الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU

جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

ⵜⴰⵙⴷⴰⵡⵉⵜ ⵏ ⵎⵓⵍⵓⴷ ⵎⵄⵎⵔⵉ

Département de Pharmacie

N° D'ORDRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté et soutenu

Le 28 Octobre 2020

En vue de l'obtention du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Thème

Microparticules polymériques : optimisation de l'approche d'encapsulation et caractérisations physicochimiques

Réalisé par:

BELKHIR Dihya **BELASLI Samira** **BOUABID Faiza**

Encadré par :

Dr KESSAL Fetta

Composition du jury:

Pr CHADER Henni	Prof.	Faculté de médecine	Univ. D'Alger 1	Président
Pr AMELLAL-CHIBANE Hayet	Prof.		UMBB	Examinatrice
Dr KESSAL Fetta	MAHU	Faculté de médecine	UMMTO	Encadreure

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

En premier lieu nous remercions le bon Dieu le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la volonté et la patience pour finir ce travail, malgré toutes les difficultés.
Nous tenons à adresser nos sincères remerciements :

-À notre promotrice ***Dr KESSAL Fetta***, maitre assistante en Pharmacie Galénique, chargée de cours à l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Vous nous avez fait le grand honneur de nous confier ce travail et d'accepter de le diriger .Ceci est le fruit de vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre disponibilité et votre gentillesse méritent toute admiration. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

- À toute l'équipe du laboratoire de Pharmacie Galénique ***Mme HADJEM Zohra*** et ***Mme BOUZAR Wahiba***, pour l'aide qu'elles nous ont apporté durant notre travail.

- Au professeur ***MAMOU Marzouk***, maitre de conférences en chimie analytique à l'UMMTO ainsi qu'à toute l'équipe de laboratoire de chimie analytique, pour leur gentillesse et disponibilité.

- Au Professeur ***MEKACHER Redouane Lamine***, nous tenons à vous exprimer nos sincères reconnaissances pour votre aide.

- Au Professeur ***CHADER Henni***, Professeur en pharmacologie à la Faculté de médecine de l'Université d'Alger 1. Nous sommes très touchées par l'honneur que vous nous faites de bien vouloir présider le jury de notre soutenance. Nous vous prions d'accepter notre profond respect.

- Au Professeure **AM*ELLAL-CHIBANE Hayet***, Professeure de l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdès. Vous nous honorez par votre présence et nous vous remercions de bien vouloir siéger parmi notre jury de soutenance pour examiner ce travail.

- À tous ceux qui, de près ou de loin, ont apporté une aide quelconque afin de mener à bien ce projet.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

- *À mes chers parents qui m'ont soutenu tout au long de mes études et dans la réalisation de ce travail.* ***MAMAN****, merci d'être toujours là pour me réconforter et m'encourager, merci pour tout.* ***PAPA****, en qui je suis et je serais toujours reconnaissante d'avoir cru en moi, tu as toujours guidé mes pats, c'est grâce à toi que je suis la personne d'aujourd'hui ;*

- *À ma très chère sœur* ***SABRINA*** *et son mari* ***AHMED*** *et à mes chers frères* ***NASSIM****,* ***MOULOUD*** *et sa femme* ***YASMINE,*** *vous êtes mon soutien et mon appui ;*

- *Â mes adorables neveux* ***SAID*** *et* ***GHILES,*** *je vous aime tant ;*

- *Â ma tante* ***TAOUS*** *et ma cousine* ***NEDJMA****, merci pour votre soutien et votre aide précieuse ;*

- *Â mon grand père, que dieu te garde pour nous ;*

- *Â tous mes cher(e)s ami(e)s et à toutes les rencontres exceptionnelles qui ont embelli mes années d'étude.*

Dihya

Dédicaces

Je dédie ce travail :

- *A la mémoire de ma chère **maman** qui m'a donné naissance et qui est toujours vivante dans le cœur de chacun d'entre nous. Que Dieu l'accueille dans son vaste paradis ;*

- *A mon cher **père** qui m'a encouragé, soutenu et accompagné dans chaque étape de ma vie pour gravir le chemin de ma réussite ;*

- *A ma chère **belle-mère** qui représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement ;*

  Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour eux. Rien au monde ne vaut les efforts fournis pour mon éducation et mon bien être. Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi ;

- *A mes chers frères et sœurs : **Arezki**, **Abdelghani**, **Abderrahmane**, **Yacine**, **Fatiha**, **Samia** et **Ghania** qui m'ont assisté le long de ma vie et comblé d'amour, affection et encouragement.*

- *A ma chère **Dalila** et son mari **Amrane** qui ont été toujours présents pour moi ;*

- *A tous mes chers (e) ami(e)s et proches qui ont contribué à ma réussite de loin ou de prés.*

Samira

Dédicaces

Je dédie ce travail à ces personnes qui me sont si chers :

- *À mes très **chers parents,** aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuit pour mon éducation et mon bien être .Je n saurais exprimer ma gratitude seulement par des mots .Puisse Dieu, le très haut, vous accorde santé, bonté, et longue vie ;*

- *À mes adorables frères, **Fateh**, **Tarik** et **Fodil**, qui étaient toujours là pour moi et qui m'ont apportés leurs précieux soutiens ;*

- *À mes cousins et cousines **: Karima**, **Ania**, **Akli**, **Lyticia**, **ikram** et **Hamid** ;*

- *À mes chères amies ainsi qu'à tous mes camarades de la promotion pharmacie 2014/2020 ;*

- *À tous ceux qui, par un mot m'ont donné la force de continuer.*

Faiza

Table des Matières

Liste des abréviation vi

Liste des tableaux vii

Liste des figures viii

Glossaire viiii

Introduction générale et problématique 1

Partie Théorique

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIOPOLYMERES ET APPLICATIONS

1 Introduction 3

2 Biopolymères 3

2.1 Définition..... 3

2.2 Classification 3

2.3 Propriétés 5

2.3.1 Biodégradabilité..... 5

2.3.2 Biocompatibilité..... 5

2.3.3 Biorésorbabilité..... 5

3 Alginate de sodium 5

3.1 Bref historique 5

3.2 Sources de l'alginate 6

3.3 Extraction de l'alginate..... 6

3.4 Composition chimique 8

3.5 Propriétés physico-chimiques 10

3.5.1 Le poids moléculaire 10

3.5.2 La viscosité 10

3.5.3 Le rapport M/G 10

3.5.4 La stabilité 10

3.5.5 La solubilité 10

3.5.6 La gélification 11

3.5.7 Pouvoir rotatoire 11

4 Les applications 11

5 Biocompatibilité 12

CHAPITRE II : HYDROGEL D'ALGINATE

1 Généralités 13

2 Hydrogels d'alginate 15

2.1 Gels d'alginate ioniques 16

2.1.1 Modèle de la boîte à œufs (Egg-box model) 16

2.1.2 Etapes de formation des gels d'alginate de calcium 17

2.1.3 Les méthodes de préparation d'hydrogel d'alginate par réticulation ionique 18

2.2 Gels d'acide alginique 19

3 Applications des hydrogels d'alginate 20

CHAPITRE III : NOTIONS D'ENCAPSULATION

1 Historique 21

2 Définition..... 21

3 Intérêt de l'encapsulation : 22

4 Microparticules 22

4.1 Taille 23

4.2 Structure interne 23

5 Techniques d'encapsulation 24

5.1 En fonction de la nature du milieu dispersant utilisé lors de la préparation des capsules ……24

5.2 En fonction de la nature du procédé : 25

5.2.1 Procédés physico-chimiques : 25

5.2.2 Procédés chimiques : 27

5.2.3 Procédés mécaniques : 28

6 Domaines d'applications 30

6.1 Domaine agroalimentaire 30

6.2 Domaine du textile 30

6.3 En cosmétique 31

6.4 Domaine biomédical 31

6.5 Domaine pharmaceutique 31

CHAPITRE IV : BILLES A BASE D'ALGINATE

1 Influence des paramètres opératoires et de formulation sur la forme et la taille des billes 33

1.1 Diamètre de pointe d'extrusion 33

1.2 PH 34

1.3 Distance entre l'aiguille et la solution de réticulation 34

1.4 Vitesse d'agitation 34

1.5 Temps de gélification 35

1.6 Concentration de la solution d'alginate 35

1.7 Concentration de la solution de réticulation 36

1.8 Mécanisme de gélification 36

1.9 La composition chimique de la chaine d'alginate 37

2 Facteurs influençant la libération du principe actif 37

2.1 Le PH 37

2.2 Taille des billes 38

2.3 Utilisation d'un copolymère ou adjuvant 38

2.4 La concentration de la solution de réticulation 38

2.5 La nature de l'agent réticulant 39

2.6 Mécanisme de gélification 39

3 Evaluation des performances in vitro des billes d'alginate de calcium 40

4 Caractérisation physico-chimiques des billes d'alginate 40

4.1 Observation de la morphologie 40

4.2 Détermination de l'efficacité d'encapsulation 41

4.3 Étude FTIR 41

Partie Pratique

Introduction 43

PREPARATION ET CARACTERISATION DES PERLES D'ALGINATE DE CALCIUM

I. MATERIEL ET METHODES 44

I.1 Matériel..... 44

I.1.1 Réactifs..... 44

I.1.2 Equipements..... 44

I.2 Méthodes..... 44

II. Discussion des résultats 62

II.1 Sphéricité des billes.....62

II.2 Taille des billes..... 63

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

ADEME : Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie

ASTM: American Society for Testing and Materials

Db : Diamètre de la buse

Dm : Diamètre du microgel

E/H : Emulsion eau dans l'huile

E/H/E : Emulsion eau/huile/eau

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

GDL: D-glucono-d-lactone

H/E : Emulsion huile dans l'eau

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

KBr: Bromure de potassium

M: Concentration molaire

PA : Principe actif

PEC : Polyélectrolytes complexes

PK : Constante de dissociation

PKa G : Constante de dissociation de l'acide guluronique

PKa M : Constante de dissociation de l'acide mannuronique

RESS : Rapid expansion of supercritical solutions

SBP: Tampon phosphate standard

SFA: Supercritical fluid antisolvant

S.I: Swelling index

Trs/mn : tours par minute

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification des techniques d'encapsulation selon la nature des procédés. 25
Tableau 2: Temps de maturation selon les études antérieures 35
Tableau 3: Concentrations des solutions d'alginate et de chlorure de calcium des différents protocoles proposés pour la préparation des billes d'alginates. 46
Tableau 4: Paramètres des essais de la première étape. 47
Tableau 5: Clichés des billes humides obtenues avec les concentrations moyennes et maximales. 48
Tableau 6: Observation microscopique des billes séchées et diamètre moyen. 49
Tableau 7: Paramètres opératoires des formulations des essais de la deuxième étape. 52
Tableau 8: Clichés des billes humides obtenues avec les concentrations moyennes et maximales de la deuxième étape. 54
Tableau 9: Observation microscopique des billes séchées et diamètre moyen - deuxième étape. 55
Tableau 10: Paramètres opératoires et de formulation des essais de la troisième étape. 57
Tableau 11: Clichés des billes humides obtenues avec les essais - troisième étape 57
Tableau 12: Analyse granulométrique et aspect des billes obtenues des essais - troisième étape. 59
Tableau 13: Paramètres opératoires et de formulation des essais de l'étape N°4. 61
Tableau 14: Clichés des billes humides obtenues à l'issue des essais de la 4ème étape. 61
Tableau 15: Analyse granulométrique et aspect des billes obtenues des essais de la 4ème étape. 62
Tableau 16: tableau récapitulatif des différents essais préliminaires. 63

Listes des figures

Figure 1:Classification des biopolymères 4
Figure 2: Schéma de production d'alginate de sodium 8
Figure 3: Présentation d'une structure d'alginate. 9
Figure 4: Classification des hydrogels 14
Figure 5:Gélification de l'alginate par des ions calcium, selon le modèle « boite à œufs ». 16
Figure 6: Etapes de formation du gel Ca-Alginate. 17
Figure 7: Technique de gélation interne de l'alginate, utilisant le carbonate de calcium (CaCO3) comme agent de chélation et la D-glucono-8-lactone comme agent retardateur (GDL) 19
Figure 8: Morphologie des microparticules. 23
Figure 9: Morphologie des microparticules et coupe longitudinale, sous microscope électronique à balayage 24
Figure 10: Schéma de principe de congélation en goutte 29
Figure 11: évolution de la taille des billes d'alginate en fonction des concentrations C1 et C2 65

Glossaire

Désolvatation : est un phénomène qui résulte d'une faible affinité entre une molécule et un solvant dans lequel elle baigne. Dans un tel cas la molécule considérée cherche à fuir le solvant de façon à trouver un endroit qui minimise ses tensions avec celui-ci.

Gélification inverse : C'est une autre technique de gélification. Dans ce cas le calcium indispensable à la gélification est contenu dans la préparation que l'on veut sphérifier. La préparation, contenant le calcium, est versée dans un bain d'alginate de sodium. Le calcium sort de la préparation et forme un gel avec l'alginate de sodium. Une enveloppe gélifiée se forme alors en surface et s'épaissit vers l'extérieure.

Xérogel : est un solide formé à partir d'un gel en le séchant lentement à température ambiante avec un retrait sans entrave. Les xérogels conservent généralement une porosité élevée et une énorme surface, ainsi qu'une très petite taille de pores.

PARTIE THEORIQUE

INTRODUCTION GENERALE ET BROPLEMATIQUE

La mise au point de nouvelles préparations médicamenteuses nécessite un temps considérable et des coûts importants. Le recours à la recherche de nouvelles préparations faciles à mettre en œuvre constitue donc un outil de choix permettant d'assurer une amélioration notable à l'échelle de la recherche et du développement pharmaceutiques. La microencapsulation, qui est un ensemble de technologies permettant l'enrobage ou le piégeage de principes actifs sous forme liquide solide ou gazeuse, au sein de particules individualisées dont la taille s'échelonne entre quelques microns et quelques millimètres, offre des solutions technologiques à une multitude de problématiques industrielles. Elle apparaît aujourd'hui comme une option de choix, lorsqu'on a pour objectif de protéger la matière active, améliorer sa présentation ou maitriser son profil de libération.

En outre, nombreux sont désormais les secteurs qui attachent une importance particulière dans le choix des matières premières, non seulement du point de vue de leur innocuité mais également de leur impact sur l'environnement, c'est ainsi qu'une tendance se dirige vers l'utilisation de ressources renouvelables telles que la biomasse animale et végétale.
Il y a plus de soixante ans, des chercheurs et des industriels joignent leurs efforts pour exploiter les fonctionnalités des biopolymères dans le domaine de la microencapsulation au profit de l'innovation dans différents secteurs. En effet, Le nombre de publications et brevets recensés dans ce domaine et utilisant en particulier les biopolymères est en nombre croissant depuis vingt ans.

L'étude entreprise dans ce manuscrit comporte une gélification ionique en utilisant un biopolymère, extrait à partir d'algues brunes : l'alginate de sodium. Cette technique est la plus simple et largement utilisée dans la fabrication de microparticules.
Malgré de nombreuses études sur ce sujet, les étapes du procédé d'encapsulation conduisant à la formation des microcapsules restent peu détaillées, il est donc utile d'approfondir les études sur ce point. Les objectifs de ce travail de recherche sont par conséquent :

- Screening des variables de formulations des microparticules et paramètres opératoires ;
- Mettre au point des billes polymériques ;
- Caractérisation physicochimique des perles obtenues.

Ce manuscrit se décompose de quatre chapitres, clôturé classiquement par une conclusion :

Une recherche bibliographique sur les biopolymères en général et l'alginate de sodium en particulier (Chapitre I). Les hydrogels à base d'alginates sont également abordés (Chapitre II), ainsi que les différentes techniques d'encapsulation (Chapitre III), plus précisément la technique de gélification tout en faisant référence à certains travaux antérieurs et leurs résultats (Chapitre IV).

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIOPOLYMERES ET APPLICATIONS

1 Introduction

Un matériau macromoléculaire ou polymère est un enchaînement covalent de motifs simples appelés monomères, qui peuvent être identiques (homopolymère) ou de nature différente (copolymère). Le mot « polymère » vient du grec « poly » signifiant plusieurs et « meros » : parties ou unités. La cohésion des atomes sur une même chaîne est assurée par des liaisons chimiques fortes, tandis que les liaisons inter chaînes sont plus faibles. La présence de ces deux types de liaisons apporte aux matériaux polymères des propriétés physicochimiques particulières [1].

Il existe différents types de polymères **:** les polymères naturels obtenus à partir de sources végétales ou animales auxquels appartiennent toutes les familles de polysaccharides (cellulose, amidon…) et de protéines (laine, soie...), les polymères semi-synthétiques (régénérés) issus de modifications chimiques des macromolécules naturelles : exemple les matières plastiques à base de caséine, les plastiques à base de cellulose. Et enfin, les polymères synthétiques produits de monomères qui n'existent pas dans la nature ; cependant, on peut remarquer que les structures réalisées par la synthèse sont souvent proches de celles des polymères naturels [2].

2 Biopolymères

2.1 Définition

Les biopolymères, selon l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UIPAC), se définissent comme étant des biomacromolécules synthétisées par des organismes vivants et selon l'Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie (ADEME), ce sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables : plantes, algues ou animaux [3]. Ils peuvent être obtenus également par des procédés industriels et/ou de synthèse (polymérisation), à partir de monomères naturels ou identiques aux naturels.

2.2 Classification

Les biopolymères peuvent être classés selon leurs origines en trois familles [4] :

- Les biopolymères synthétisés à partir de bio-monomères issus de ressources renouvelables.
- Les biopolymères produits par des micro-organismes.

- Les biopolymères extraits de la biomasse comme les polysaccharides et les protéines, qui sont les plus utilisés dans le domaine médical :

➢ **Les protéines**

Les protéines sont des monomères liés par des liaisons peptidiques, d'où la formation d'une fonction amide entre la fonction carboxylique d'un acide aminé et la fonction amine d'un deuxième.

La plupart des protéines utilisées comme biopolymères le sont à l'état naturel, telles que la laine et la soie ou issues des plantes oléagineuses (colza, tournesol, soya), des protéagineux (pois, fèveroles), du son de céréales (gluten) ou de tissus animaux (collagène, gélatine) mais aussi de produits animaux (caséine) [5].

L'inconvénient principal de leur utilisation est leur sensibilité à l'humidité [5].

➢ **Les polysaccharides**

Les polysaccharides sont des macromolécules synthétisées par des organismes vivants entrant dans la composition de la plupart des cellules (microbiennes, animales et végétales). Ils peuvent être classés en deux grandes catégories selon leur fonction dans la cellule, à savoir les polysaccharides de réserve et les polysaccharides de structure [6].

Parmi les polysaccharides les plus connus citons : l'alginate, l'amidon, la cellulose, la chitine, les hémicelluloses et les pectines [6].

Cette classification est illustrée dans la figure N°01.

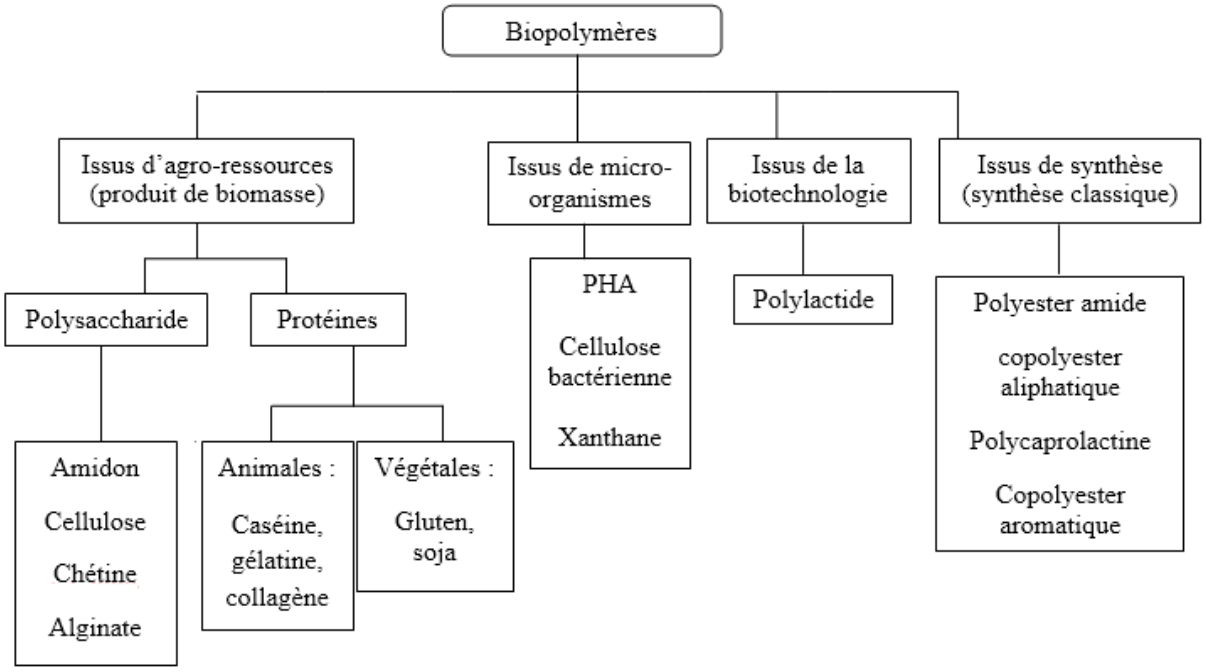


Figure N°1 : Classification des biopolymères [7].

