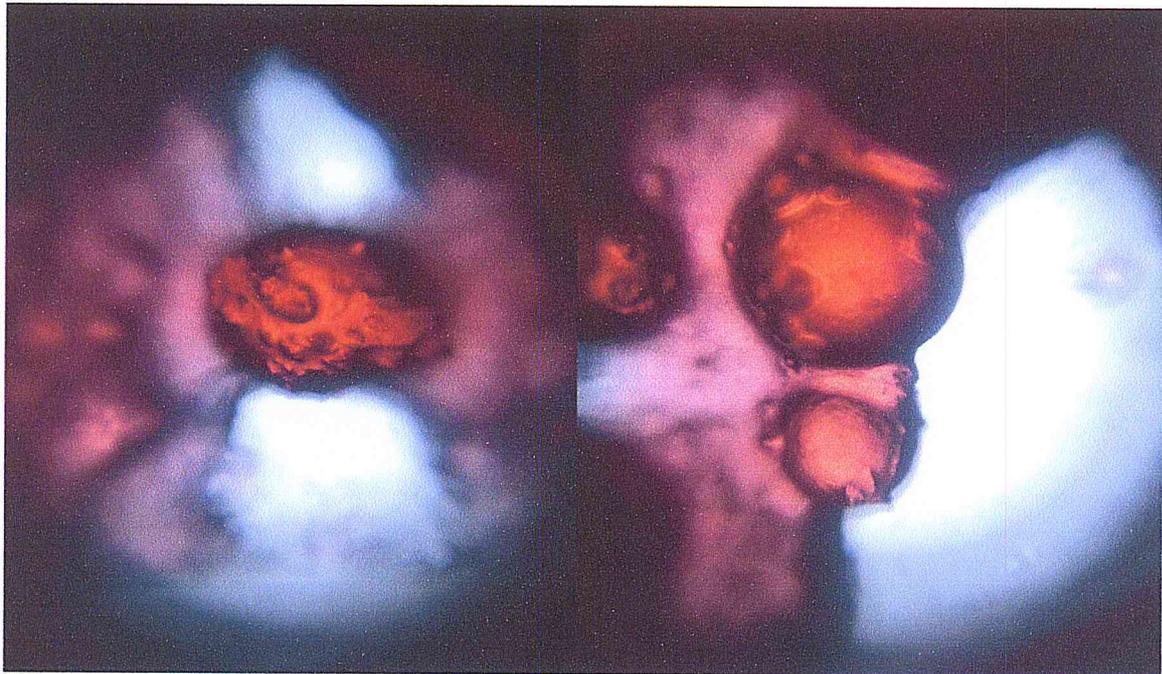
82	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
83	9.573 E-5	255	0	0.04	0.97	0.02	0.02	255	0.63	0.89
84	1.596 E-4	255	0	0.05	0.90	0.02	0.04	255	0.69	0.83
85	4.069 E-4	255	0	0.07	0.92	0.03	0.10	255	0.66	0.89
86	2.074 E-4	255	0	0.06	0.69	0.02	0.05	255	0.53	0.79
87	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
88	7.260 E-4	255	0	0.11	0.73	0.05	0.19	255	0.58	0.87
89	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
90	3.829 E-4	255	0	0.08	0.83	0.03	0.10	255	0.55	0.86
91	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
92	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1
93	0.00	255	0	0.35	0.37	0.09	0.89	255	0.83	0.76
94	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
95	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
96	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
97	1.276 E-4	255	0	0.05	0.56	0.02	0.03	255	0.72	0.70
98	1.596 E-5	255	0	0.01	1	0.01	0.00	255	0.50	1
99	7.978 E-6	255	0	0.01	1	0.00	0.00	255	1.00	1
100	2.393 E-5	255	0	0.02	1	0.01	0.01	255	0.68	0.86

IMAGES DE CAPSULES :





Reste d'une capsule après l'éclatement



MEB (FEI QUANTA 650)