2.3 Propriétés

Les biopolymères présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications médicales ; citons :

2.3.1 Biodégradabilité

La biodégradabilité est un processus naturel de décomposition de la matière organique, elle permet d'apprécier l'impact d'un produit organique sur l'environnement [8].

Les biopolymères sont synthétisés dans les plantes ou les animaux par voie enzymatique et sont de ce fait dégradés rapidement dans un milieu biologique. La biodégradabilité de la plupart des biopolymères est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides, conduisant à la formation de molécules simples et de fragments de plus petite taille [9].

2.3.2 Biocompatibilité

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. Les biopolymères par leur origine naturelle, remplissent logiquement cette fonction [8,9].

2.3.3 Biorésorbabilité

La biorésorbabilité est la capacité à se dégrader naturellement dans le corps humain, c'est une propriété recherchée dans les applications médicales. Les biopolymères ont cette aptitude et se dégradent naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse enzymatique et libèrent des molécules assimilables et non toxiques [4, 9].

3 Alginate de sodium

3.1 Bref historique

L'acide alginique a été découvert pour la première fois par le chimiste anglais E.C. Stanford en 1881. Les premiers brevets concernant l'obtention d'alginates à partir d'algues ont été publiés dans les années 1930 [10]. Lors de ses travaux sur l'extraction de l'iode à partir des algues brunes, il découvrit une substance aux nombreuses et intéressantes propriétés, qu'il appela « algine » [11]. Plus tard, en 1886, il l'identifia comme acide et le rebaptisa acide alginique. Il en conçut quelques applications industrielles, notamment dans le domaine

alimentaire pour épaissir et gélifier des solutions et ce n'est qu'à partir des années 1930 que la première structure d'acide alginique fut proposée par Nelson.

La production industrielle des alginates s'est développée ensuite aux Etats Unis d'Amérique (USA), dans les années 1930. La seconde guerre mondiale a largement favorisé le développement et l'utilisation des alginates dans divers domaines.

Aujourd'hui, l'alginate est reconnu comme un des polymères les plus variés pour son exploitation industrielle, notamment dans l'industrie pharmaceutique [12].

3.2 Sources de l'alginate

L'acide alginique, également appelé algine ou alginate, est un polysaccharide anionique présent naturellement dans les algues brunes, et certaines espèces de bactéries (*Azotobacter* et *Pseudomonas*) et contenant jusqu'à 40% du poids sec selon les espèces d'algues [13-15].

L'alginate se trouve principalement dans le mucilage intercellulaire et les cellules des algues brunes sous forme de sels de calcium, de sodium et de magnésium d'acide alginique, offrant flexibilité et résistance mécanique à la plante [10, 16].

Malgré les nombreuses études qui ont montré que ces polymères peuvent être obtenus par fermentation microbienne et modification post-polymérisation des molécules d'alginate, tous les alginates commercialisés sont actuellement obtenus à partir de sources d'algues [10]. Les espèces d'algues brunes, les plus exploitées à des fins industrielles appartiennent à l'ordre des Laminariales, avec *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* et *Macrocystis pyrifera* [17]. Celles-ci sont récoltées sur les côtes rocheuses des États-Unis, en Grande Bretagne, en France (Bretagne), au Japon, en Chine ou encore en Norvège [18].

3.3 Extraction de l'alginate

L'alginate est extrait par précipitation et solubilisation, selon un procédé d'échange d'ions [19]. Son obtention à partir des algues est un processus en plusieurs étapes : Les algues sont dans un premier temps lavées avec un solvant organique et de l'eau (de façon à retirer d'éventuelles impuretés [12]), puis séchées et broyées finement [20]. Après un prétraitement acide qui semble augmenter le rendement en alginate et réduire la teneur en phénols [21], l'alginate est solubilisé avec une solution alcaline de carbonate disodique (Na_2CO_3) (figure N°2). Ensuite l'extrait brut est concentré, dialysé contre l'eau puis lyophilisé ou précipité avec

de l'éthanol (par abaissement de la constante diélectrique [21]). L'acidification ou le traitement avec les ions calcium (Ca^{2+}) peut remplacer cette dernière [20].

La dépigmentation de la poudre d'algues avant l'extraction est essentielle pour réduire la décoloration brune du produit final. Après la dépigmentation, la poudre d'algues est trempée dans du formaldéhyde ou du formaldéhyde plus de l'éthanol pour faciliter la réticulation des composés phénoliques, les rendant de ce fait insolubles dans le solvant d'extraction [21].

Cependant l'inconvénient majeur de l'alginate est la difficulté de son isolement des algues contaminées, ce qui conduit à la présence d'impuretés mitogènes, cytotoxiques et induisant une apoptose dans le matériau final traité. Bien que de telles molécules puissent être éliminées par d'autres étapes de purification, mais dans ce cas il s'agit d'un processus long et coûteux [22].

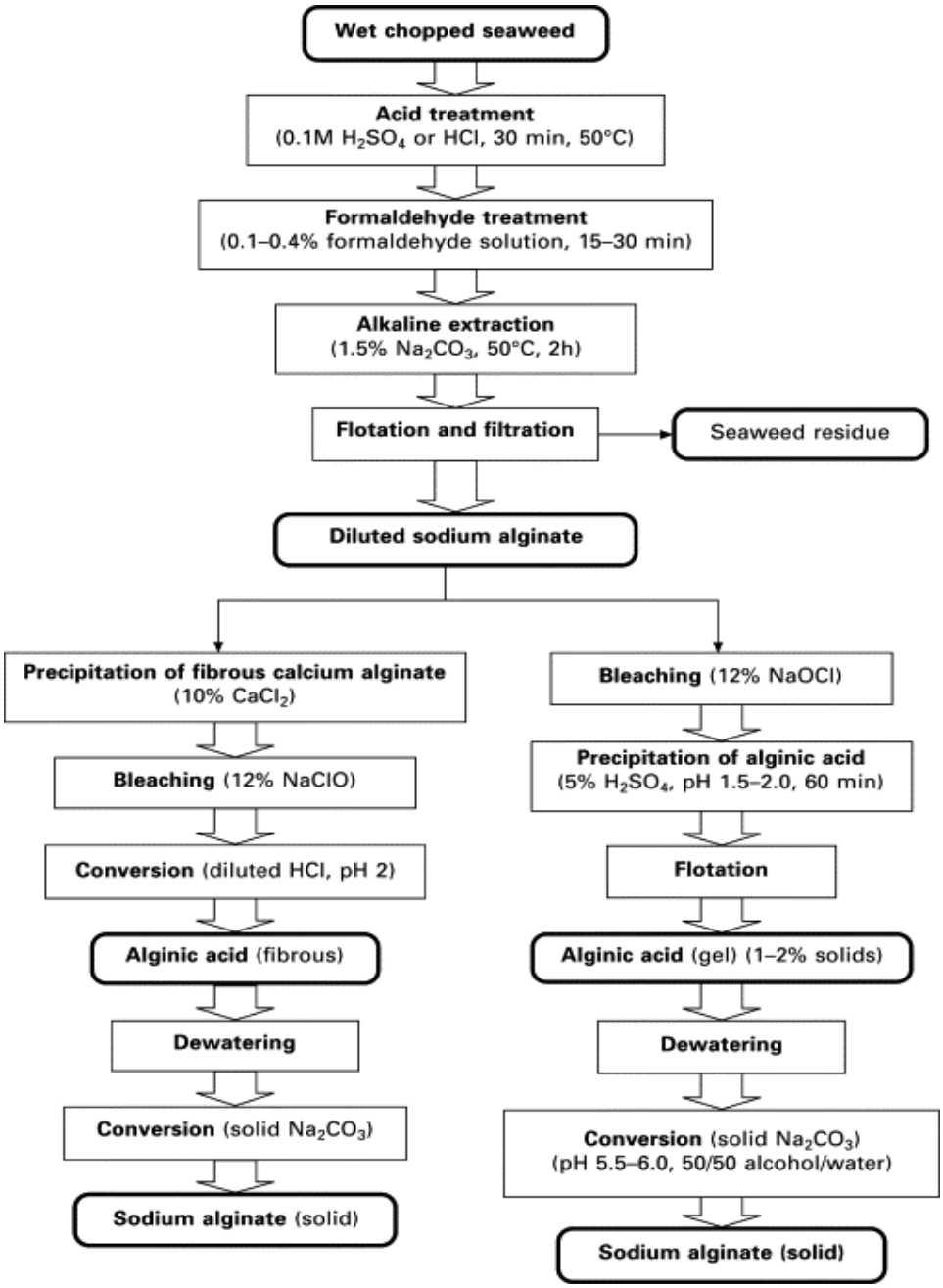


Figure N°2 : Schéma de production d'alginate de sodium [10].

3.4 Composition chimique

Les alginates sont des copolymères, linéaires, non ramifiés, formés par l'enchainement de deux types de monomères : l'acide β-D-mannuronique (M) et son épimère en C5 l'acide α-L-guluronique (G). Ces acides uroniques forment des blocs M liés par des liaisons glycosidiques de type β (1→4) (liens diéquatoriaux), des blocs G liés en α (1→4) (liaisons diaxiales) ou des zones alternées ou irrégulières GM [14, 23] (figure N°3). Ces blocs peuvent être de longueurs

variables [24]. En raison de la liaison diaxiale, les blocs G (GG) sont plus rigides que les blocs alternés (GM) et donc plus solubles à un pH inférieur [23].

Il est généralement constaté que les alginates à haute teneur en blocs G conviennent parfaitement à une application biomédicale en raison de la facilité de traitement et de la faible immunogénicité dans le corps. Par conséquent, la teneur en blocs G et M est un facteur crucial qui détermine les propriétés et les applications de l'alginate résultant [23].

Les études par FTIR sur l'acide alginique expliquent que les alginates contiennent de nombreux groupements hydroxyles libres (−OH) et carboxyles (−COOH) permettant de former des liaisons hydrogènes intramoléculaires. Les alginates obtenus par les algues contiennent parfois des groupes sulfates, tandis que ceux extraits de certaines bactéries comme A. vinelandii contiennent des groupements acétyles [21]. Seuls les alginates produits par A. vinelandii ont une structure de copolymère similaire à celle extraite des espèces d'algues, tandis que l'alginate synthétisé à partir de Pseudomonas sp n'a pas de bloc G [14].

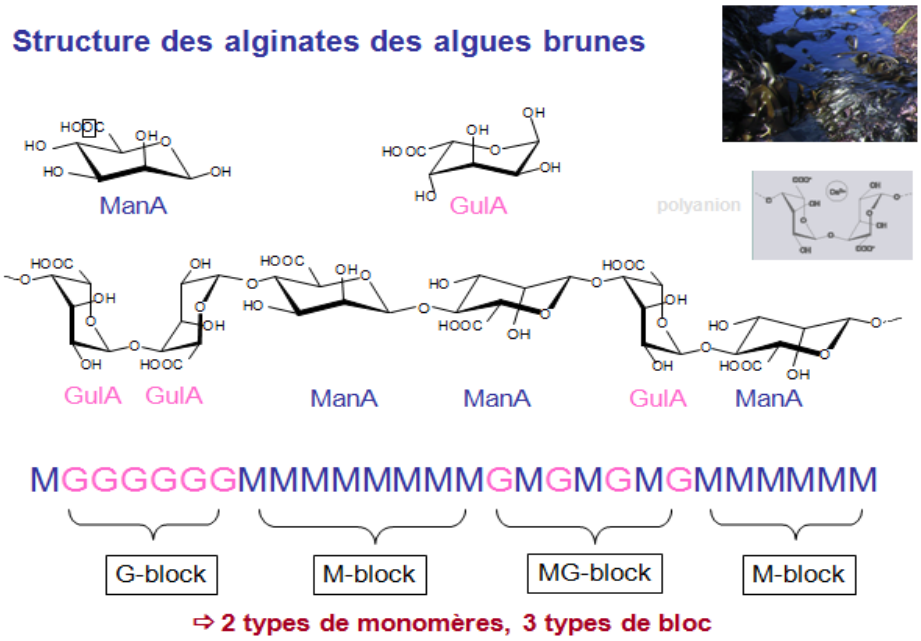


Figure N°3 : Présentation d'une structure d'alginate [12].

Ces différentes conformations entraînent des propriétés structurales particulières pour les différents blocs. Les blocs M prennent une forme de ruban plat du fait de la linéarité des dimères MM, alors que les blocs G ont une forme de ruban plissé et les dimères GG ayant une forme hémisphérique [25]. Les blocs MG sont caractérisés par une alternance entre des liaisons axiales-équatoriales et des liaisons équatoriales-axiales responsables de leur grande flexibilité comparée aux autres blocs [26].

3.5 Propriétés physico-chimiques

A l'état pur, l'acide alginique est une poudre blanche, inodore et sans saveur [27]. Comme tous les polymères, l'alginate est caractérisé par différents paramètres.

3.5.1 Le poids moléculaire

Le poids moléculaire des alginates de sodium commercialisés varie entre 32 000 et 400 000 g/mol [28].

3.5.2 La viscosité

La viscosité des solutions d'alginate est presque constante dans un pH compris entre 6 et 8, elle augmente en fur et à mesure que le pH diminue jusqu'à obtention d'une viscosité maximale à pH allant de 3 à 3,5, cela est dût à la protonation des groupes carboxylates dans le squelette d'alginate, formant des liaisons hydrogènes [29,30].

3.5.3 Le rapport M/G

Le rapport acide mannuronique/acide guluronique varie de 0,5 à 2,5 [27].Ceci dépend de la source d'alginate, son emplacement, la saison de la collecte et la technique d'extraction [20].

3.5.4 La stabilité

L'alginate de sodium est hygroscopique ; par conséquent, la teneur en humidité s'équilibre rapidement avec l'humidité relative de l'eau [31]. La poudre d'alginate de sodium pur, stockée dans un endroit sec et frais, loin de toute lumière du soleil, peut avoir une stabilité de plusieurs mois. Tandis qu'à basse températures, elle peut être gardée plusieurs années sans réduction significative de son poids moléculaire [12].

3.5.5 La solubilité

L'alginate de sodium est soluble dans l'eau froide formant une solution colloïdale visqueuse. Il est insoluble dans l'alcool et dans les solutions hydro-alcooliques dans lesquels la teneur en alcool est supérieure à 30 % (m/m). Il est également insoluble dans les autres types de solvants organiques (chloroforme, éther…) [31].

La solubilité de l'alginate dépend de deux paramètres principaux :

- **pH du solvant** : Il détermine la présence de charges électrostatiques au niveau des acides uroniques. Les valeurs de pKa déterminées des deux résidus composant l'alginate à savoir l'acide β-D-mannuronique et α-L- guluronique sont de 3,3 et 3,6,

respectivement. Le pKa final de l'alginate diffère faiblement du pKa des deux acides uroniques qui le compose [31]. La solubilité des alginates en solution aqueuse dépend donc du degré d'ionisation des groupements carboxyliques ; ainsi, les alginates sont parfaitement solubles dans l'eau lorsqu'ils sont sous forme carboxylates associées à des cations monovalents. Par contre, l'acide alginique est insoluble dans les solutions aqueuses, il précipite à un pH inférieur à 3,5 [3]. La sensibilité des alginates vis-à-vis du pH de la solution dépend de la composition chimique et de la séquence des blocs, c'est ainsi que ceux 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) [26,32].

- **La force ionique du solvant :** 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 [26]. Elle agit par la présence de groupements anioniques au niveau du polysaccharide et peut modifier la conformation moléculaire [31]. De plus, lorsque la force ionique du solvant augmente, la vitesse de solubilisation de l'alginate diminue fortement. Ainsi, si l'on prévoit d'utiliser les alginates dans un milieu dont la force ionique est non-nulle, alors le polymère devrait être solubilisé dans l'eau pure en premier avant que les espèces ioniques ne soient ajoutées sous agitation [33].

3.5.6 La gélification

La propriété la plus importante des alginates est leur capacité à former des hydrogels en présence de cations divalents (tels que Ca^{2+} ou Ba^{2+}) qui interagissent avec les groupes carboxyliques, présents dans le squelette d'alginate pour former des réticulations ioniques [22].

3.5.7 Pouvoir rotatoire

L'acide alginique, avec une constante de dissociation $pK=20.10^{-5}$, se situe entre l'acide acétique le plus faible ($pK=1,15.10^{-5}$) et l'acide monochloroacétique le plus fort ($pK=l,75.10^{-3}$). Il dérive la lumière à droite avec un angle de rotation a = -139° [27].

4 Les applications

Les alginates trouvent des applications dans de nombreux domaines et de nombreuses industries. Ils sont utilisés dans l'industrie textile, alimentaire, dans l'imprimerie… etc.

Toutes ces industries y trouvent une propriété commune : la capacité de gélification de ce produit naturel qui est très bien perçue actuellement dans notre société [34].

Le milieu médical fait aussi partie des consommateurs d'alginates. 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®. Ces implants permettent le traitement du glaucome. Les chirurgiens-dentistes se servent également de l'alginate pour effectuer des moulages dentaires en vue de la prise d'empreintes. Ces produits à base d'alginates sont faciles à gérer à la fois pour le dentiste et le patient car elles durcissent rapidement à température ambiante et sont rentables. Par ailleurs, les propriétés adoucissantes, filmogènes, hydratantes font des alginates de bons composés pour les produits de beauté. En effet, ils ont la capacité de former des préparations qui s'étalent bien sur la peau et sont agréables au toucher [14-34].

Dans le domaine pharmaceutique, les alginates sont employés pour trois propriétés différentes. Ils constituent d'abord le principe actif de pansements cutanés et gastriques. Lorsque l'alginate fusionne avec les exsudats de la plaie, un échange d'ions se produit entre les ions calcium de l'alginate et les ions sodium dans le sang conduisant à la formation d'un gel à la surface de la plaie. Ce gel absorbe l'humidité et conserve un environnement humide approprié qui stimule à la fois l'activation des plaquettes et la coagulation sanguine par rapport au simple contact avec de la gaze traditionnelle. Les alginates sont par ailleurs présents dans de nombreux médicaments en tant qu'excipients, où ils agissent comme agents de viscosité et stabilisants. Enfin, des technologies comme la microencapsulation emploient l'alginate en vue de modifier la cinétique de libération du ou des principes actifs encapsulés [34, 35].

5 Biocompatibilité

Bien que la biocompatibilité de l'alginate ait été largement évaluée in vitro et in vivo, il existe toujours des débats concernant l'impact de la composition en alginate, probablement que cela est dû à la différence de pureté existante entre les alginates étudiés. Par exemple, il a été signalé que les alginates à une teneur élevée en M étaient immunogènes et environ 10 fois plus puissants pour induire la production de cytokines par rapport aux alginates à haute teneur en G.

Par ailleurs, d'autres chercheurs ont trouvé une faible ou absence d'immunoréponse autour des implants d'alginate. La réponse immunogène au site d'injection ou à l'implantation pourrait

être attribuée aux diverses impuretés restantes dans l'alginate lors de son extraction telles que les métaux lourds, les endotoxines, les protéines, et les composés polyphénoliques. En plus, l'alginate purifié n'a pas induit de réaction importante lors de l'implantation chez les animaux. De même, aucune réponse inflammatoire significative n'a été observée chez la souris lors d'injection d'un gel formé à partir de l'alginate hautement purifié par voie sous-cutanée [29].

CHAPITRE II : HYDROGELS D’ALGINATE

1 Généralités

Le phénomène de gélification est la conséquence de l'association intermoléculaire de polymères. L'hydrogel est un type particulier de gel formé par un réseau tridimensionnel de polymères hydrophiles dans lequel le solvant de gonflement est l'eau. Sa principale caractéristique est sa capacité à se gonfler en présence d'eau et à se contracter lorsque celle-ci s'évapore [36, 37]. Les polymères qui composent la structure sont d'origine naturelle ou synthétique. Ils peuvent être réticulés par des liaisons pouvant être physiques ou chimiques [38]. Ces formes ont la capacité d'absorber et de retenir de grandes quantités d'eau, allant de 10 à 20 % jusqu'à des milliers de fois leur poids sec sans subir de dissolution du polymère [39, 40]. Cette capacité d'absorption rend les hydrogels flexibles et similaires aux tissus mous biologiques [41].

Leur classification peut se faire selon les différents critères montrés sur la Figure N°4, par exemple, la source du polymère (naturel ou synthétique), la nature de la réticulation (physique ou chimique) ou encore les propriétés physiques.

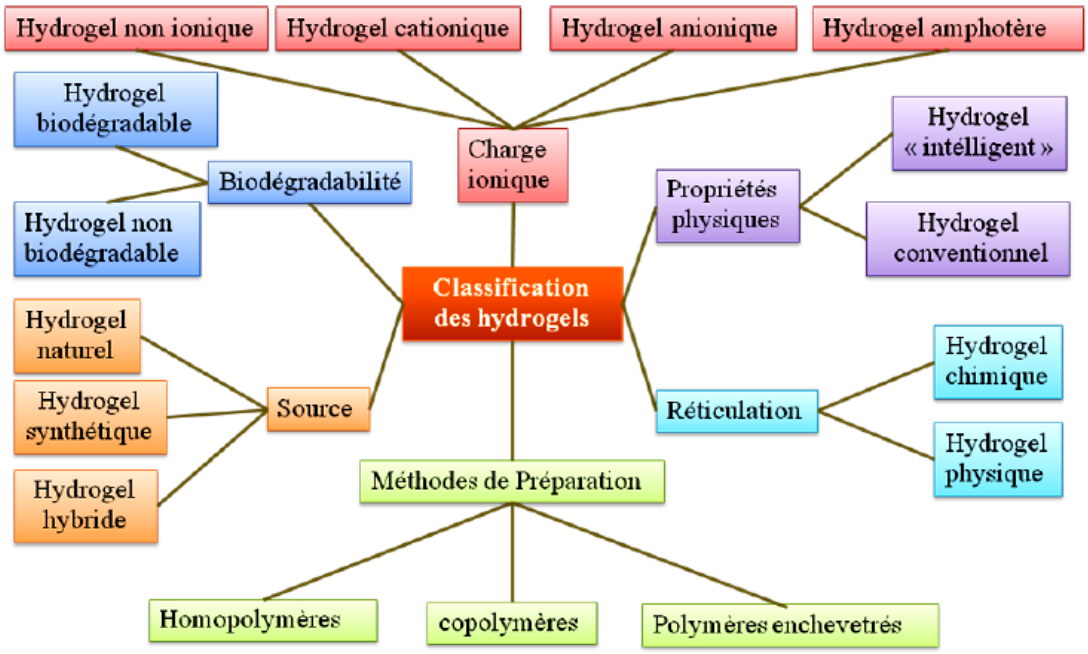


Figure N°4 : Classification des hydrogels [42].

Néanmoins, la classification la plus courante distingue deux grandes familles : « les hydrogels chimiques » et « les hydrogels physiques », aussi désignés sous les termes respectifs de « gels irréversibles » et « gels réversibles ».

La différence entre ces deux familles réside dans la nature des liaisons qui constituent les réticulations, en effet :

- **Les hydrogels chimiques** ou dits « permanents », possèdent des réseaux réticulés formés par covalence (remplacement de la liaison hydrogène par une liaison covalente plus forte et plus stable) [43]. Ils atteignent un état de gonflement d'équilibre qui dépend du paramètre d'interaction polymère-eau et de la densité de la réticulation. De par le caractère irréversible de la liaison covalente, ces hydrogels ne sont ni thermoréversibles, ni solvoréversibles [44].
- **Les hydrogels physiques** : résultent de l'enchevêtrement de chaînes macromoléculaires en solution, formant des zones de jonctions réversibles [45]. Généralement, il s'agit de gels dans lesquels les chaînes macromoléculaires sont réticulées entre elles par l'intermédiaire d'interactions ioniques, de liaisons hydrogène ou encore d'interactions hydrophobes [43, 45]. La réticulation peut être provoquée par des conditions physiques ou chimiques telles que la température, la contrainte mécanique, le pH ou la force ionique [41]. Ils sont réputés plus hétérogènes que les hydrogels chimiques à cause de la présence de larges domaines d'enchevêtrement de chaînes. Un cas particulier est celui des polyélectrolytes qui, combinés avec un ion multivalent de charge opposée, peuvent former un hydrogel physique connu sous le nom « d'hydrogel ionotropique » et dont l'alginate de calcium constitue un exemple [33,46].

2 Hydrogels d'alginate

Les propriétés de gélification des alginates sont basées sur leur affinité pour certains ions et leur capacité à se lier à ces ions de façon sélective et coopérative**.** Comparé à d'autres polysaccharides tels que la gélatine ou l'agar, l'alginate est capable de former un gel indépendamment de la température [47,48].

La formation de gels d'alginate peut être obtenue par deux méthodes : la réticulation ionique avec des cations (gels ioniques) ou la précipitation acide (gels acides) [48].

2.1 Gels d'alginate ioniques

La principale caractéristique de l'alginate est sa gélification avec des cations bivalents ou trivalents, dite gélification ionotropique. 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 [26, 36, 49]. Mais on obtient aussi des gels avec les cations divalents Ba^{2+}, Co^{2+} et Cu^{2+} ou les cations trivalents Al^{3+} et Fe^{3+}. Ces derniers permettent de préparer in situ des oxydes de fer magnétiques. L'affinité de l'alginate vis-à-vis des ions divalents diminue selon l'ordre suivant : $Pb^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Ba^{2+} > Sr^{2+} > Ca^{2+} > Co^{2+}$, Ni^{2+}, $Zn^{2+} > Mn^{2+}$ [29, 31, 36].

Un travail relativement récent a démontré que les ions Mg^{2+}, longtemps considérés comme des ions non gélifiants ou ayant une faible affinité pour l'alginate, forment un hydrogel mais avec une cinétique de gélification relativement lente (2-3 heures) et dépendant fortement de la structure chimique de l'alginate [31].

2.1.1 Modèle de la boîte à œufs (Egg-box model)

Pour former un gel ionotropique d'alginate, les cations se logent dans les cavités des blocs G de deux chaînes d'alginate voisines. Cette association de blocs G, appelée structure en « boîte à œufs », donne lieu à la formation d'un réseau à trois dimensions, et donc d'un hydrogel physique. Dans cette structure, les segments M-G ne participent pas directement au phénomène de gélification, mais servent simplement de lien entre les chaînes [36]. Un schéma de la gélification ionotropique de l'alginate est représenté sur la figure N°5.

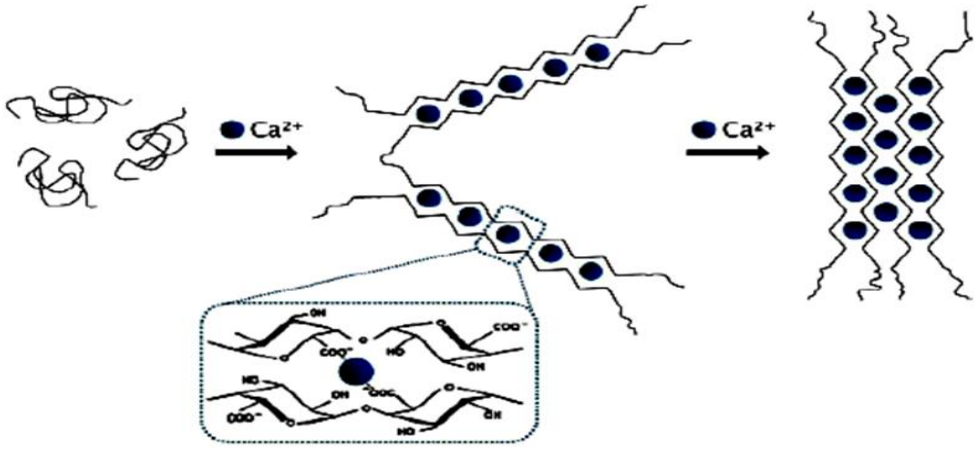


Figure N°5 : Gélification de l'alginate par des ions calcium, selon le modèle « boite à œufs » [42].

Selon le modèle, deux unités G de deux chaînes d'alginate différentes se lient au même cation divalent et forment une jonction. La sélectivité du phénomène tient à la géométrie particulière de la liaison diaxiale entre les unités G qui forment une cavité permettant une chélation

efficace du cation. Les autres types de liaison sur la chaîne (diéquatorial et équatorial-axial), ne permettent pas une telle affinité avec les cations [33, 50]. Les ions calcium sont alors retenus dans une sorte de cavité et interagissent avec les fonctions carboxylates et les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyles (Figure N°6) [44].

La formation d'une zone de jonction entre les chaînes d'alginate, via le contre-ion calcium, aboutit à la formation d'un hydrogel. La formation de ces zones de jonction « multimères » entre les chaînes est un procédé coopératif avec [44] :

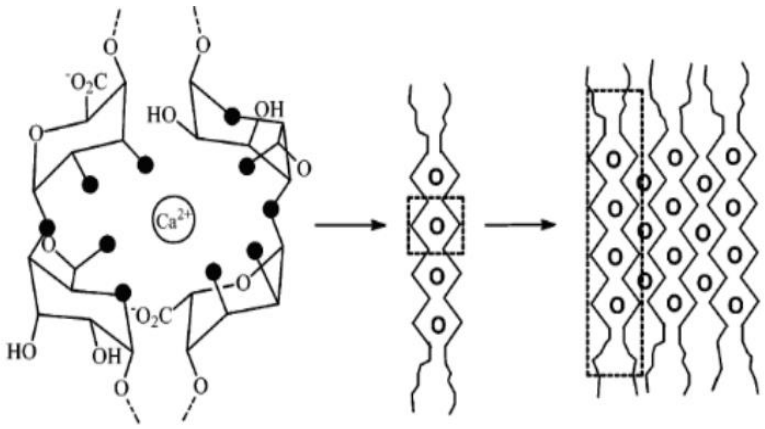
- Une liaison instable entre le premier ion et la chaîne d'alginate.
- Des liaisons plus stables pour les ions suivants.

Ce phénomène aboutit à une jonction stable pour un minimum de 8 à 20 unités G consécutives [44, 48].

2.1.2 Etapes de formation des gels d'alginate de calcium

Il existe trois étapes consécutives qui mènent à l'association du calcium à l'alginate (figure N°6). La première étape est l'interaction des ions calcium avec les résidus mannuroniques et guluroniques pour former un monocomplexe. La deuxième étape consiste en la propagation et la formation de dimères de type « boîte à œufs » via l'association des monocomplexes, impliquant préférentiellement les résidus guluroniques. La troisième et dernière étape est l'association latérale des dimères « boîte à œufs », qui forment ainsi des multimères. [33, 44].

- Etape 1 : Coordination des ions Ca^{2+} au sein d'une cavité créée par une paire de séquences guluronnates le long des chaînes d'alginate ;
- Etape 2 : Dimère « boîte à œufs » ;
- Etape 3 : Multimères « boîte à œufs » associés latéralement.



● Les atomes d'oxygène potentiellement impliqués dans la coordination avec l'ion calcium
○ Les ions calcium

Figure N°6 : Etapes de formation du gel Ca-Alginate [44].

Les propriétés mécaniques de l'hydrogel obtenu dépendent du ratio entre les blocs M et les blocs G (ratio M/G) qui compose l'alginate. En effet, les alginates composés d'un ratio (M/G) élevé forment des gels mous et élastiques, alors que les alginates avec un ratio (M/G) faible donnent des gels durs et cassants [31].

2.1.3 Les méthodes de préparation d'hydrogel d'alginate par réticulation ionique

La formation de particules de gel peut se faire par gélification externe ou interne. Les méthodes diffèrent dans la manière dont les ions de réticulation sont introduits dans le polymère d'alginate.

- **Gélification externe ou par diffusion**

C'est la technique la plus simple, le procédé consiste à verser goutte à goutte une solution d'alginate dans une solution contenant de calcium libre. 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 goutte [51, 52]. La méthode de diffusion produit un gel d'alginate inhomogène avec un gradient élevé de cations et d'alginate près de la surface du gel, qui diminue à mesure qu'il s'approche du noyau. Lorsque la formation du gel commence à partir de la surface extérieure, les cations diffusent continuellement de la périphérie vers le centre de la particule [48].

- **Gélification interne ou in situ**

Dans cette méthode, l'exposition de l'alginate aux cations est contrôlée pour obtenir une distribution homogène de l'alginate du calcium dans l'hydrogel. La gélification se produit simultanément à plusieurs endroits (à l'intérieur et à l'extérieur des particules d'hydrogel), pour donner une structure d'hydrogel homogène. Les formes inactives de calcium, telles que le carbonate de calcium ($CaCO_3$) ou le sulfate de calcium ($CaSO_4$), sont mélangées à une solution d'alginate de sodium et extrudées dans de l'huile. Le mélange est ensuite acidifié pour libérer le calcium de ces composés. L'acidification peut être obtenue soit immédiatement, par addition directe d'un acide minéral tel que l'acide acétique glacial, soit de manière contrôlée en utilisant une lactone à hydrolyse lente telle que la D-glucono-d-lactone GDL (figure N°7) [48, 53].

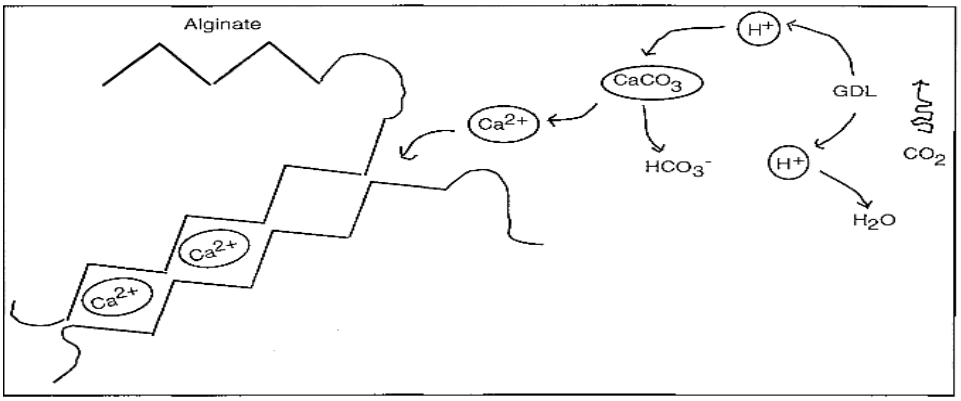


Figure N°7 : Technique de gélation interne de l'alginate, utilisant le carbonate de calcium ($CaCO_3$) comme agent de chélation et la D-glucono-8-lactone comme agent retardateur **(GDL)** [53].

2.2 Gels d'acide alginique

Les gels d'acide alginique se forment lorsque le pH de la solution est ramené en dessous de la constante de dissociation **(**pKa**)** du polymère. Les pKa des résidus M et G sont respectivement égaux à 3,38 et 3,65. Ainsi, l'alginate est chargé négativement sur une large gamme de pH [48].

La préparation des gels acides peut se faire par deux méthodes :

- La première méthode se base sur une acidification d'une solution d'alginate en dessous du pKa du polymère. L'abaissement du pH doit se faire de manière progressive. En effet une diminution rapide par ajout direct d'un acide par exemple, engendre la formation d'un précipité plutôt qu'un gel. Il est donc nécessaire d'abaisser le pH de façon graduelle par ajout de lactones à hydrolyse lente telle que la δ-gluconolactone (GDL) [31].
- Dans la seconde méthode, un hydrogel d'alginate préalablement obtenu par réticulation ionique est converti en hydrogel acide par incubation dans une solution acide et échange de protons. Ce type d'hydrogels est généralement stabilisé par des liaisons de type hydrogène [31].

Les gels d'acide alginique sont moins étudiés que les gels ioniques en raison de leur application limitée. Néanmoins, le gel d'acide alginique est couramment utilisé comme antiacide pour soulager les brûlures d'estomac dues au reflux gastrique [48].

3 Applications des hydrogels d'alginate

Les hydrogels d'alginate constituent une classe de biomatériaux avec un large spectre d'applications dans plusieurs domaines : l'alimentaire [48,53] ou encore l'environnement et traitement des eaux [36].

Les hydrogels d'alginate connaissent un intérêt grandissant dans le domaine biomédical. Cette dernière catégorie regroupe différents domaines d'applications tels que l'ingénierie tissulaire [45], l'administration de médicaments [54,55] et la microfluidique [48].

L'intérêt des hydrogels à base d'alginate a également donné naissance au développement d'une large gamme de biomatériaux avec différentes architectures tels que des hydrogels plans ou sphériques (billes et capsules), de fibres et des structures anisotropes à l'échelle milli-, micro et nanométriques [31].

L'alginate présente de nombreuses caractéristiques favorables pour des applications d'encapsulation, à savoir une bonne biocompatibilité, une grande disponibilité, un faible coût, et une procédure de gélification simple dans des conditions relativement douces [31].

CHAPITRE III : NOTIONS D’ENCAPSULATION

1 Historique

Les premières publications sur la microencapsulation et ses applications dans le domaine pharmaceutique remontent aux années 30 [56].

En 1931, les deux chimistes Bungenburg de Jong et Kass ont découvert la coacervation, un phénomène physique permettant de réaliser des systèmes colloïdaux. Ceux-ci ont permis d'effectuer les premiers essais d'encapsulation mais le développement de cette technique de l'échelle du laboratoire à la production industrielle a duré une vingtaine d'années [52].

C'est en 1950 que la première application industrielle des microparticules fut réalisée par Green et Schleicher. Ils ont encapsulé des particules de pigments dans des polymères naturels (protéine/gélatine et polysaccharide/gomme arabique) par coacervation complexe [3]. L'idée était d'insérer de l'encre dans de petites particules qui exploseraient lors d'une petite pression de stylo [57]. 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, il change de couleur quand il réagit avec la colle acide qui couvre l'autre face du papier [3].

Dans les années 60, 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. Cette méthode d'encapsulation a permis le développement des écrans à cristaux liquides utilisés pour les structures aérospatiales [3].

Au cours des dernières années, la microencapsulation s'est considérablement développée à l'échelle industrielle et les microparticules ont actuellement des applications très variées.

2 Définition

Généralement, L'encapsulation regroupe l'ensemble des techniques qui permettent d'emprisonner des matières actives d'origine variée (liquide, solide, gazeuse ou même une cellule vivante) au sein d'un matériau. C'est l'exemple des principes actifs pharmaceutiques ou cosmétiques, des additifs alimentaires, des produits phytosanitaires, ou des essences parfumées [3,57], en vue de leur immobilisation, protection, structuration, fonctionnalisation, ou encore le contrôle de leur transport et de leur libération dans un environnement prédéfini [31].

3 Intérêt de l'encapsulation

Les objectifs principaux de l'encapsulation peuvent se résumer comme suit :

- Garantir une bonne protection de la substance encapsulée : La microencapsulation est un procédé de fabrication de particules fermées dans lesquelles le contenu est enveloppé à l'intérieur d'un film. Elle permet non seulement d'éviter la pollution secondaire du contenu encapsulé [56] mais aussi d'assurer la protection des ingrédients sensibles contre l'oxydation et les effets de l'environnement externe tels que la chaleur, l'humidité ou le pH [3] en vue de maintenir le contenu stable pour une durée de vie plus longue.
- Contrôle de la libération du contenu encapsulé : La microencapsulation permet le transfert de masse entre l'intérieur et l'extérieur d'une capsule via le contrôle des propriétés physiques et chimiques de la membrane [56]. Une libération du contenu encapsulé est donc réalisée. Elle peut être soit prolongée par une diffusion à travers la membrane, soit déclenchée par éclatement de la membrane. En cas de diffusion, le contrôle de l'épaisseur de la membrane, de sa porosité et du gradient de concentrations des molécules spécifiques, permet de moduler la délivrance continue des principes encapsulés. En revanche, s'il y'a éclatement, tout le contenu se déverse au même moment [56]. C'est le phénomène du « dose dumping ».
- Faciliter l'utilisation des produits liquides : La microencapsulation permet de conditionner des produits liquides sous forme solide. Cela facilite le transport de produits d'origine liquide [56] et diminue la déperdition des matières actives volatiles [34].
- Assurer la protection, la stabilisation d'une matière active dans une formulation [58] et éviter l'incompatibilité entre les médicaments [59], exemple de l'astaxanthine, un principal céto-caroténoïde encapsulé par l'alginate afin d'améliorer sa stabilité [60].
- Réduire la toxicité ainsi que la sensibilité des personnes vis à vis des matières et produits toxiques [59].

4 Microparticules

Les produits obtenus par les procédés de microencapsulation sont appelés microparticules ; nommées aussi billes ou perles. Elles se différencient par leur taille, leur morphologie et leur structure interne.

4.1 Taille

L'encapsulation permet de produire des microparticules dont la taille est comprise entre 1 µm et 1000 µm), en deçà, on parlera de nanoparticules et au-delà il s'agit de minigranules [34]. Cette large gamme de taille ainsi que la diversité des matériaux qui peuvent être utilisés pour former la matrice d'encapsulation (protéines, polysaccharides lipides, matériaux organiques/inorganiques et hybrides), offrent une large gamme d'applications et est en constante évolution dans plusieurs domaines [31].

4.2 Structure interne

Selon leur microstructure, les particules ainsi obtenues présentent deux types de morphologies distinctes qui définissent les microsphères et les microcapsules [61].

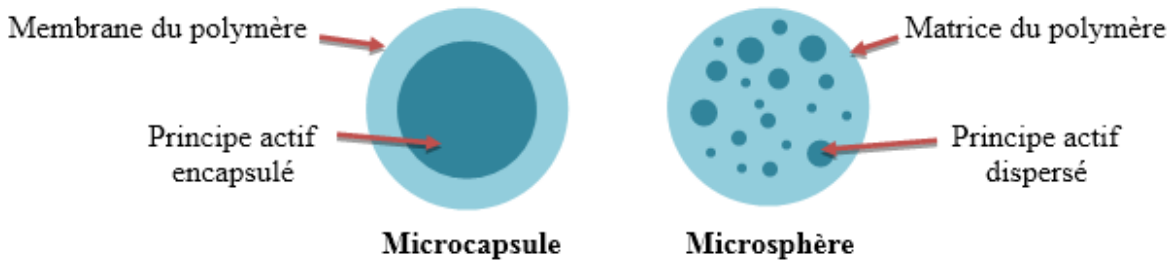


Figure N°8 : Morphologie des microparticules [3].

Ces deux types de particules obtenues dépendent des propriétés physicochimiques de la matière active, de la matière enrobante, et de leur composition ainsi que de la technique d'encapsulation utilisée [3].

On distingue (figure N°8) :

- **Les microsphères** (structures matricielles) : constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice, dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active [61].
- **Les microcapsules** (particules réservoirs) : constituées d'une cavité centrale contenant le principe actif entouré d'une enveloppe polymérique [57].

La principale différence entre ces deux types de microgranulés réside dans leur profil de relargage. Les microsphères ont en général des profils de relargage contrôlé par la diffusion, avec un taux de relargage permanent qui est cinétiquement contrôlé par la taille des particules. Les microcapsules quant à elles expulsent leur contenu par un jaillissement si grand qu'elles finissent par éclater [61].

En fait, toutes les structures intermédiaires sont possibles et la frontière entre microcapsule et microsphère n'est pas toujours bien définie [61].

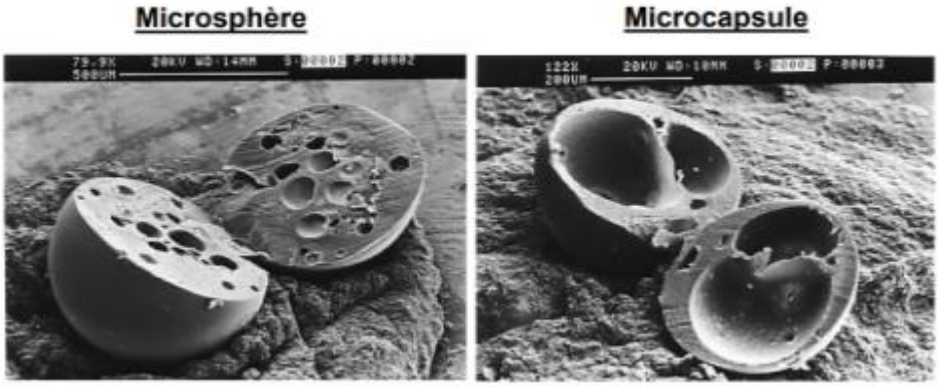


Figure N°9 : Morphologie des microparticules et coupe longitudinale, sous microscope électronique à balayage [59].

5 Techniques d'encapsulation

Selon l'application visée de l'encapsulation, la nature du polymère utilisé, les propriétés de la molécule encapsulée et la structure souhaitée des particules ; un procédé d'encapsulation est choisi [61].

Il existe plusieurs méthodes de classification des techniques d'encapsulation et plusieurs dénominations. En effet, les techniques peuvent être classées en fonction du milieu dispersant utilisé ou de la nature du procédé [31].

5.1 En fonction de la nature du milieu dispersant utilisé lors de la préparation des capsules

- En milieu liquide : coacervation, émulsification-évaporation, gélification de gouttes, polycondensation interfaciale et la polymérisation en milieu dispersé.
- En milieu gazeux : enrobage en lit d'air fluidisé « Spray-Coating» et la nébulisation /séchage « Spray-Drying ».
- En milieu supercritique : En utilisant le fluide supercritique en tant que non-solvant: procédés « Supercritical Fluid Antisolvent » (SFA) ou en utilisant un solvant type « Rapid Expansion of Supercritical Solutions » (RESS).
- En absence de solvant : sphéronisation, et congélation de gouttes « spray congealing » [31].

5.2 En fonction de la nature du procédé

Les microparticules peuvent être obtenues de plusieurs façons, suivant la taille désirée et les propriétés physico-chimiques du principe actif encapsulé [61]. On distingue trois grandes familles de procédés d'encapsulation résumées dans le tableau suivant :

Tableau N°1 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature des procédés [3-61].

Type procédé	Mode d'encapsulation	Taille des microcapsules	Types de produits obtenus
Procédés physico-chimiques	Coacervation Expansion rapide de fluides supercritiques Evaporation – extraction de solvant Gélification thermique d'émulsions (hot melt) Gélification ionique	2 – 1200 µm 0,5 – 100µm 0,5 – 200 µm 30 – 300 µm	(Microcapsules / Microsphères) Microsphères Microsphères Microsphères Microsphères
Procédés chimiques	Polycondensation Interfaciale Polymérisation en milieu dispersé par voie radicalaire ou anionique	2 – 2000 µm 2 – 2000 µm	Microcapsules (Microcapsules / Microsphères)
Procédés mécaniques	Nébulisation/séchage (spray drying) Congélation de gouttes Enrobageen lit fluidisé (spray-coating) Sphéronisation	1 – 200 µm 200 – 800 µm 35 – 5000 µm ≥ 200 µm	Microsphères Microsphères Microcapsules Microsphères

5.2.1 Procédés physico-chimiques

Ces procédés sont basés sur la maîtrise des changements d'état (fusion, solidification) des polymères en fonction de plusieurs paramètres, tels que la solubilité et la précipitation des polymères, en fonction de l'ajout ou non d'un solvant, du pH ou de la température [59].

On trouve :

- **Coacervation :**

Le terme de coacervation décrit le phénomène de désolvatation partielle d'une solution homogène de polymère en une phase riche en polymère (coacervat) et en phase pauvre en polymère (milieu de coacervation) [62]. Lorsque l'on disperse la matière active dans un milieu qui contient des coacervats, la réduction de la solvatation d'un polymère conduit à sa précipitation sur la surface de microgouttes [57].

La coacervation peut être complexe ou simple, la différence est dans la manière de séparation des phases. Dans la coacervation simple, un agent de désolvatation est ajouté tandis que dans la coacervation complexe deux ou plusieurs types de polymères de charge opposée sont impliqués [57, 62].

Ce processus s'opère dans des conditions douces (pas de solvant agressif ou organique) ; il présente donc un bon potentiel pour la microencapsulation de cellules vivantes ou molécules labiles, lesquelles ne peuvent pas résister aux conditions dures (chaleur, solvant organique), qui accompagne les autres techniques [56].

- **Encapsulation par expansion rapide des fluides supercritiques**

Les fluides à l'état supercritique présentent des propriétés intermédiaires entre un gaz et un liquide, les plus connus sont le CO_2, les alcanes et l'oxyde nitreux. Le CO_2 supercritique est le plus largement utilisé pour sa faible valeur de température supercritique, non toxicité, ininflammabilité et sa disponibilité [3, 62].

Selon cette technique d'encapsulation, le principe actif est dispersé dans une solution de matière enrobante dans le fluide supercritique, le mélange est maintenu à haute pression puis libéré à la pression atmosphérique par une petite buse. La chute de la pression provoque la désolvatation de la solution de polymère qui se dépose sur l'ingrédient actif et forme donc une couche d'enrobage [3, 62]. L'inconvénient de ce procédé est que la matière active et le matériau de l'enveloppe doivent être très solubles dans le fluide supercritique [62].

L'application la plus importante de cette méthode est l'enrobage des médicaments par les polymères synthétiques, notamment les polylactides, les polyacrylates et les polyéthers [3].

- **Evaporation-extraction de solvant**

Le procédé d'évaporation de solvant est le plus largement développé sur de nombreux polymères et consiste en l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase sous forme de microsphères [56].

Cette technique permet d'encapsuler une grande variété de principes actifs solides ou liquides, hydrophiles ou lipophiles [57, 61].

- **Gélification thermique d'émulsion**

Ce procédé repose sur la dispersion ou la dissolution de la matière active à encapsuler dans un matériau d'enrobage fondu, qui est souvent les lipides ; l'ensemble est émulsionné dans une phase dispersante dont la température est maintenue supérieure à la température de fusion de l'enrobage ; il s'agit d'eau distillée lorsque le principe actif est lipophile et d'huile de silicone,

par exemple, lorsqu'il est hydrosoluble. La solidification des globules dispersés est obtenue en refroidissant brutalement le milieu [3, 56].

Les microsphères obtenues suivant ce procédé ont une teneur en principe actif de l'ordre de 20% [3].

- **Gélification ionique**

Plusieurs matières (polysaccharides, protéines, polymères synthétiques, lipides) en solution peuvent former des gels par contact avec certains ions chélateurs [34]. Le procédé consiste à extruder à travers d'une aiguille de seringue ou d'une buse, une solution aqueuse de polymère dans laquelle la matière active est dissoute, dispersée ou émulsionnée. Les gouttelettes formées sont réceptionnées dans une phase liquide dispersante pour se transformer en particules de gel sphériques récupérées par filtration et séchées. C'est le cas de la gélation de l'alginate en présence du chlorure de calcium ou du chitosane dans une solution réceptrice alcaline [57, 59]. Cette technique est la plus simple et la plus largement utilisée dans la fabrication de microparticules [63].

Elle présente les avantages suivants [34] :

- ✓ La possibilité d'obtenir une distribution granulométrique des particules très étroite ;
- ✓ Lorsque des polymères hydrosolubles sont utilisés (par exemple, alginate de sodium), l'encapsulation peut être réalisée à des températures égales ou inférieures à la température ambiante, ce qui est intéressant lorsque la matière à encapsuler est particulièrement fragile ou volatile.

Cependant, elle présente des inconvénients tels que [64] :

- ✓ La nécessité de gélifier à bain, ce qui prend du temps.
- ✓ Faible reproductibilité lors de la transposition d'échelle.

La gélification ionique peut être externe ou interne (Voir chapitre II).

5.2.2 Procédés chimiques

Contrairement aux autres classes de techniques qui utilisent des agents enrobant préformés tels que des polymères et des lipides [56], les procédés chimiques sont basés sur la formation in situ du matériau enrobant par polycondensation, polymérisation radicale, ou polymérisation anionique d'unité monomères [59].

- **La polycondensation interfaciale**

Nommée aussi polymérisation interfaciale, combine une émulsification de type E/H ou H/E et une réaction chimique entre deux monomères ayant des groupes fonctionnels complémentaires, chacun soluble dans l'une des phases du système diphasique.

L'encapsulation de principes actifs peut être réalisée par cette méthode via un protocole en deux étapes. Dans un premier temps une émulsion est préparée, dont la phase dispersée contient l'espèce à encapsuler ainsi qu'un monomère. Puis, cette émulsion est diluée afin d'apporter le second monomère en phase continue. La réaction démarre alors à l'interface des gouttelettes. On obtient en fin de réaction une membrane polymérique à l'interface des gouttelettes qui renferment l'espèce à encapsuler [56, 57].

Les principales limitations de ce procédé sont liées aux possibilités de réaction chimique incontrôlée entre la matière active et les monomères utilisés pour former la membrane, ainsi que la solubilité de la matière active dans le solvant de la phase continue qui peut entraîner sa migration et limiter le taux d'encapsulation [3].

- **La polymérisation en milieu dispersé**

Dans ce processus, aucun agent réactif n'est ajouté au matériau du noyau, contrairement à la polymérisation interfaciale [62]. De façon générale, le monomère est solubilisé dans la phase continue d'une dispersion (émulsion, suspension), alors que le principe actif se trouve dans la phase dispersée. La voie de polymérisation peut être soit anionique soit radicalaire. Après amorçage de la réaction de la polymérisation, les polymères formés précipitent à partir d'une longueur de chaînes critique formant ce que l'on appelle les noyaux primaires. La précipitation des chaînes polymériques autour du principe actif permet la formation d'une particule finale de type microcapsule.

Pendant ce procédé, un tensioactif peut être utilisé dans la phase continue pour stabiliser les agrégats de polymères et aider à leur précipitation autour des gouttelettes contenant le principe actif [3, 34].

5.2.3 Procédés mécaniques

Le procédé mécanique met en œuvre des techniques de pulvérisation, de formation de gouttes ou de gouttelettes et d'extrusion [59].

- **Nébulisation-séchage par atomisation**

Dans cette technique, une solution ou une émulsion du complexe principe actif-polymère est passée sous pression à travers un orifice de buse, conduisant à son atomisation et formation de gouttelettes uniformes. Ces gouttelettes sont finalement séchées par le gaz de séchage qui est

généralement l'air, pour enfin obtenir des microparticules sèches facilement récupérables [63, 64]. Ce processus est rapide, continu en une seule étape, combine le séchage et l'encapsulation. Cependant, il présente des inconvénients tels que le coût élevé, la limitation de la viscosité et le faible rendement des petits lots de production [63].

- **Congélation en gouttes**

Les matériaux utilisés dans ce procédé sont généralement des cires, lipides ou corps gras de bas point de fusion compris entre 50°C et 120°C, permettant de solubiliser la matière active lorsqu'ils sont à l'état fondu [56, 59]. Ce mélange fondu est extrudé à une température supérieure à celle du point de fusion à travers une buse vibrante. Le jet de sortie est sectionné sous l'effet de la vibration et les gouttelettes obtenues sont refroidies par de l'air froid ou de l'azote [59]. Ce procédé est une variante de la méthode de microencapsulation par gélification thermique [59], ses inconvénients résident dans le bouchage de la buse, la gamme limitée de taille (>200µm) et le taux d'encapsulation faible [3].

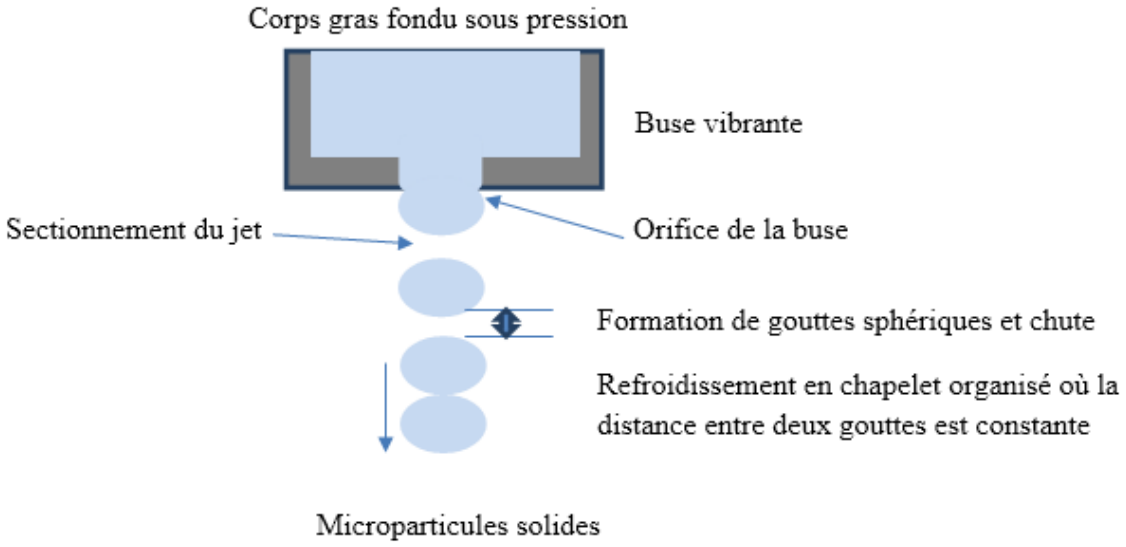


Figure N°10 : Schéma de principe de congélation en goutte [56].

- **Enrobage en lit d'air fluidisé**

Le procédé d'enrobage en lit fluidisé s'applique exclusivement à des matières actives sous forme solide (granules, cristaux), des matières liquides peuvent néanmoins être encapsulées après adsorption par des supports particulaires poreux [3, 56]. L'encapsulation se déroule dans une chambre cylindrique verticale d'un lit fluidisé. D'abord, les particules à encapsuler sont fluidisées à l'aide d'un flux d'air, ensuite, le matériau enrobant est pulvérisé sur cette suspension fluide de particules ; les gouttelettes de la solution de polymère entrent en contact

avec la surface de particules du principe actif formant une couche d'enrobage qui après plusieurs passages successifs par les zones de pulvérisation et séchage, permettant de couvrir la totalité de la surface de la particule par une couche continue et homogène, donnant aux microparticules obtenues une structure de type capsule [3, 34]. Bien que ce processus soit long, il contribue à réduire les défauts des particules [62].

- **Technique d'extrusion**

Cette technique peut être utilisée pour l'encapsulation de matière active dans des polymères thermoplastiques, dont la viscosité à l'état fluide permet de préparer des microcylindres homogènes et réguliers. Le produit à encapsuler et le matériau enrobant sont préalablement mélangés. Ensuite, ce mélange est passé à travers une extrudeuse dans laquelle il subit un certain nombre d'opérations : mélange, malaxage, mise en pression, échauffement, détente. La séquence de ces opérations est établie de manière à obtenir une transition d'état de la matière (solide/liquide). Après extrusion, la matière obtenue est découpée en microparticules cylindriques, qui sont ensuite érodées mécaniquement pour rendre leur forme voisine de celle de microsphères [3, 56].

Ce procédé est essentiellement utilisé dans le cas des matières actives et matières enrobantes résistantes à des températures élevées (jusqu'à 200°C) [34].

6 Domaines d'applications

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

6.1 Domaine agroalimentaire

L'encapsulation utilisée principalement pour les additifs alimentaires, est un moyen idéal pour masquer le goût, l'odeur et voir même la couleur de certaines substances, et donc ajuster la saveur alimentaire. Elle permet aussi d'éviter les interactions entre les différents composants d'un complexe alimentaire et de protéger les principes actifs vis-à-vis de l'oxydation (protection des arômes) ou encore de l'humidité (protection du sel et du sucre), et par conséquence prolonger la durée de conservation du produit [3, 31, 59].

6.2 Domaine du textile

Les microcapsules peuvent rendre des textiles hydratants, désinfectants, parfumés...etc. Récemment, des tissus contenant des microcapsules à base de paraffine permettent d'ajuster automatiquement la température en fonction de la chaleur du corps humain [61].

6.3 En cosmétique

L'encapsulation dans le domaine du cosmétique vise à utiliser des microcapsules comme réservoirs pour diverses substances cosmétologiquement actives et susceptibles d'être dégradées trop rapidement dans le milieu externe du produit, à titre d'exemple : la vitamine E (action antiradicalaire), la dihydroxyacétone (action bronzante), ou encore la caféine [3]. Dans ce domaine, des microcapsules ont déjà été intégrées dans différentes crèmes, des shampooings, ou des gels, afin de prolonger la stabilité chimique et microbiologique du principe actif [59].

6.4 Domaine biomédical

L'encapsulation dans les hydrogels est l'une des stratégies utilisées dans le domaine médical, essentiellement dans l'immuno-isolation pour séparer les cellules vivantes de leur environnement, en cas de greffe par exemple. Ces hydrogels sont fabriqués à partir de polymères ayant la capacité de former des structures tridimensionnelles sous forme de gel pouvant absorber de grandes quantités de molécules d'eau. Comme certains de ces hydrogels peuvent être constitués jusqu'à 99% d'eau, ils créent une structure compatible avec la survie des cellules encapsulées à l'intérieur du gel tout en étant bien tolérés dans le corps humain. La formation de ces hydrogels offre un support tridimensionnel aux cellules, tout en les isolant de l'extérieur grâce aux réseaux des chaînes de polymères [24]. Ils permettent une perfusion sélective des nutriments, de l'oxygène et de produits protéiques vers l'intérieur du gel, mais empêche les grandes molécules toxiques [3,64] et les molécules physiologiques de haut poids moléculaire (> 150 kDa) et les anticorps ainsi que d'autres substances immunologiques de passer [24, 64].

6.5 Domaine pharmaceutique

La microencapsulation joue un rôle de plus en plus important dans la délivrance des médicaments, les microsphères contenant des médicaments sont utilisées par voie orale ou par injection intramusculaire [3]. Elles sont principalement conçues pour contrôler le taux et la

durée de la libération du principe actif, améliorer la biodisponibilité et la stabilité des médicaments et cibler des sites spécifiques du corps [64].

L'encapsulation des vaccins est aussi visée par les chercheurs scientifiques, ces derniers reconnaissent maintenant l'importance de la vaccination par voie orale ou intranasale. La délivrance efficace des vaccins par les voies non parentérales peut être réalisée avec succès, à l'aide de cette technique d'encapsulation en raison de l'excellente propriété mucoadhésive des biopolymères et leur capacité protectrice de l'environnement acide. Des rapports antérieurs indiquent que les microcapsules de l'alginate permettent une libération prolongée du vaccin et aide à maintenir son intégrité [64].

CHAPITRE IV : BILLES A BASE D'ALGINATE

Dans notre présent travail, des billes à base d'alginate de sodium à usage pharmaceutique sont préparées par la méthode de gélification ionique externe. Dans ce chapitre, seront détaillés les différents paramètres opératoires influençant la taille des billes formées par ce procédé, leur forme et la libération du principe actif ainsi que les différentes techniques de caractérisation physico-chimiques, en se référant aux travaux et études antérieurs.

1 Influence des paramètres opératoires et de formulation sur la forme et la taille des billes

La forme est l'un des critères d'appréciation de la qualité des billes lors de leur préparation. L'idéal serait d'obtenir une sphéricité, permettant d'assurer un bon contact avec les liquides biologiques et de manière reproductible, elle est tributaire de plusieurs paramètres, à savoir la viscosité de la solution d'alginate, la concentration en agent réticulant et la distance de travail. En outre, ce dernier critère permettrait de faciliter la mise en forme pharmaceutique du médicament offrant alors au patient une meilleure observance.

1.1 Diamètre de pointe d'extrusion

Le diamètre de la pointe d'extrusion conditionne le diamètre de la goutte formée et donc la taille de bille résultante. Une conclusion confirmée par F. Chen et al. [65] qui ont formulé des microgels de biopolymère, en injectant les mélanges de polysaccharides dans une solution de chlorure de calcium et en utilisant un instrument d'encapsulation commercial avec une buse vibrante de 120, 150 et 300 µm avec une simple seringue à main d'une pointe de 0,6 mm de diamètre. La taille des billes produites était d'environ 2,75 fois plus grande que celle du diamètre interne de la buse, les diamètres moyens étaient de 300, 400, 800 et 1600 µm respectivement. Les résultats montrent que la taille, la surface et le périmètre des billes obtenues augmentent avec l'augmentation du diamètre interne de la pointe d'aiguille d'extrusion en accord avec les résultats de l'étude rapportés par Zazzali et al. [66], qui ont fait couler des solutions d'alginate avec quatre aiguilles de pointes différentes de diamètres internes allant de 0,25 à 0,50 mm.

Il existe une relation linéaire entre le diamètre du microgel obtenu (billes) (Dm) et le diamètre de la buse (Db), selon l'équation suivante [65] :

$$\frac{\mathrm{Db}}{\mathrm{Dm}} = [2{,}75\ \mathrm{Db} + 18]\mu\mathrm{m} \qquad \text{Eq.1}$$

Par contre, il n'existe aucune relation directe entre la forme sphérique et le diamètre interne de la pointe de l'aiguille [66].

1.2 PH

Les billes d'alginate de calcium ont tendance à rétrécir à faible pH, un résultat confirmé par une étude [67] où on a encapsulé des protéines dans des billes d'hydrogel d'alginate.
Cela est expliqué par la perte de charge négative sur les molécules d'alginate avec la diminution du pH lorsque les groupes carboxyle deviennent protonés (- COOH, pKa ≈ 3,5) ; ce qui peut réduire le nombre de groupes anioniques sur les molécules d'alginate disponibles pour la réticulation avec les ions calcium.
Inversement, ils ont tendance à gonfler lorsqu'ils sont placés dans des solutions à pH plus élevé en raison du fait que les molécules d'alginate deviennent fortement chargées et se repoussent.

1.3 Distance entre l'aiguille et la solution de réticulation

La forme des billes humides est directement influencée par la distance entre la tête d'une aiguille et la surface du bain réticulant. Smrdel et al. [68] ont démontré que les billes s'aplatissent au contact du milieu de durcissement si la dispersion d'alginate tombe d'une hauteur supérieure à 6 cm. Alors que, Blandino et al. (1999) [69] ont affirmé qu'à une distance de 7 à 10 cm, la gouttelette liquide est capable de surmonter les forces d'impact et de traînée, pour former des particules de gel sphériques. Une autre étude menée par l'équipe Abang et al. (2012) [70], dont la production de capsules est réalisée par gélification inverse à l'aide de simples séries d'extrusion-égouttement, montre que les billes sphériques n'ont été obtenues que lorsqu'une distance idéale entre 8 et 10 cm est respectée ; au-delà de cet intervalle, la goutte d'émulsion se casse à l'impact, alors qu'en dessous de 8 cm, les gouttes n'avaient pas une énergie cinétique suffisante pour pénétrer la surface de la solution d'alginate.
En conclusion, quand les gouttelettes rencontrent la surface du bain réticulant, les billes obtenues peuvent être déformées si la viscosité des gouttelettes et les forces de tension superficielle sont incapables de surmonter la tension superficielle exercée par la solution de réticulation. Donc, cette distance doit être adaptée à la viscosité des différentes solutions d'alginate pour obtenir une forme sphérique [71].

1.4 Vitesse d'agitation

Une étude menée par Dey S. et al. [58] se rapportant à la préparation de microsphères d'amidon de tapioca contenant le métoprolol, montre que le diamètre moyen des microsphères préparées est influencé par la vitesse d'agitation. En effet, en augmentant la vitesse d'agitation de 200 à 600 trs/min, le diamètre des microsphères diminue de 974,00 à 938,14 µm et ceci s'explique par les forces de cisaillement qui augmentent et conduisent à la formation de gouttelettes de tailles réduites [58]. Par ailleurs, les billes s'allongent lorsque la vitesse d'agitation supérieure à 600 trs/min [68] et finissent par se déformer [60].

1.5 Temps de gélification

Généralement, le temps de réticulation n'a pas d'influence significative sur la morphologie des perles ou billes. Cependant, il a été démontré que l'augmentation du temps de gélification et la concentration de calcium augmenteraient l'épaisseur de la membrane des billes d'alginate [70]. Cela peut être dû à l'étendue de la réticulation entre les ions Ca^{2+} et les unités d'acide guluronique de l'alginate de sodium, conduisant à la formation de plus grosses particules d'alginate [63]. Par contre, une étude menée par Lin et al. [60] a signalé que le temps de réticulation ne révélait aucune différence significative en termes de taille moyenne pour des traitements variant de 15, 30 et 60 min. Cette dernière était de 1029,2 µm et 1112,9 µm, lorsque le temps de réticulation est passé de 15 à 60 min, respectivement.

Différents temps de maturation ont été utilisés dans plusieurs protocoles de synthèse de billes d'alginate à usage pharmaceutique selon des études antérieures, cela est résumé dans le tableau N°2 suivant.

Tableau N°2 : Temps de maturation selon les études antérieures

Protocoles	1 [72]	2 [73]	3 [74]	4 [75]	5[60]
Temps de maturation	Quelques minutes	2h	1h sous agitation	1h sous agitation	15min
La matière encapsulée	Oxacilline sodique	L'acide folique	L'ampicilline	Ibubrofène	Astaxanthine
Application	En pharmacie	En pharmacie	En Pharmacie	En pharmacie	En pharmacie

1.6 Concentration de la solution d'alginate

La concentration en alginate est considérée comme le facteur le plus important qui affecte les caractéristiques des billes. Hu et al. [76] ont montré que des concentrations basses de la

solution d'alginate produisaient des billes rugueuses de formes irrégulières. D'autre part, Lin et al. [60] ont étudié l'effet de la concentration d'alginate sur la taille des particules formées par la méthode d'extrusion, il s'est avéré que l'augmentation de la concentration en alginate de 1% à 3% a entraîné une augmentation de la taille des particules microsphères de 728,7 µm à 1053,4 µm ; donc, plus la concentration en alginate est élevée, plus la dispersion devient visqueuse, ce qui forme de plus grandes gouttelettes d'alginate et par conséquent, de plus grandes microsphères.

Par contre, une autre étude a démontré que l'augmentation de la concentration d'alginate entraine une diminution de l'épaisseur de la membrane des billes d'alginate à un temps de gélification donné. En effet, l'augmentation de la concentration d'alginate augmente les sites de liaison avec le calcium, un gel plus dense est probablement formé avec une épaisseur plus faible [69].

1.7 Concentration de la solution de réticulation

Les microsphères s'agglomèrent en présence d'une faible concentration en Ca^{2+} quand la concentration de réticulation n'est pas suffisante pour durcir les microsphères [63, 68]. Il a été aussi démontré que la taille des microbilles diminuait légèrement avec l'augmentation de la concentration de $CaCl_2$ [68]. Cela peut s'expliquer par la forte réticulation qui conduit à un gonflement plus faible de la goutte d'alginate pendant le processus de gélification [63]. En augmentant la concentration d'ions divalents, plus de séquences polyguluronates sont réticulés, formant un hydrogel poreux. Cependant, dans le cas où les ions calcium sont rares, plus de deux groupements carboxylates chélatent un seul ion, conduisant par conséquent à la formation de structures métastables, connue sous le nom de « motifs imparfaits de boîte à œufs ». Ces motifs peuvent influencer les propriétés de l'hydrogel utilisé pour l'encapsulation (taille des pores, résistance mécanique et libération des actifs) [70].

1.8 Mécanisme de gélification

Le mécanisme de gélification (externe ou interne) influe sur la taille des pores à l'intérieur des billes. Il a été démontré que la gélification externe donnait un gel inhomogène plus resserré à la surface conduisant à une taille de pore de 12 à 16nm. Cependant, la structure du gel homogène obtenue par gélification interne entraîne la formation de pores plus grands. Cette différence de taille pourrait conduire à une différence significative dans le profil de libération (Thu et al. 1996) [77].

Pour la méthode d'extrusion, l'uniformité des particules de gel est influencée par le débit de la solution d'alginate, l'extrusion à la main produit des particules de gel de faible uniformité, tandis que l'extrusion par une pompe produira généralement un gel de particules uniforme. Cette uniformité peut être améliorée en réduisant la tension superficielle du bain gélifiant par addition de composés tensioactifs [48]. Dans ce contexte, Chan et al. (2006) [78] ont démontré que les capsules obtenues par gélification externe ont une épaisseur plus faible, une résistance, une rigidité et une perméabilité plus grandes que celles fabriquées par une gélification interne.

1.9 La composition chimique de la chaine d'alginate

La taille des pores est également déterminée par la composition en monomère de l'alginate. La porosité des particules de gel augmente lorsque l'alginate à forte teneur en bloc G est utilisée, car le gel à bloc G élevé adopte une structure à pores plus ouverts et moins sensibles au rétrécissement (Martinsen et al., 1991; Thu et al., 1996) [79, 80].

2 Facteurs influençant la libération du principe actif

La cinétique de libération du PA par les billes qui l'encapsulent, présente l'un des critères cruciaux de caractérisation de ces billes permettant de valider leurs formulations, à savoir leur aptitude à laisser passer le PA à travers la structure polymérique qui le véhicule dans les milieux biologiques. Cependant, cette libération est influencée par les paramètres suivants :

2.1 Le PH

Une étude menée sur l'encapsulation des protéines dans des billes d'alginate [67], montre que la quantité finale de protéines libérée à la fin de la période d'incubation dépend fortement du pH : à pH = 3 (24%) <pH = 5 (78,9%) <pH = 7 (95,3%). Cet effet peut être attribué à des différences dans les interactions électrostatiques des molécules d'alginate et de protéine à différentes valeurs de pH. À pH acide, la protéine et l'alginate ont des charges opposées et sont fortement attirés l'une vers l'autre, de sorte que la protéine soit mieux retenue dans les billes d'hydrogel. Inversement, à pH 5 et 7, la protéine et l'alginate ont des charges similaires et ont donc tendance à se repousser électrostatiquement et finit par sortir de son emballage polymérique (billes d'hydrogel). Cela est aussi confirmé par S.-J. Hwang et al, qui ont réalisé une autre étude sur l'encapsulation de l'ibuprofène [75], où sa libération à partir de billes d'alginate à un pH de 6,8 était plus rapide que celle à un pH de 1,2. On note qu'une valeur de

10 à 15% de l'ibuprofène a été libéré à un pH de 1,2, tandis que presque 100% de l'ibuprofène a été libéré à un pH de 6,8 au bout de 8 h. Le mécanisme de libération à travers les billes d'alginate passe par deux étapes :

- À un pH = 1,2, il y'a diffusion de l'ibuprofène à travers la composante des billes d'alginate qui ne gonflent pas et ne s'érodent pas.
- À pH = 6,8, les billes d'alginate gonflent et finissent par s'éroder.

2.2 Taille des billes

Les billes plus petites conduisent généralement à une libération plus rapide [67], car plus la taille est petite plus la surface de contact avec les liquides biologiques est grande. Inversement, la vitesse de dissolution du principe actif peut être retardée en augmentant la taille des microgels utilisés [65]. Autrement dit, en contrôlant la taille des microcapsules au cours du processus de fabrication, il est possible de déterminer la cinétique de libération du principe actif [70].

2.3 Utilisation d'un copolymère ou adjuvant

L'ajout d'un copolymère contribue à l'augmentation de la densité de la matrice d'alginate et du parcours de diffusion que la matière active encapsulée doit empreinter. Cela est démontré par Mokalé et al. [81] qui ont constaté que le taux et l'étendue de la libération du Diltiazam à partir des billes ont considérablement diminué avec l'utilisation de copolymères comme la pectine, la méthylcellulose et la gomme de caroube. Ceci a également été confirmé par Anal et al. [74], qui ont prouvé que les perles d'alginates seules avaient une libération plus rapide par rapport aux perles enrobées par plusieurs autres copolymères comme le chitosan. Une autre recherche a également montré que la diffusion de l'hémoglobine à partir de particules de gel d'alginate a été retardée par l'ajout de polycations comme la couche de poly-L-lysine, cette dernière se lie électrostatiquement à la surface anionique du gel d'alginate engendrant la diminution de la porosité à la surface des billes (Thu et al., 1996) [77]. Par ailleurs, Lopez et al. (2012) [82] ont signalé que la libération complète de composé encapsulé volatil (linalol) dans les membranes sèches de Ca– alginate, est survenue en 24 h ; alors qu'en y ajoutant du glycérol et l'amidon à l'alginate, une moindre porosité est responsable alors d'une libération plus lente de linalol (> 1700 h).

2.4 La concentration de la solution de réticulation

La densité de réticulation du gel d'alginate est également essentielle pour la libération du principe actif. Il a été démontré que la perméabilité de la matrice du gel dépend de la concentration du cation gélifiant [48].

Hariyadi et al. (2012) [83], ont signalé que la libération du principe actif à partir des microgels d'alginate pourrait être contrôlée en utilisant différentes concentrations de cations gélifiants. Citons l'exemple de la libération de l'ibuprofène à partir de microgels réticulés avec une concentration faible de Ca^{2+} (0,1 M), dans un environnement gastrique simulé, la libération du PA était plus rapide que dans le cas de microgels fabriqués avec une concentration de Ca^{2+} (0,5 M). Cette différence de libération pourrait s'expliquer par une densité de gel plus élevée lorsque la concentration en agents gélifiants augmente, entrainant ainsi une réduction de la perméabilité (Hariyadi, 2011) [84]. Ces données sont également confirmées par Aslani et Kennedy (1996) [85], qui ont montré qu'en augmentant la concentration des cations gélifiants (Ca^{2+} et Zn^{2+}) de 0,1 M à 0,7 M, la perméabilité du gel d'alginate à l'acetaminophen est cinq fois plus réduite. D'un autre côté, Hariyadi et al. (2012) [83], ont constaté une diminution du taux de libération du lysozyme à partir des microgels d'alginate, lorsque la concentration de calcium gélifiant passe de 0,1 M à 0.5 M.

2.5 La nature de l'agent réticulant

Le cation utilisé pour la réticulation peut influencer la diffusion du matériau encapsulé. Par exemple, Al-Musa et al. (1999) [86] ont montré que le gel d'alginate formé avec le Ba^{2+} ou l'Al^{3+} a des pores plus petits par rapport à l'alginate réticulée en présence du Ca^{2+} ; cela est dû à l'affinité ionique élevée responsable de la formation d'un gel dense et résistant, les pores formés in situ sont donc plus petits et retardent la libération de principe actif hydrosoluble.

2.6 Mécanisme de gélification

La technique utilisée détermine également les mécanismes de diffusion du matériau encapsulé à partir des particules de gel d'alginate. La structure homogène des particules de gel obtenu par une gélification interne permet un taux de diffusion plus élevé en raison d'une porosité uniforme dans toute la structure du gel. Cependant, le gel inhomogène fabriqué par une gélification externe présente une densité de réticulation plus élevée sur la surface externe et retarde la diffusion de la molécule active du noyau vers la surface [48].

D'ailleurs, Liu et al. (2002) [87] ont démontré que l'hémoglobine était capable de diffuser dans des particules de gel d'alginate gélifiées en interne plus rapidement que les particules de gel gélifiées en externe.

3 Evaluation des performances in vitro des billes d'alginate de calcium

L'étude de la libération du principe actif à partir des billes d'alginate dans des milieux physiologiques simulés est indispensable afin de valider ou non la formulation. Il s'agit d'étudier le comportement des billes et évaluer leur pouvoir de véhiculer et libérer le PA et donc apprécier la cinétique de libération.

Pour cela un test de dissolution est effectué dans deux milieux, un milieu acide de PH=1.2, simulant le milieu gastrique physiologique et un autre basique de PH=6.8 simulant le milieu intestinal, à une température de 37 ± 0,5 °C. Les billes sont donc mises dans le milieu acide, puis passées en milieu basique. Des prélèvements d'échantillons sont réalisés sur toute la période du test à des intervalles de temps bien définis et remplacés par des volumes égaux du milieu de dissolution après chaque prélèvement. Chaque échantillon est caractérisé par spectrophotométrie UV-Visible ou par HPLC (Chromatographie liquide à haute performance), pour déterminer le pourcentage du PA dissous.

Ce principe ci-dessus a été d'ailleurs décrit dans différentes études [27, 72, 75] qui ont confirmé la libération progressive du principe actif à partir des perles d'alginate dans le milieu alcalin, avec une possibilité d'atteinte de 100% de libération, par dissolution complète des billes, à des temps différents d'une étude à une autre selon l'influence de plusieurs facteurs. La libération dans le milieu acide est presque nulle, en raison de l'absence de gonflement de ces billes dans un pH acide. En revanche, la libération de l'acide folique était observée même à pH 1,2 par diffusion de ce dernier à travers les billes à cause de son caractère acide donc sa grande solubilité dans ce milieu [27]. Cette observation est parallèle à l'étude rapportée par S.-J. Hwang et al [27], où 10 à 15% de l'ibuprofène a été libéré à un pH de 1,2, tandis que presque 100% de l'ibuprofène a été libéré à un pH de 6,8 au bout de 8 h.

4 Caractérisation physico-chimiques des billes d'alginate

4.1 Observation de la morphologie

Aspect macroscopique

Pour les différents essais de formulation réalisés, l'aspect macroscopique des microparticules (billes) obtenues est observé visuellement pour vérifier la taille, la forme, l'état de surface et la couleur des échantillons préparés (opaque ou transparent) [59]. Elles sont analysées à l'état humide et après séchage.

Aspect microscopique

Pour cette analyse, les billes sont observées directement au microscope optique après séchage muni d'une échelle micrométrique. Cette analyse est effectuée pour l'ensemble des essais de formulation pour un nombre moyen de 100 billes et ce en utilisant généralement un grossissement de 10 x 40 [59].

4.2 Détermination de l'efficacité d'encapsulation

L'efficacité d'encapsulation (EE) ou encore le taux d'encapsulation, représente le pourcentage du PA présent dans les microparticules. Autrement dit, c'est le rapport de la quantité du PA encapsulée sur la quantité initiale introduite.

La masse de l'ingrédient actif encapsulé peut être mesurée en appliquant la méthode de digestion qui consiste à pulvériser 10 mg de billes polymériques et les incuber dans 10 ml de tampon phosphate 0,02M pendant 24h ; puis centrifuger à 6000trs/min pendant 30 min. A la fin, le surnagent est analysé à la longueur d'onde qui correspond au maximum d'absorption du PA [3, 74]. D'autres méthodes alternatives existent.

Le calcul de l'efficacité d'encapsulation suit l'équation 3 :

$$\mathrm{EE} = \frac{\text{masse du PA encapsulé}}{\text{masse du PA introduit}} \times 100 \qquad \text{Eq. 3}$$

4.3 Étude FTIR

L'interaction possible entre le médicament et les polymères peut être évaluée en utilisant la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Les spectres FTIR sont obtenus à température ambiante par réflectance diffuse de poudre sur un spectromètre FT-IR [81].

Les microparticules sont broyées à l'aide d'un pilon dans un mortier en verre, la matière broyée se mélange à l'aide du bromure de potassium (rapport 1 : 100) [59]. Les pastilles de KBr sont fabriquées en appliquant une pression de 6000 kg/cm^2 [81] et sont ensuite analysées à l'aide d'un spectrophotomètre IR dans la plage de 400 – 4000 cm $^{-1}$ [58, 59]. Sur le spectre obtenu, les pics caractéristiques des groupements fonctionnels doivent être parfaitement

individualisés pour chaque composé, toute autre modification est synonyme d'interactions chimiques et/ou apparition de nouveaux groupements fonctionnels

PARTIE PRATIQUE

Le présent travail a pour but d'étudier la possibilité de préparer des microparticules à base d'alginate de sodium, par la technique de gélification externe. Dans ce manuscrit vous pouvez rencontrer différentes appellations du produit, ceci dit la majorité font référence à la forme du produit qui est exclusivement sphérique tandis que d'autres font référence à sa taille.

Cette partie expérimentale passe par les essais de préformulation, qui consiste en l'association de l'alginate de sodium et le chlorure de calcium à des concentrations variables, en s'appuyant sur les données de la littérature. Parallèlement, le procédé de gélification externe est exécuté et les billes obtenues sont caractérisées sur le plan macroscopique et microscopique (appréciation de la forme et taille des particules). Suite à cela, une marge de concentrations respectives des deux composants est choisie, selon des critères de sélection (forme sphérique et taille micrométrique). Le but est de fixer le domaine expérimental dans lequel nous pouvons envisager lancer nos formulations en vue d'obtenir la formule optimale.

PREPARATION ET CARACTERISATION DES PERLES D'ALGINATE DE CALCIUM

I. MATERIEL ET METHODES

I.1 Matériel

Pour réaliser notre étude, nous avons utilisé plusieurs produits, matériel et équipements.

I.1.1 Réactifs

- Alginate de sodium de faible viscosité (Biochem®) (dont la fiche technique se trouve en annexe n°1) ;
- Chlorure de calcium (Riedel-de-Haen®) de masse molaire M : 147.01 g/mol ;
- Eau distillée.

I.1.2 Equipements

Deux catégories d'équipements ont été utilisés : ceux destinés à la préparation et ceux destinés aux contrôles.

- **Equipements de préparation**
  - Balance électronique de précision KERN PLT 2000-3DM ;
  - Agitateur magnétique Stuart heat-stir SB162 ;
  - Agitateur à hélice de DIAB OS4O-Pro ;
  - Verrerie de laboratoire et consommables : Verre à montre, spatule, béchers, seringue de 2.5cc, passoire, micropipettes, papier filtre, fioles jaugées, tubes à essais...
- **Equipements de contrôle**
  - Microscope à caméra OPTIKA.

I.2 Méthodes

- **Essais de développement pharmaceutique (préformulation)**

Bien que la méthode de gélification ionique soit utilisée depuis de nombreuses années, la formation de perles d'alginate de taille souhaitée et de forme sphérique nécessite souvent quelques essais au préalable, car si les conditions ne sont pas optimales, des perles déformées ou avec une queue risquent d'être produites.

Dans cette partie, nous avons réalisé plusieurs essais en s'appuyant sur des études antérieures. Plusieurs paramètres ont été variés afin d'obtenir les perles les plus sphériques et préférentiellement de taille micrométrique.

- **Technique de formulation des billes d'alginate**

Le procédé utilisé pour la préparation des microsphères est le procédé d'extrusion goutte à goutte par une méthode de gélification externe. Le choix de ce procédé repose sur des essais

de faisabilité à l'échelle laboratoire, viendront d'autres critères de choix tels que la simplicité et la disponibilité du matériel nécessaire à notre niveau.

Cette méthode nous permet de former des billes capables d'encapsuler différentes matières et substances actives. Elle doit passer par les étapes suivantes.

a. Préparation de la solution d'alginate

La solution d'alginate (**C_1**) est préparée en versant progressivement une quantité précise d'alginate de sodium dans un volume d'eau distillée sous agitation jusqu'à obtention d'un gel bien homogène et exempte de bulles d'air ou de particules en suspension. La solution visqueuse obtenue est laissée au repos quelques minutes afin de permettre aux éventuelles bulles d'air formées in situ de s'éliminer.

b. Préparation de la solution de chlorure de calcium

La solution de chlorure de calcium (**C_2**) est préparée par dissolution d'une quantité précise de $CaCl_2$ dans un volume d'eau distillée pour obtenir une concentration précédemment fixée.

c. Protocole de préparation des perles d'alginate

Tout procédé obéit à un protocole. En ce qui concerne la formation des billes, la solution d'alginate est introduite dans une seringue, munie d'une aiguille. La solution aqueuse d'alginate est ensuite versée goutte à goutte dans un bain d'une solution de chlorure de calcium, à une distance **(D)** (distance entre la pointe de l'aiguille et la surface de la solution de réticulation).

La gélification dans le bain est instantanée et les billes qui se forment et augmentent en nombre s'accumulent au même endroit (risque de colmatage), ce qui nécessite une agitation.

Après épuisement de la solution d'alginate, une faible agitation est maintenue quelques minutes, avant de laisser le mélange (billes d'alginate dans la solution de chlorure de calcium) au repos pour un temps de maturation **(T)** prédéfini, pour une gélification complète.

Après maturation, les billes sont filtrées et lavées plusieurs fois à l'eau distillée dans le but d'éliminer le calcium en excès. A la fin, elles sont toutes séchées à l'air libre (20 ± 2°C) pour obtenir des billes dites "xérogels".

- **Essais proprement dit**

Selon la littérature, la concentration de la solution d'alginate C_1 [63, 69, 88], la concentration de la solution de chlorure de calcium C_2 [48, 63, 68, 70] et la distance D [48, 68, 70, 71], constituent les facteurs principaux et diffèrent d'une étude à une autre.

- **Distance (D)**

Nous avons effectué des essais avec quatre différentes distances entre l'aiguille et la solution de réticulation, pour étudier l'impact de ce paramètre sur les caractéristiques des billes d'alginates.

La sphéricité en est un critère de sélection. Elle doit être la plus reproductible possible au sein du même échantillon, afin d'assurer la performance de l'étude. Seule la distance qui garantit ce résultat sera choisie pour les essais futurs d'optimisation.

- **Concentrations des solutions d'alginate et de CaCl2**

On a effectué des essais avec différentes concentrations de solution d'alginate de sodium et de $CaCl_2$, selon des protocoles (**Pn**), décrits dans la littérature et présentés dans le tableau N°3. **n**, étant le numéro attribué à chaque protocole.

Tableau N°3 : Concentrations des solutions d'alginate et de chlorure de calcium des différents protocoles proposés pour la préparation des billes d'alginates.

Protocoles	**P1 [12]**	**P2 [89]**	**P3 [90]**	**P4 [91]**	**P5 [92]**	**P6 [93]**	**P7 [72]**
Concentration d'alginate (C1)	1%	2%	1%	3%	2%	0.35%	$C1_{max}$%
Concentration de CaCl2 (C2)	1%	0.7%	1.11%	2%	$C2_{max}$%	0.2%	1.3%

A partir de ce tableau, nous avons créé des intervalles de concentrations d'alginates et de chlorure de calcium. Les essais préliminaires nous permettent de valider ces marges de concentrations en exécutant un certain nombre de combinaisons de formules à partir des protocoles présentés ci-dessus. Nous allons, par étapes, définir une zone d'expérimentation qui nous permettra de passer ensuite à l'optimisation de la formule.

Dans un premier temps, nous allons commencer avec les petites concentrations en allant vers les concentrations les plus élevées. On a pris des intervalles plus réduits de C1, en passant de [0.35% - $C1_{max}$%] à [0.35% - $C2_{max}$%] et commençant par la limite inférieure (0.35%). Cette partie est subdivisée en plusieurs étapes ; et ce sont les résultats de chaque étape qui vont nous permettre de passer ou pas à un autre intervalle de concentrations plus croissantes jusqu'à obtention des résultats escomptés à savoir des billes sphériques, de taille microscopique.

- **Etape n°1 :**

Réduction du premier intervalle de concentration de la solution d'alginate à [0.35% - 4%], pour aboutir à une viscosité acceptable permettant à la solution d'alginate de sodium de passer plus aisément à travers l'orifice de la seringue. On retient un intervalle de [0.2% - $C2_{max}$ %] pour la solution de chlorure de calcium.

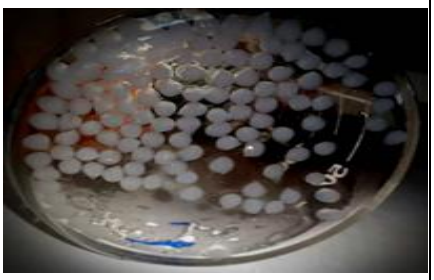
Pour cette étape, on a effectué des essais avec trois niveaux de concentrations (minimales, moyennes et maximales). Pour chaque niveau, Le même essai est réalisé avec quatre distances différentes dans l'ordre croissant suivant : D1, D2, D3 et D4, en respectant une valeur pour le temps de maturation fixe. Toutes les données sont résumées dans le tableau N°4.

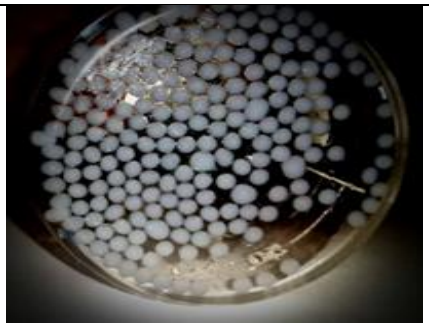
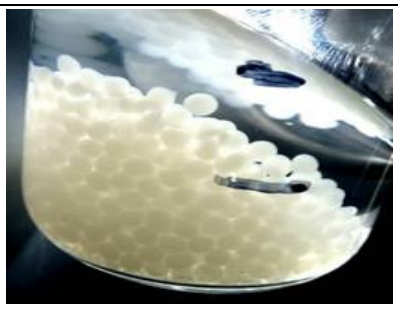
Tableau N°4 : Paramètres des essais de la première étape.

Niveau de concentration	Essais	C_1	C_2	D
Concentrations Minimales	1	0.35%	0.2%	D1
	2	0.35%	0.2%	D2
	3	0.35%	0.2%	D3
	4	0.35%	0.2%	D4
Concentrations Moyennes	5	2.175%	2.1%	D1
	6	2.175%	2.1%	D2
	7	2.175%	2.1%	D3
	8	2.175%	2.1%	D4
Concentrations Maximales	9	4%	$C2_{max}$ %	D1
	10	4%	$C2_{max}$ %	D2
	11	4%	$C2_{max}$ %	D3
	12	4%	$C2_{max}$ %	D4

Les essais correspondant aux concentrations minimales n'ont pas abouti à des billes. En revanche, pour les deux autres niveaux de concentrations, nous avons pu obtenir des billes de forme acceptable, comme le montre le tableau N°5 suivant.

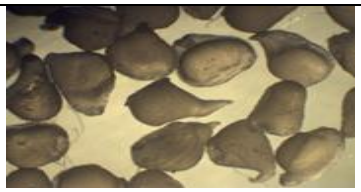
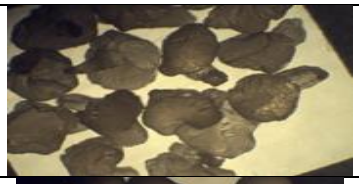
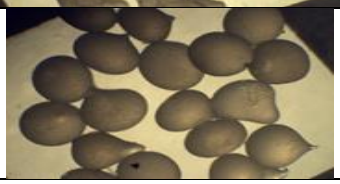
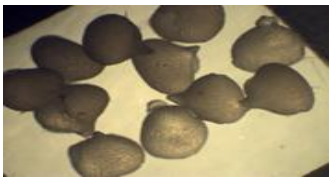
Tableau N°5 : Clichés des billes humides obtenues avec les concentrations moyennes et maximales.

Essais	Figure	Description
1		Formes d'aspect non désiré Pas de formes individualisées
2		
3		
4		
5		Billes plus ou moins rondes présentant des queues
6		Billes déformées présentant des queues
7		Billes déformées présentant des queues
8		Billes plus déformés que les précédentes (7)

9		Billes plus ou moins sphériques présentant des queues
10		Billes plus ou moins sphériques présentant des queues
11		Billes ovalaires
12		Billes ovalaires

Après maturation, les billes humides sont séchées à l'air libre pendant 24 heures. Ensuite, un nombre de 100 microparticules est observé au microscope optique à caméra, afin de mesurer leurs diamètres respectifs et calculer leur diamètre moyen. Le tableau N°6 présente l'ensemble des résultats obtenus.

Tableau N°6 : Observation microscopique des billes séchées et diamètre moyen.

	Image	Diamètre moyen (mm)	Ecart-type
1	**Il n y a pas eu formation de billes**		
2			
3			
4			
5		0,126114	0,0086
6		0,114646	0,0135
7		0,111993	0,0151
8		0,127187	0,0142
9		0,1271547	0,0088
10		0,151526587	0,0126
11		0,19553535	0,0179
12		0,18312855	0,0112

Interprétation des résultats

Les concentrations minimales proposées pour la formation de billes d'alginate n'ont pas aboutis aux objectifs tracés au départ. Cela est probablement dû aux faibles concentrations de la solution d'alginate et de la solution de $CaCl_2$. En effet, lors de leur chute et avec la distance, les gouttes ne résistent pas au choc à la surface de la solution réticulante. Plus la viscosité du gel d'alginate est faible, plus la goutte se déforme rapidement, le long de son trajet avant d'être réticulée. De plus, la faible concentration de la solution de $CaCl_2$ rend la gélification lente et incomplète, en laissant parfois les formes s'agglomérer.

De leur côté, les billes humides formées avec les concentrations moyennes et maximales ont une forme plus ou moins sphérique présentant une queue (tableau N°5), à l'image d'une « figue parfaite » dans certains cas, à surface tantôt striée et tantôt dentelée (tableau N°6). Elles deviennent opalescentes au fur et à mesure qu'elles prennent le temps de maturer dans la solution de réticulation, pour des concentrations de CaCl2 plus élevées.

Après séchage, les billes rétrécissent, elles passent de l'ordre du millimètre au micromètre. Cela est expliqué par la perte en eau au cours de ce processus.

Les microparticules formées avec des concentrations maximales sont bien meilleures en critère de forme que celles formées avec les concentrations moyennes. Elles sont bien plus régulières, mais il est à noter qu'elles sont plus volumineuses.

Aussi, on constate qu'au fur et à mesure que la distance entre la solution d'alginate et le bain de réticulation augmente, les billes deviennent un peu plus allongées. Ceci est visible à l'analyse microscopique (tableau n°6).

Après examen des billes humides obtenues et leur étude granulométrique une fois séchées à l'aide du microscope optique à caméra, la plupart des résultats obtenus ne satisfont pas nos attentes. Cependant, parmi tous ces essais, les résultats obtenus avec les concentrations maximales de la solution d'alginate de sodium, combinées à celles du chlorure de calcium, à de plus courtes distances, sont acceptables (essai N°9). En effet, à rapport égal de concentrations, nous pouvons apprécier la sphéricité des billes, ce qui nous amène vers l'augmentation de ces concentrations et passer à la deuxième étape.

- **Etape n°2**

D'après les résultats de la première étape, nous avons opté pour l'augmentation des concentrations de la solution d'alginate de sodium et du chlorure de calcium. Les valeurs minimales initiales sont exclues du domaine expérimental, on opère un changement de leurs intervalles de concentrations à partir de [2.175% à $C1_{max}$%] et [2.1% à $C2_{max}$%], respectivement. Les limites supérieures sont maintenues pour C1 et C2 (voir tableau N° 3).

Pour cette étape, nous allons donc procéder à la validation du procédé en exécutant uniquement les valeurs au centre et maximales et opérer avec les mêmes distances et temps de maturation, proposés durant l'étape N°1. Ces différents essais sont résumés dans le tableau N°7 ci-dessous :

Tableau N°7 : Paramètres opératoires des formulations des essais de la deuxième étape.

Niveau de concentration	Essais	C_1	C_2	D
Concentrations Moyennes (au centre)	**13**	4.08%	3.05%	D1
	14	4.08%	3.05%	D2
	15	4.08%	3.05%	D3
	16	4.08%	3.05%	D4
Concentrations Maximales	**17**	$C1_{max}$ %	$C2_{max}$ %	D1
	18	$C1_{max}$ %	$C2_{max}$ %	D2
	19	$C1_{max}$ %	$C2_{max}$ %	D3
	20	$C1_{max}$ %	$C2_{max}$ %	D4

Les descriptions des billes obtenues par ces essais sont représentées dans le tableau N°8 qui suit.

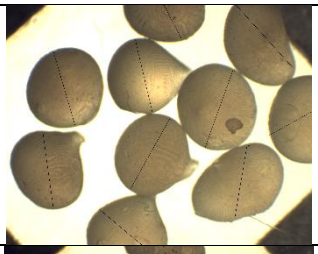
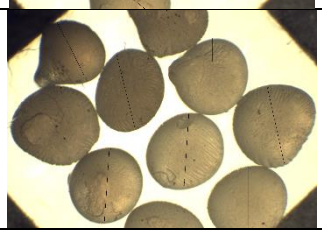
Tableau N°8 : Clichés des billes humides obtenues avec les concentrations moyennes et maximales de la deuxième étape.

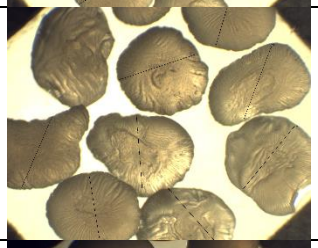
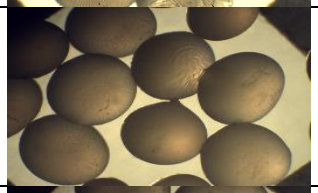
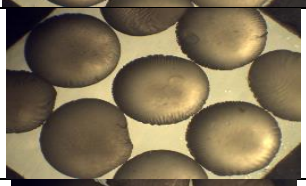
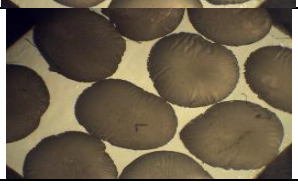
Essai	Image	Description
13		Billes sphériques présentant des queues
14		Billes sphériques quelque fois ovalaires présentant des queues
15		Billes plus ou moins sphériques quelques fois déformées
16		Billes plus ou moins sphériques quelque fois déformées
17		Billes sphériques

18		Billes sphériques
19		Billes sphériques avec présence de certaines formes plus ou moins ovalaires
20		Billes sphériques avec présence de certaines formes plus ou moins ovalaires

De la même manière, une étude granulométrique des billes séchées est effectuée et les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau N°9.

Tableau N°9 : Observation microscopique des billes séchées et diamètre moyen - deuxième étape.

Essai	Image	Diamètre moyen (mm)	Ecart-type (±SD)
13		0,1254482	0,0059
14		0,13044039	0,0076

15		0,13161028	0,0067
16		0,12771495	0,0093
17		0,1951601	0,0107
18		0,2001118	0,0088
19		0,20517136	0,009
20		0,2052352	0,0139

SD : standard deviation

Interprétation des résultats

Les billes humides (13 et 17), formées à une distance D1 entre l'aiguille et la solution de réticulation, sont plus sphériques que celles formées avec les autres distances (D3 et D4). Ces dernières présentent quelques microparticules déformées.

L'analyse microscopiques des billes sèches des essais 13, 14, 15 et 16, montrent des microparticules moins régulières et quelques fois déformées, présentant des queues et des surfaces lâches, alors que celles obtenues avec des concentrations beaucoup plus importantes d'alginate de sodium et de chlorure de calcium, sont sphériques, à surface lisse (17 et 18), parfois lâche à de plus longues distances, donnant l'aspect d'être striée (19 et 20).

En effet, la forte proportion de l'agent réticulant entraine la formation d'une coque rigide autour de la goutte, allant à l'encontre d'une diffusion du calcium et d'une réticulation

complète. Pour des distances plus courtes allant de D1 à D2, les billes semblent plus fermes et sphériques. En effet, elles sont plus régulières mais de taille légèrement plus grande que la série précédente (entre 195 et 200 µm), ceci est directement lié à la concentration C1 et C2 mises en jeu.

On constate également, une légère déformation de ces billes au fur et à mesure que la distance entre l'aiguille et la solution de réticulation augmente. Par conséquent, elles semblent être plus aplaties, ce qui peut justifier leur grand diamètre.

A l'issue de ce constat, l'obtention de billes sphériques semble plus satisfaisante dans l'essai n°17 et n°18. On peut affirmer donc que pour des concentrations plus élevées en C1 et C2, nous assurons l'obtention de billes sphériques. Aussi, nous avons prouvé en comparant les essais 17, 18, 19 et 20 que la distance joue un rôle non négligeable dans l'obtention de ce résultat. Et qu'une faible distance serait souhaitable (entre D1cm et D2 cm).

En revanche, Nous nous interrogeons encore sur l'influence que peut avoir les variations de concentrations de la solution d'alginate et de celle de la solution réticulante de $CaCl_2$ sur la forme des microparticules et leur état de surface.

Pour y apporter des éclaircissements, nous passons au pallier suivant, la 3ème étape.

- **Etape N°3**

Nous poursuivons les essais préliminaires en fixant la concentration de la solution d'alginate à $C1_{max}$ %, tout en variant les concentrations du chlorure de calcium, de 2.1% pour les valeurs minimales à 3.05% pour les valeurs au centre, voir tableau N°4 et 7.

Ces essais sont résumés dans le tableau N°10 ci-dessous.

Tableau N°10 : Paramètres opératoires et de formulation des essais de la troisième étape.

Essais	C_1	C_2	D
21	$C1_{max}$ %	2.1%	D1
22	$C1_{max}$ %	2.1%	D2
23	$C1_{max}$ %	2.1%	D3
24	$C1_{max}$ %	2.1%	D4
25	$C1_{max}$ %	3.05%	D1
26	$C1_{max}$ %	3.05%	D2
27	$C1_{max}$ %	3.05%	D3
28	$C1_{max}$ %	3.05%	D4

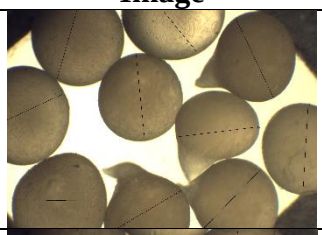
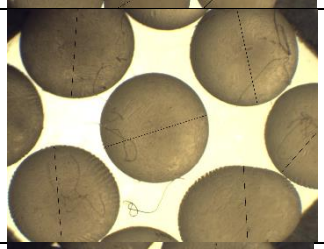
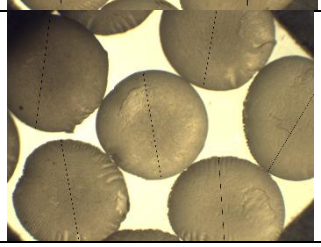
L'aspect macroscopique des billes humides et l'analyse granulométrique des billes séchées à l'air libre pendant 24 heures sont décrits dans les tableaux N°11 et 12, respectivement.

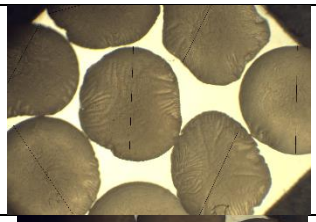
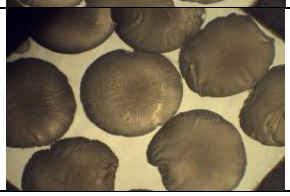
Tableau N°11 : Clichés des billes humides obtenues avec les essais - troisième étape

Essais	Image	Description
21		Billes sphériques quelques fois présentant des queues
22		Billes sphériques avec quelques formes ovalaires
23		Billes sphériques avec quelques formes ovalaires
24		Billes plus ou moins sphériques avec quelques formes ovalaires
25		Billes sphériques

26		Billes sphériques
27		Billes plus ou moins rondes
28		Billes plus ou moins rondes

Tableau N°12 : Analyse granulométrique et aspect des billes obtenues des essais - troisième étape.

Essai	Image	Diamètre moyen	Ecart-type
21		0,15658394	0,0098
22		0,17378652	0,0073
23		0,18447068	0,0081

24		0,18742019	0,0097
25		0,188957	0,0098
26		0,199103	0,0118
27		0,201835	0,0102
28		0,227707	0,014

Interprétation des résultats :

Les billes humides observées à l'œil nu sont de forme sphérique pour les distances allant de D1 à D2, alors qu'elles sont plus ou moins rondes avec les distances de D3 et D4. On remarque aussi l'absence de pointes ou queues.

Les billes sèches observées au microscope optique à caméra se déforment au fur et à mesure que la distance entre l'aiguille et la solution de réticulation augmente, c'est un constat commun entre les étapes entreprises durant toute l'expérimentation, mais ce phénomène est plus prononcé dans les étapes 2 et 3, en rassemblant les trois niveaux de concentrations en CaCl2 (valeurs minimales, valeurs au centre et valeurs maximales). On remarque également la surface lâche et irrégulière des billes de l'essai N°28, un peu moins prononcée pour l'essai N°27, qui donne l'impression que la membrane après réticulation est complètement striée. Ceci est probablement dû à une réticulation incomplète, comme nous l'avons déjà décrit pour l'essai N°20.

En effet, à des concentrations plus importantes, la goutte de la solution d'alginate une fois mise en contact avec la solution réticulante, il se produit immédiatement une réticulation à la

surface et les microparticules sont rapidement façonnées à l'œil nu. En revanche, cette coque formée agit comme une véritable muraille et empêche l'agent réticulant (ici le calcium) de diffuser et d'atteindre le cœur des gouttes immergées. Dès lors, la réticulation ne se fait pas à l'intérieur de la goutte, ce qui engendre une réticulation incomplète de cette dernière, d'où l'aspect décrit. Par ailleurs, la concentration de $CaCl_2$ mise en jeu affecte évidemment ce phénomène, nous pouvons alors aisément constater un effet plus marqué avec des concentrations de 3,05% versus $C2_{max}$% pour $C1_{max}$ % d'alginate de sodium (voir tableau N°9 et 12).

Les billes des essais 25 et 26 sont moins fermes et moins régulières que celles obtenues pour les essais 17 et 18, car les concentrations en $CaCl_2$ y sont moindres, comparées à celles utilisées durant l'étape 2 des essais préliminaires. Par ailleurs, nous pouvons attester avec conviction qu'à plus courte distance, on contribue à minimiser cette irrégularité de surface, car la goutte ne subit pas l'effet de la chute et conserve mieux sa forme initiale, même avec de faibles concentrations de $CaCl_2$. En bref, une distance entre D1 et D2 semble idéale pour conduire avec succès les essais futurs d'optimisation.

Notons également qu'à distance plus courte, les particules en plus d'être sphériques sont de taille plus petite.

- **Etape N° 4**

Nous complétons notre investigation cette fois-ci, en variant les concentrations de l'alginate de sodium et fixant celles de l'agent de réticulation à sa valeur maximale, à savoir $C2_{max}$ % pour une distance de D1 et un temps de maturation conservé. Ceci, afin de délimiter le domaine expérimental et d'aboutir à des intervalles de concentrations qui vont nous permettre de conduire au mieux des essais d'optimisation.

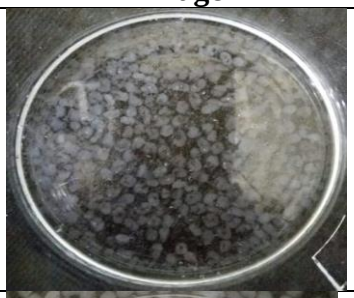
Tous les paramètres sont indiqués dans le tableau N° 13.

Tableau N°13 : Paramètres opératoires et de formulation des essais de l'étape N°4.

N° essai	C1	C2	D
29	0,35 %	$C2_{max}$ %	D1
30	2,175 %	$C2_{max}$ %	D1

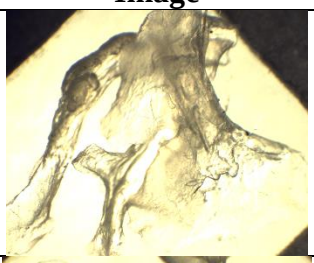
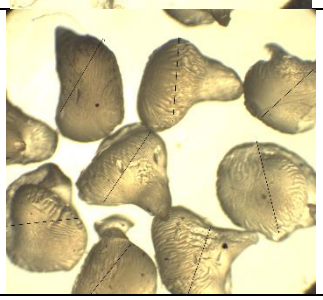
L'aspect des billes d'alginate de calcium obtenues est décrit et illustré dans les tableaux N°14 et 15, respectivement.

Tableau N°14 : Clichés des billes humides obtenues à l'issue des essais de la 4ème étape.

Essai	Image	Description
29		Formes individualisées mais très irrégulières, complètement déstructurées, sans contours définis
30		Formes individualisées et déformées

Les billes sont séchées à l'air libre pendant 24 heures, puis portés au microscope optique à caméra pour une observation et mesure du diamètre moyen. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant N°15.

Tableau N°15 : Analyse granulométrique et aspect des billes obtenues des essais de la 4ème étape.

Essai	Image	Diamètre moyen	Ecart-type
29		/	/
30		0,116145	0,0088

Interprétation des résultats

D'après le tableau N°15, la concentration en alginate de sodium qui est de 0,35%, ne permet en aucun cas de produire des billes (essai N°29). Cependant, notons que pour une concentration un peu plus élevée, les particules sont individualisées mais très loin de la sphéricité recherchée. Donc, pour une concentration de $C2_{max}$ % en solution réticulante, nous ne validons pas celles de l'alginate de sodium proposées, à savoir 0,35% et 2,174%.

II. Discussion des résultats

II.1 Sphéricité des billes

Le tableau N°16 ci-dessous rassemble tous les résultats de l'analyse au microscope à caméra.

Tableau N°16 : Tableau récapitulatif des différents essais préliminaires.

Série	Essais	C_1	C_2	D	Résultat de l'analyse microscopique
Série 1	**1**	0.35%	0.2%	D1	**(-)**
	2	0.35%	0.2%	D2	**(-)**
	3	0.35%	0.2%	D3	**(-)**
	4	0.35%	0.2%	D4	**(-)**
Série 2	**5**	2.175%	2.1%	D1	**(-)**
	6	2.175%	2.1%	D2	**(-)**
	7	2.175%	2.1%	D3	**(-)**
	8	2.175%	2.1%	D4	**(-)**
Série 3	**9**	4%	$C2_{max}$ %	D1	**(±)**
	10	4%	$C2_{max}$ %	D2	**(±)**
	11	4%	$C2_{max}$ %	D3	**(-)**
	12	4%	$C2_{max}$ %	D4	**(-)**
Série 4	**13**	4.08%	3.05%	D1	**(±)**
	14	4.08%	3.05%	D2	**(±)**
	15	4.08%	3.05%	D3	**(-)**
	16	4.08%	3.05%	D4	**(-)**
Série 5	**17**	$C1_{max}$ %	$C2_{max}$ %	D1	**(+)**
	18	$C1_{max}$ %	$C2_{max}$ %	D2	**(+)**
	19	$C1_{max}$ %	$C2_{max}$ %	D3	**(±)**
	20	$C1_{max}$ %	$C2_{max}$ %	D4	**(-)**
Série 6	**21**	$C1_{max}$ %	2.1%	D1	**(+)**
	22	$C1_{max}$ %	2.1%	D2	**(±)**
	23	$C1_{max}$ %	2.1%	D3	**(-)**
	24	$C1_{max}$ %	2.1%	D4	**(-)**
Série 7	**25**	$C1_{max}$ %	3.05%	D1	**(+)**
	26	$C1_{max}$ %	3.05%	D2	**(±)**
	27	$C1_{max}$ %	3.05%	D3	**(-)**
	28	$C1_{max}$ %	3.05%	D4	**(-)**
/	**29**	0,35 %	$C2_{max}$ %	D1	**(-)**

/	**30**	2,175 %	$C2_{max}$%	D1	**(-)**

(±) : forme plus ou moins sphérique, (+) : forme sphérique, (-) : forme non sphérique.

En comparant les essais de mêmes concentrations de la solution d'alginate et celle de $CaCl_2$, à des distances différentes, exemple des séries 1 à 7, on constate que les billes se déforment au fur et à mesure que la distance augmente et perdent de leur sphéricité, en allant d'une distance de D1 à D4.

La forme des billes dépend beaucoup plus de la concentration d'alginate, et la concentration de $CaCl_2$ seule ne garantit en aucun cas la sphéricité des billes. Cela est démontré par les essais 29, 30, 9, 17 effectués à une concentration fixe de $CaCl_2$ à $C2_{max}$%. Les billes deviennent plus sphériques en augmentant la concentration d'alginate de sodium.

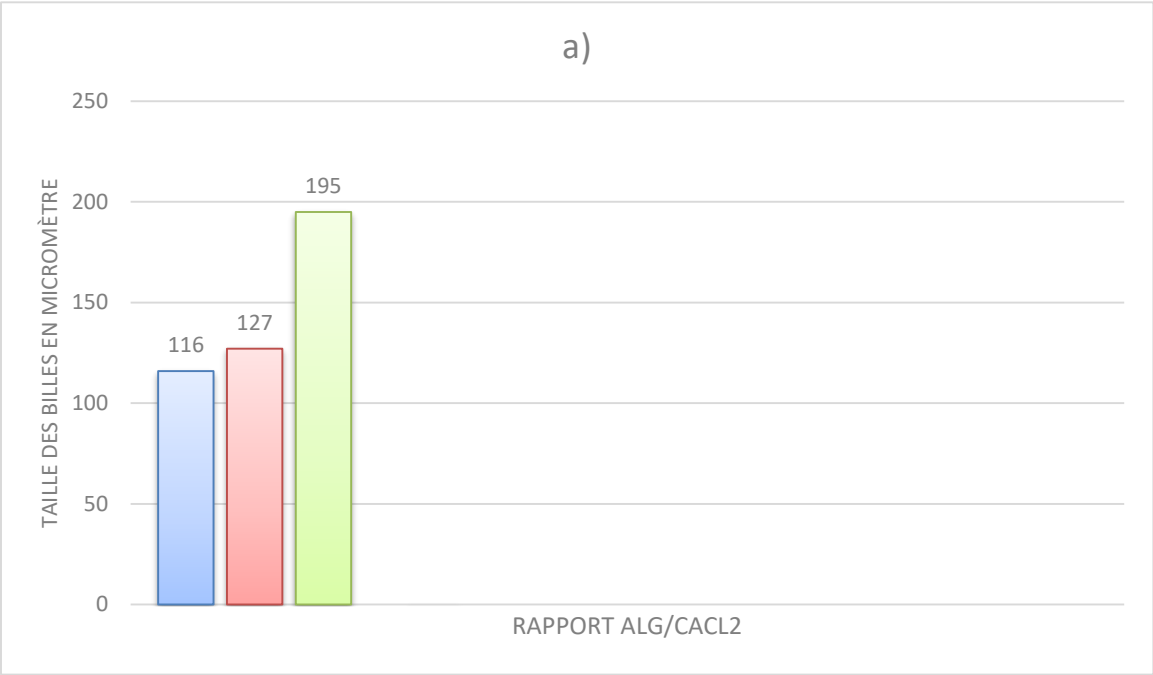
II.2 Taille des billes

Pour répondre de manière précise et complète à la question sur la taille des billes obtenues, rappelons et faisons la comparaison des précédents essais pour la même distance à savoir D1. Car, c'est la plus courte distance qui garantit à chaque fois l'obtention des billes sphériques et de petite taille, pour toutes les expériences.

Dans l'histogramme N°01 (figure N°11), nous faisons une corrélation entre la taille des billes et la concentration C1, pour une concentration C2 fixée à $C2_{max}$%. Les billes de l'essai 30, 9 et 17 voient leur taille augmenter avec l'augmentation de la concentration en C1 (2,175%, 4% et $C2_{max}$ %), respectivement.

La taille est aussi augmentée légèrement avec l'augmentation de la concentration C2, cela est démontré dans l'histogramme N°02 (figure N°11), pour des solutions d'alginate plus visqueuses. Pour des rapports correspondant aux essais 17, 25 et 21, les tailles étaient respectivement de 195 ; 188 et 156 µm. Ce qui sous-entend qu'une faible concentration en $CaCl_2$ est souhaitable, en rapport avec C1. En revanche, pour l'essai N°9, ou nous remarquons qu'avec un rapport (4% d'alginate, $C2_{max}$% de $CaCl_2$), la taille est de 127 µm.

Brièvement, la taille des particules dépend fortement des paramètres opératoires (D) et des paramètres de formulation (C1 et C2). En rassemblant toutes les données de l'étude pour mener à bien les essais d'optimisation de la formule, les intervalles de concentrations retenues en C1 et C2 sont [4-$C1_{max}$] % et [2-$C2_{max}$] %, respectivement.



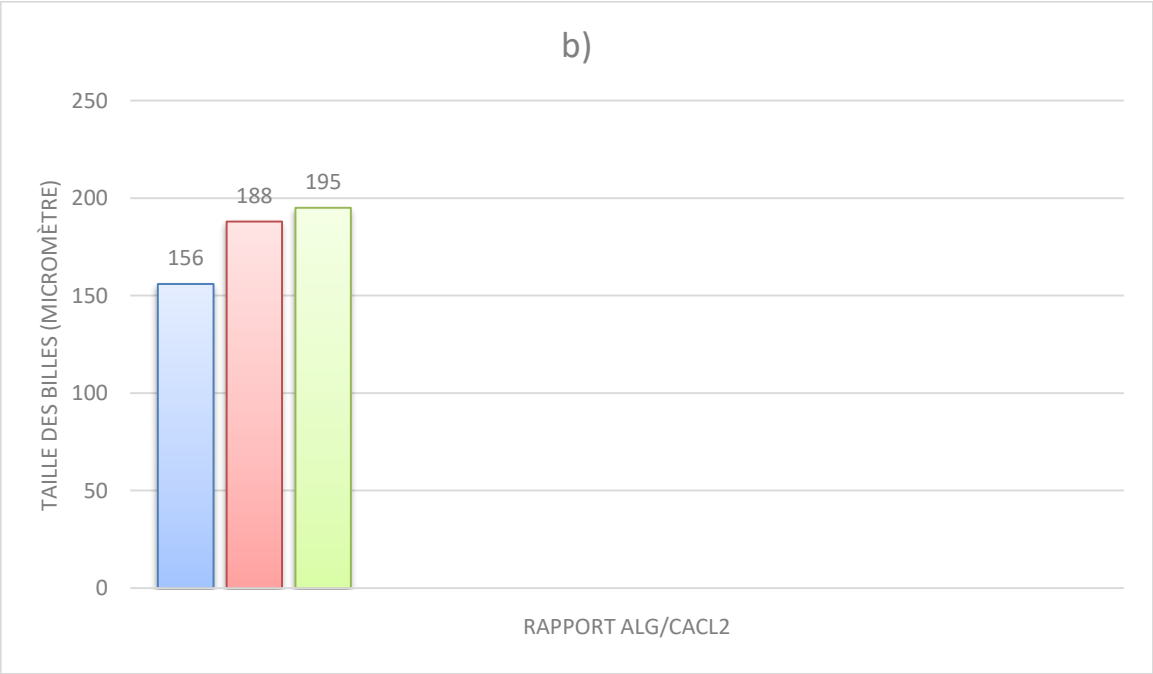


Figure N°11 : Evolution de la taille des billes d'alginate en fonction des concentrations C1 et C2 ; a) Histogramme N°01: corrélation entre la taille des billes et le rapport Alginate/$CaCl_2$ pour une concentration C2 fixe à $C2_{max}$% ; b) Histogramme N°02: La corrélation entre la taille des billes et le rapport Alginate/Cacl2 pour une concentration C1 fixe à $C1_{max}$%

Conclusion

Les billes d'alginate de calcium sont produites par gélification externe d'une solution d'alginate de sodium dans une solution réticulante de chlorure de calcium. 30 essais préliminaires ont été conduits afin d'établir un screening des variables influençant ce processus. L'analyse des données de la littérature nous a permis de faire ressortir les principales variables à savoir les concentrations en alginate de sodium et en chlorure de calcium ainsi que la distance entre l'aiguille et la solution réticulante. Les essais préliminaires ont été conduits dans des conditions variables de concentrations en alginate de sodium allant de 0.35 à $C1_{max}$% et de chlorure de calcium allant de 0.2% à $C2_{max}$%, à des distances différentes (D1, D2, D3 et D4).

L'objectif principal est d'atteindre une forme sphérique régulière. Le choix portera également sur les conditions qui permettent d'atteindre les microparticules les plus petites. La sphéricité et l'augmentation de la surface de contact avec les liquides biologiques, offrent une meilleure biodisponibilité de la forme pharmaceutique en générale. Donc, plus la taille est petite mieux c'est. Toutes les tailles des billes préparées sont de l'ordre du micromètre, ce qui répond en partie aux objectifs fixés.

Nous avons clairement constaté que la sphéricité, régularité de la forme et la taille des billes se jouent en variant les paramètres suivant.

- **Distances entre l'aiguille et la solution de réticulation**

Pour les mêmes concentrations de la solution d'alginate et celle de $CaCl_2$ ($C2_{max}$%), on a obtenu des formes différentes les unes des autres, elles gagnent en sphéricité mais en contrepartie elles se déforment à chaque fois qu'on augmente de distance entre l'aiguille et la solution de réticulation. Cela est peut-être dû au choc que reçoit la goutte au contact de la surface de la solution de réticulation, qui est plus fort aux grandes distances. Cet effet est plus prononcé lorsque les concentrations en Alginate de sodium et chlorure de calcium sont encore plus faibles. En effet, au cours de son trajet et sous l'effet de la gravité, la goutte moins concentrée et donc moins visqueuse se déforme avant même d'atteindre la surface. Lors de son introduction dans le bain réticulant, c'est la forme qu'elle prend juste avant sa prise de contact, qui sera figée.

En outre, à des distances plus grandes et des concentrations plus élevées, une forme sphérique peut avoir lieu, alors qu'à la même distance et à une concentration de la solution d'alginate faible, la forme sphérique n'est pas obtenue [71]. On confirme donc que la distance et la viscosité de la solution d'alginate sont inéluctablement des facteurs influençant l'aspect des

billes. Ce qui nous amène à valider la plus faible distance à savoir D1 pour les essais d'optimisation.

- **Concentrations de la solution d'alginate et de la solution de $CaCl_2$**

En passant des concentrations faibles aux concentrations plus élevées, la forme des billes devient plus sphérique. Elles sont moins déformées et un peu plus régulières.

Une concentration plus élevée de la solution d'alginate permet d'obtenir un gel plus visqueux et donc des gouttes plus résistantes et plus grandes, et encore plus sphériques surtout avec les faibles distances. En effet, une fois arrivées à la surface du bain réticulant, si la viscosité des gouttelettes et les forces de tension superficielle sont incapables de surmonter la tension superficielle exercée par la solution de réticulation, les billes qui en découlent peuvent être déformées [71], comme nous avons pu le constater durant les étapes des essais préliminaires.

Par ailleurs, une concentration élevée de la solution de réticulation permet aux billes une gélification rapide tout en conservant leur forme initiale. Cette dernière dépend de la concentration d'alginate.

Aussi, Une augmentation légère des tailles des billes formées et plus précisément de leur diamètre est constatée avec les mêmes concentrations de la solution d'alginate tout en augmentant celle de $CaCl_2$ (Voir histogramme N°02) ce qui n'est pas décrit dans la littérature.

Pour conclure, les concentrations C1 et C2 semblent impacter la forme des microparticules produites par gélification externe à base d'alginate de sodium et de solution de chlorure de calcium. Toutes les données semblent converger vers la même conclusion. En effet, à concentrations plus élevées C1 et C2, les gouttes prennent rapidement en masse et sont parfaitement réticulées. Ajouté à cela, la viscosité de la solution d'alginate contribue positivement à garantir la sphéricité en impactant la taille des particules.

Aussi, la distance entre la pointe de l'aiguille et la surface de la solution réticulante doit être la plus faible possible pour obtenir une taille réduite des particules. A de plus grandes distances, les microparticules sont aplaties et déformées.

Ces conditions respectées, les billes formées sont micrométriques, sphériques et régulières.

CONCLUSION GENERALE

De nos jours, le monde industriel et plus précisément l'industrie pharmaceutique, porte un intérêt particulier sur la résolution des problèmes liés à la stabilité, l'efficacité, l'administration, le contrôle de la vitesse et le site de libération des matières actives dans les différentes formes galéniques. La microencapsulation connait donc un essor important dans ce domaine, où elle trouve de nombreuses applications et répond à pas mal de difficultés.

Le développement d'un procédé d'encapsulation requiert une démarche complexe qui consiste à choisir son type, définir les matières premières utilisables, étudier leurs compositions et les paramètres opératoires à exécuter. Par ailleurs et afin de se conformer aux exigences de la chimie pour le développement durable, la matrice du produit préparé est constituée d'un polymère d'origine naturelle extrait d'algues brunes : l'alginate. L'utilisation de ressources naturelles renouvelables de faible coût et disponibles en grandes quantités, permet de développer un produit ayant un impact réduit sur l'environnement et une faible pollution.

Le procédé d'encapsulation par une gélification ionotropic est connu depuis des années, mais il reste de nombreuses questions ouvertes à propos des étapes du procédé conduisant à la formation des microcapsules. Il est donc nécessaire de mettre en évidence les points importants qui doivent être pris en compte lors de la mise au point de ce type de formulation.

L'objectif principal de ce travail étant donc de mettre au point des billes polymériques idéales tout en évaluant l'impact des paramètres de composition et opératoires impliqués dans leur mise au point.

Afin de mener à bien cette étude, nous avons conduit des essais de préformulation où des billes d'alginates de calcium, sphérique et de tailles micrométriques ont été produites avec succès, par une gélification externe d'une solution d'alginate de sodium dans une solution réticulante de chlorure de calcium. Nous avons démontré clairement l'influence des variations de la concentration en polymère, la concentration de l'agent réticulant et la distance entre l'aiguille et la surface du bain gélifiant sur la régularité de la forme, la sphéricité et la taille des microparticules. Ceci nous permet de conclure que la maitrise de la formule et du procédé par le biais de ses variables, nous a permis de définir une zone de formulations optimales.

Références bibliographiques

[1] Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie ; Matériaux polymères biodégradables et applications ; France ; 2006.

[2] Bouzid L. Modélisation Moléculaire des copolymères PMMA-PS [Thèse de doctorat]. Oran : Université des sciences et de la technologie Mohamed Boudiaf ; 2012.

[3] Benyahia S ; Abdallah Bouamrane.A. Encapsulation de la doxycycline et de l'aspirine : étude de l'effet des paramètres physicochimiques de préparation sur la stabilité des microcapsules d'alginate. [Mémoire]. Khemis Miliana : Université Djilali Bounaâma ; 2017.

[4] Mansouri M. Etude des propriétés thermique et mécaniques de biopolymères sous faisceau d'électrons [Thèse]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid ; 2017.

[5] Élyse R. Les plastiques biosourcés présentent-ils moins d'impacts négatifs pour l'environnement que les plastiques issus de la pétrochimie [maitrise]. Université de Sherbrooke ; 2014.

[6] Zarrad I. Valorisation des sédiments marins dans une matrice agrosourcée : Caractérisation expérimentale des biocomposites et modélisation du comportement mécanique. Université de Picardie Jules Verne ; 2016.

[7] Boukhouta I. Elaboration de microparticules chargées d'Amoxicilline et de Théophylline à partir de polymères biodégradables ; Etude cinétique de leur libération [Thèse]. Sidi Bel-Abbes : Université Djillali Liabes ; 2019.

[8] BEHLOUL L, HAMDAOUI L.Effet d'un Renfort Biodégradable sur les Propriétés Physico-mécaniques d'un Biopolymère PHBV. [Thèse]. Bejaia : Université Ahmed. Mira ; 2015.

[9] Holy NR, Michel P, Philippe D. Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2006 10 (3), 185 – 196.

[10] Niekraszewicz B, Niekraszewicz A. The structure of alginate chitin, and chitosan fibres. In: Eichhorn S, Hearle JWS, Jaffe M, Kikutan T. Handbook of Textile Fibre Structure, volume2:Natural; Regenerated, Inorganic and Specialist Fibers. London : Woodhead Publishing ; 2009. p. 266-304.

[11] Ararem F.Synthèse et caractérisation de biopolymères : application au piégeage de colorant. [Mémoire]. Oran : Université Es-Sénia ; 2010.

[12] BOUDERGA M. Adsorption du vert malachite par des composite « alginate/bentonite » [mémoire]. Tlemcen : Universite Abou BekrBelkaid ; 2015.

[13] Aramwit.P. Introduction to biomaterials for wound healing. In: Magnus S. Wound Healing Biomaterials. Woodhead Publishing; 2016. p. 3-38.

[14] Abhilash P, Thomas D. Biopolymers for biocomposites and Chemical Sensor Applications. In: Sadasivuni KK, Ponnamma D, Kim J, Cabibihan JJ, Almaadeed MA. Biopolymer Composites in Electronics. Elsevier; 2017. p. 405-435.

[15] Hemaiswarya S, S.Carvalho I.Algal Biotechnology . In: Omics Technologies and Bio-Engineering; 2018.

[16] Azeem M, ul-Haq I, Batoul F. Algal-Based Biopolymers. In: Zia KM, Zuber M, Ali M. Algae Based Polymers, Blends, and Composites. Elsevier; 2017. p. 1-31.

[17] Mahadevappa Y. Arjumand A, Ravindra R. Polymer Synthesis and Processing, in Natural and Synthetic Biomedical Polymers. In: Sangamesh G K, Cato T. Natural and Synthetic Biomedical Polymers. Elsevier ; 2014. p. 01-31.

[18] Rinaudo M. Les alginates et les carraghénanes. L'actualité chimique ;2002. p. 35-38.

[19] Mession GL. Influence de l'état protéique sur la dynamique de séparation de phase et de gélifica-tion dans un système ternaire aqueux à base de protéines de pois et d'alginate [Thèse]. Université de Bourgogne ; 2012.

[20] Yuri SP, Agustino MA. The Synthesis of Alginate Microparticles and Nanoparticles. Drug Des Int Prop Int J. 2019; 3suppl1; S293-327.

[21] Ilekuttige P, Shanura F. Alginate-based nanomaterials. Fabrication techniques, properties, and applications. Chemical Engineering Journal;2019.

[22] Zheng Z, Joachim K. Biodegradable Polymers. In: lazna R, Langer R. Principles of Tissue Engineering (Fifrth Edition). Academic Press; 2014. p. 317-342.

[23] Aravamudhan A, Sangamesh G K. Natural Polymers . In: Sangamesh G K, Cato T. Natural and Synthetic Biomedical Polymers. Elsevier ; 2014. p. 67-89.

[24] Dusseault J. Biocompatibilité des Microcapsules d'Alginate : Purification d'Alginate, Réaction Immunitaire de l'Hôte et Protection du Receveur [Thèse]. Université de Montrél ; 2009.

[25] Vincent R. Synthèse et caractérisation de billes d'alginate magnétiques pour l'élimination de polluants organiques dans les effluents par séparation magnétique [Thèse]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI ; 2008.

[26] MOKRANI N. Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères alginate de sodium/chitosane [Mémoire]. Boumerdes : Universite M'hamed Bougara ;2013.

[27] Goujon I. les alginates, excipients d'origine marine utilisés dans l'industrie pharmaceutique :application a la synthèse d'un gel chimique [Thèse]. Nancy: Université Henri Poincaré ; 2004.

[28] Agarwa A, Abbott NL. Polymeric materials for chronic wound and burn dressings. In : Farrar D. Advanced Wound Repair Therapies. Woodhead Publishing; 2011.p. 186-208.

[29] Kuen YL, Mooneye DJ. Alginate: Properties and biomedical applications. Progress in Polymer Science 37 (2012) 106– 126.

[30] Rinaudo M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials.Centre de recherches sur les MacromoléculesVégétales (CNRS), affiliated with Joseph Fourier University; 2008.

[31] Ben Messaoud G. Structuration et contrôle de l'architecture de capsules à cœur liquide à base d'hydrogel d'alginate par association de biopolymères. [Thèse]. Université de Lorraine ;2015.

[32] Aissa H. Conception de nouveaux biomatériaux à base d'alginate modifiée chimiquement par oxydation et/ou par la gélatine suite à la réaction de Maillard [Mémoire]. Sétif : Université Sétif 1 ; 2014.

[33] Hamimed F. Élaboration de billes à base d'alginate, étude rhéologique et de comportement [Thèse]. Boumerdes : Université M'hamed Bougarra ; 2016.

[34] Vincent E. Les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie, application à la construction d'un biomatériau [Thèse]. Unversité HENRI POINCARE - NANCY 1; 2010.

[35] Rajendran S, Rigby AJ. Textiles for healthcare and medical applications in Handbook of Technical Textiles (2nd éd) ; 2016.

[36] Obeid L. Synthèse et caractérisation de matériaux magnétiques pour l'adsorption de polluants présents dans les eaux [Thèse]. Paris:Université Pierre et Marie Curie; 2014.

[37] Ni ZENG. Formulation et caractérisation d'une forme buccale mucoadhésive thermogélifiante pour administration de sulfate de salbutamol [thèse]. Paris : Université Paris Descartes ; 2015.

[38] Marion P. Développement de deux plateformes pharmaceutiques gélifiées : un hydrogel de nanocapsules lipidiques et un organogel avec le même agent de réticulation [Thèse]. Université d'Angers ; 2019.

[39] Vermonden T, Censi R, Wim EH. Hydrogels for Protein Delivery. Chemical reviews. 2012 ; 112 :2853−2888.

[40] Jayakrishnan A. Injectable Hydrogels for Biomedical Applications. American Journal of Polymer Science. 2014; 4(2): 25-31.

[41] Jaya M, Vivek K S. Cross-linking in Hydrogels - A Review. American Journal of Polymer Science 2014, 4(2) : 25-31.

[42] Bradai M. Synthèse et étude physico-chimique de nouveaux polyelectrolytes à base d'hydrogels de poly (styrene sulfonate de sodium réticulé-tetraethylene glycol dimethacrylte [Thése]. Oran: université Ahmed Benbela; 2018.

[43] Syed K H G, Al-Assaf S and Glyn O P. Hydrogels: Methods of preparation, Characterisation and Applications. Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications, Prof. Angelo Carpi (Ed.), 2011 ISBN: 978-953-307-268-5.

[44] Dumont M. Élaboration et caractérisation de fibres mixtes Alginate/ Chitosane [Thèse]. Lyon : Université Claude Bernard Lyon 1 ; 2017.

[45] Vallée F. Synthèse et caractérisation d'un hydrogel d'alginamide pour la régénération de voies nerveuses lésées au sein du système Nerveux Central chez le rat [Thèse]. Lorraine : Institut national polytechnique de Lorraine ; 2007.

[46] Delphine M. Etude du transfert diffusionnel de solutés macromoléculaires dans les hydrogels d'alginate de calcium [Thése]. Lorraine : Institut National Polytechnique de Lorraine ; 2005.

[47] Gounjon I. Les Alginates : excipients d'origine marine utilisés dans l'industrie pharmaceutique. Application à la synthèse d'un gel chimique.Nancy : Université Henri Poincaré - Nancy I ; 2004.

[48] Su Hung C, Nidhi B, Bhesh B. Alginate gel particles–A review of production techniques and physical properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2017, VOL. 57, NO. 6, 1133–1152.

[49] Aroun I. Mise en forme du biopolymére amidon, corrélation structrure, propriétés et application dans l'élimination du cadmium present dans l'eau [mémoir]. Blida : université Saad Dahlab ; 2012.

[50] Vincent P. Nouveaux traitements de surface respectueux de l'environnement par des gels polymères réticulables Application à la préparation des surfaces d'usage dans le secteur aéronautique [Thèse]. Bordeaux : Université de Bordeaux I ; 2010.

[51] Abbas S. Préparation et caractérisation d'un composite blende à base d'une montmorillonite pontée à l'aluminium et alginate /PVA, application à l'étude cinétique de la décoloration des eaux usée. [Mémoire de Master] Blida. Université Saad Dahlab ; 2011.

[52] Lakrid K. Adsorption du cadmium en système continu sur la montmorillonite pontée à l'aluminium encapsulée par l'alginate de sodium [mémoir]. Blida : université Saad Dhlab ; 2012.

[53] Oerther S. Conception et évaluation de biomatériaux polysaccharidiques pour le comblement de lésions ostéochondrales : Intérêt de l'association alginate-hyaluronate [Thèse]. Nancy : Université Henri Poincaré – Nancy ; 2018.

[54] Racovita S, Vasiliu S, Popa Luka C. Polysccharides based on micro-and nanoparticules obtained by ionic gelation and their applications as drug delivery systems. Revue Roumaine de Chimie. 2009 ; 54(9), 709–718.

[55] Kuen Y L, Mooneya DJ. Alginate : Properties and biomedical applications. Progress in Polymer Science. 2012 ; 37 : 106– 126.

[56] Zahaf M. Formulation de microcapsules à libération prolongée à base de principe actif très peu soluble ou insoluble et caractérisation biopharmaceutique [Mémoire]. Blida : Université Blida1 ; département de chimie industrielle ; 2014.

[57] Merakchi A. Etude de la formulation d'un principe actif (la metformine) dans des polymères biodégradables [mémoire]. Bejaia : Universite A.mira ; 2012.

[58] DIBENE K ; FOURAR S. Effet du chitosane sur les propriétés des microparticules à base d'un anti-inflammatoire stéroïdien « la prednisone » [Mémoire]. Bejaia : Université Abderrahmane Mira ; 2016

[59] Guendouzen H. Bousnan M. Formulation et caractérisation des microparticules à base de biopolymères [Mémoire]. Bejaia : Université Abderrahmane Mira; 2017.

[60] S.-F. Lin, Y.-C. Chen, R.-N. Chen, L.-C. Chen, H.-O. Ho, Y.-H. Tsung, M.-T. Sheu, D.-Z. Liu, Improving the stability of astaxanthin by microencapsulation in calcium alginate beads, PloS one. 11 (2016) e0153685

[61] Arrouj.C B.Hanane, Etude d'un procédé de microencapsulation par émulsification d'un principe actif anti-inflammatoire et caractérisation biopharmaceutique. [Mémoire]. Bejaïa. Université A. Mira ; 2016.

[62] N. Venkata Naga Jyothi1 , P. Muthu Prasanna1 , Suhas Narayan Sakarkar2 , K. Surya Prabha1 , P. Seetha Ramaiah1 and G. Y Srawa Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. Journal of Microencapsulation, 2010 ; 27(3): 187–197.

[63] Nguyen Thi Thanh U, Zuratul Ain Abdul H, Nguyen Xuan Thanh T, Nurazreena Binti A. Fabrication of alginate microspheres for drug delivery. A review, Journal Pre-proofs; 2019.

[64] D. Dhamecha, et al. Applications of alginate microspheres in therapeutics delivery and cell culture: Past, present and future. International Journal of Pharmaceutics 569 (2019) 118-627.

[65] F. Chen et al. Controlled-release of antacids from biopolymer microgels under simulated gastric conditions: Impact of bead dimensions, pore size, and alginate/pectin ratio. Food Research International 106 (2018) 745–751.

[66] Ignacio Z, Tatiana RAC, V´ıctor M P, Ru´ız-H, Patricio RS, Perullini M EFFECTS OF pH, EXTRUSION TIP SIZE AND STORAGE PROTOCOL ON THE STRUCTURAL PROPERTIES OF Ca(II)-ALGINATE BEADS ;2018.

[67] Zhang, Z., Zhang, R., Zou, L., McClements, D.J., Protein encapsulation in alginate hydrogel beads: Effect of pH on microgel stability, protein retention and protein release, Food Hydrocolloids (2016), doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.03.015.

[68] P. Smrdel, M. Bogataj, and A. Mrhar: The influence of selected parameters on the size and shape of alginate beads prepared by ionotropic gelation (2008) 77-89.

[69] Blandino, A., Macias, M. and Cantero, D. (1999). Formation of calcium alginate gel capsules: Influence of sodium alginate and cacl2 concentration on gelation kinetics. J. Biosci. Bioeng. 88:686–689.

[70] Evandro M, Denis P, Ramila C R, Denis R. Oil encapsulation techniques using alginate as encapsulating agent: applications and drawbacks, Journal of Microencapsulation;2017.

[71] Ouwerx C, Velings N, Mestdagh MM, Axelos MAV.Physico-chemical properties and rheology of alginate gel beads formed with various divalent cations,1998.

[72] Nafti Y. Contribution à l'étude de la cinétique de libération d'un principe actif: oxacilline sodique encapsulé en vue de déterminer les conditions de conservation [mémoire]. Djelfa : Université ZIANE Achour ; 2008.

[73] Camacho DH, Uy SJY, Joyce FM, Olisha SM, Tricia J MC. Encapsulation of folic acid in copper-alginate hydrogels and it's slow in vitro release in physiological pH condition. Food Research International 119 (2019) 15–22.

[74] A.K. Anal, W.F. Stevens. chitosane-alginate multilayer beads for controled release of ampicilline. International journal of pharmaceutics 290 (2005) 45–54.

[75] S.-J. Hwang et al. Release characteristics of ibuprofen from excipient-loaded alginate gel beads, International journal of pharmaceutics 116 (1995) 125-128.

[76] L. Hu, D. Kong, Q. Hu, X. Yang, H. Xu. Preparation and optimization of a novel microbead formulation to improve solubility and stability of curcumin. Particulate Science and Technology 35 (2017) 448-454.

[77] Thu, B., Smidsrød, O. and Skja_ k-Bræk, G. (1996). Alginate gels— some structure-function correlations relevant to their use as immobilization matrix for cells. Progr. Biotechnol. 11:19–30.

[78] Chan LW, Lee HY, Heng PWS. Mechanisms of external and internal gelation and their impact on the functions of alginate as a coat and delivery system. Carbohydr Polym,2006;63:176–87.

[79] Martinsen, A., Skja_ k-Bræk, G., Smidsrød, O., Zanetti, F. and Paoletti, S. (1991). Comparison of different methods for determination of molecular weight and molecular weight distribution of alginates. Carbohydr. Polym. 15:171–193.

[80] Thu, B., Bruheim, P., Espevik, T., Smidsrød, O., Soon-Shiong, P. and Skja_ k-Bræk, G. (1996). Alginate polycation microcapsules: Ii. Some functional properties. Biomaterials. 17:1069–1079.

[81] Mokale V, Naik J, Khairnar G, Khairnar G. Formulation and development of diltiazem hydrochloride sustained Rrlease alginate beads by ionotropic external gelation technique. Advances in pharmacology and pharmacy 1(3): 139-143, 2013.

[82] Lopez MD, Maudhuit A, Pascual-Villalobos MJ, Poncelet D. Development of formulations to improve the controlledrelease of linalool to be applied as an insecticide. J Agric Food Chem, 2012;60(5):1187–92.

[83] Hariyadi, D. M., Wang, Y. W., Lin, S. C. Y., Bostrom, T., Bhandari, B. and Coombes, A. G. A. (2012). Novel alginate gel microspheres produced by impinging aerosols for oral delivery of proteins. J. Microencapsul. 29:250–261.

[84] Hariyadi, D. M. (2011). Investigations of nano and microparticles for drug and protein delivery produced by atomisation of biopolymer solutions. PhD Thesis, School of Pharmacy, The University of Queensland, Brisbane, Australia.

[85] Aslani, P. and Kennedy, R. A. (1996). Studies on diffusion in alginate gels. I. Effect of cross-linking with calcium or zinc ions on diffusion of acetaminophen. J. Control. Rel. 42:75–82.

[86] Al-Musa, S., Abu Fara, D. and Badwan, A. A. (1999). Evaluation of parameters involved in preparation and release of drug loaded in crosslinked matrices of alginate. J. Control. Rel. 57:223–232.

[87] Liu, X. D., Yu, W. Y., Zhang, Y., Xue, W. M., Yu, W. T., Xiong, Y., Ma, X. J., Chen, Y. and Yuan, Q. (2002). Characterization of structure and diffusion behaviour of ca-alginate beads prepared with external or internal calcium sources. J. Microencapsul. 19:775–782.

[88] Eng-Seng Chan , Boon-Beng Lee , Pogaku Ravindra , Denis Poncelet ; 2009 ; Prediction models for shape and size of ca-alginate macrobeads produced through.

[89] Peretz S, Olteanub M, Stoian. Microparticules de chitosane et d'alginate formées en présence des tensions actifs. Revue Roumaine de chimie.2009 ; 54(1) :75-83.

[90] Abdellahi E. Synthèse et propriétés de biosorbants à base d'argiles encapsulées dans des alginates : application au traitement des eaux [Thèse]. Limoge : Faculté des Sciences et Techniques ; 2010.

[91] Hammache Y. Synthèse et Caractérisation d'un Composite à base de Zéolithe-Alginate. Application dans la Récupération des Ions Uranyles à partir des Effluents aqueux. [Mémoire de Master]. Boumerdes : université de M'hamed Bougara ; 2016.

[92] Aichour A. Synthèse et propriétés de bioadsorbants encapsulés dans l'alginate : application à l'élimination des colorants du milieu aqueux [Thèse]. Sétif : université Ferhat Abbas ; 2019.

Annexes

Annexe n°1 : Fiche technique de l'alginate

Chemopharma

Certificate Of Analysis

SODIUM ALGINATE (low viscosity)
Laboratory Reagent

Manufacture date : 06/2018
Expiry date : 06/2023

Product code: 319790500
C.A.S. : 9005-38-3
Batch N°: 319790500-0618-011

Analysis :

	Specifications:	*Results:*
Description	Creamish yellow coloured powder	Creamish yellow coloured powder
Viscosity of 1% W/V solution at 25°C	5.5 ± 2.0 cps	5.4 cps
Heavy metals (as Pb)	Max.0.003%	<0.003%
Chloride (Cl)	Max.1%	0.9%
E.coli & salmonella	Absent	Absent

Complies with EP standard.

The product is certified by *Biochem* Chemopharma laboratory.

BIOCHEM Chemopharma France

Tél: +33(3)86.27.24.96

E-mail: technical@biochemopharma.fr

Résumé

Des microparticules d'alginate de calcium ont été préparées par la méthode de gélification externe. Elles résultent de la réticulation de l'alginate de sodium par des ions de calcium. L'effet des paramètres de formulation et du procédé sur les propriétés des billes formulées a été étudié, à savoir la concentration en polymère, la concentration de l'agent réticulant, la distance entre la pointe de l'aiguille et la surface du bain gélifiant, le temps de maturation et le mode de séchage. Les résultats de la caractérisation ont montré qu'on pouvait obtenir des microcapsules avec une forme sphérique, une taille inférieure à 500 µm.

Mots clés : alginate, réticulation, gélification externe, microparticules.

Abstract

Calcium alginate microparticles were prepared by the external gelling method. They result from the cross-linking of sodium alginate with calcium ions. The effect of formulation and process parameters on the properties of the formulated beads was studied, namely the polymer concentration, the concentration of the cross-linking agent, the distance between the needle tip and the surface of the gelling bath, the maturation time and the drying method. The results of the characterization showed that microcapsules with a spherical shape and a size of less than 500 µm could be obtained.

Key words: alginate, cross-linking, external gelling, microparticles.