

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université M'hamedBougaraBoumerdes

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Département : Technologie Alimentaire

Filière : Génie des Procédés

Option : Sciences et biotransformation du lait

THEME

**Microencapsulation de la poudre de l'écorce de grenade(PEG) par
coacervation complexe (pectine/caséine): Essai d'incorporation
dans le yaourt**

Présenté par : **BENYAHIA HADJER**
HADBI FAHIMA

Soutenu le : **Juin 2016**

Promoteur : **Mr Zidani S.**
Co Promotrice: **Melle Haderbache L.**

Promotion 2016

RESUME

Le présent travail s'intéresse à la micro-encapsulation de la poudre des écorces de grenade. La technique a été réalisée par un complexe de polymère avec deux ratio (Poudre d'écorce de grenade ; polymère / 1 ; 1 et 1 ; 2). Les résultats obtenus montrent que les microcapsules sont présentées sous forme d'agglomérat, avec une efficacité d'encapsulation de plus de 90%. Le test de dissolution des microcapsules dans le pH gastro-intestinal *in vitro*, a révélé une diffusion partielle, des composants bioactifs, à un pH 1,2 (pH gastrique) et importante (plus de 50%) au pH alcalin 6,8 (pH intestinal). Le test sensoriel préliminaire a démontré que l'astringence a été sensiblement masquée pour le yaourt enrichi par la poudre d'écorce de grenade encapsulée (1 ; 2).

Mots clés : Micro-encapsulation, poudre de l'écorce de grenade, yaourt.

ABSTRACT

In this study, we have investigated the microencapsulation of pomegranate peel powder. The technique has been realized by a polymer complex (pectin; casein) with two ratio (pomegranate peel powder; polymer / 1; 1 et 1; 2). Obtained results show that the microcapsules appear as agglomerate, with more than 90% of encapsulation efficiency. The microcapsules dissolution test, at gastrointestinal pH conditions *in vitro*, revealed partial diffusion of bioactive components at pH 1.2 (gastric pH) and high one (more than 50%) at alkaline pH 6.8 (intestinal pH). The preliminary sensory test showed that the astringency was significantly masked in pomegranate peel powder encapsulated (1; 2) enriched yogurt.

Keywords: Micro-encapsulation, pomegranate peel powder, yogurt.

الملخص

في هذه الدراسة، قمنا بمعاينة كبسلة مسحوق قشور الرمان. تمت الكبسلة باستعمال المركب الكيميائي (بكتين: كازيين) بالنسبتين (1:1 و 1:2 / مسحوق قشور الرمان : مركب كيميائي). النتائج المتحصل عليها تظهر الكبسولات على شكل كتل، مع فعالية كبسلة تجاوزت 90%. اختبار انحلال الكبسولات في درجة حموضة المعدة و الأمعاء (في المختبر) بينت تحلل جزئي للمكونات البيولوجية النشطة في درجة حموضة 1,2 (درجة حموضة المعدة) و تحلل ملحوظ (أكبر من 50 %) في درجة , قاعدي 6,8 (درجة حموضة الأمعاء). وأظهر الاختبار الحسي الأولي ان طعم المرارة قد تم اخفاؤه بشكل ملحوظ في ما يخص الزبادى المضاف اليه مسحوق قشور الرمان المكبسلة بنسبة (1,2)

الكلمات الدالة: الكبسلة ,مسحوق قشور الرمان , الزبادى

Remerciements

Louange à notre seigneur « ALLAH » qui nous a dotés de la merveilleuse faculté de raisonnement. Louange à notre créateur qui nous a permis d'acquérir le savoir.

C'est à lui que nous adressons toute notre gratitude en premier lieu.

Nous tenons à remercier Mr Benakmoum ainsi que M^r Louhab K. de nous avoir donné l'occasion d'accomplir ce travail.

On adresse nos remerciements les plus sincères, nos respects et notre profonde gratitude à notre promoteur M^r Zidani S. et notre co-promotrice M^{lle} Haderbache L. pour votre sérieux, vos idées lumineuses, vos conseils précieux et vos qualités de rigueur scientifique ; Pour l'inspiration ainsi que l'aide et le temps attribué à notre formation et à la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier les honorables membres de jury qui ont acceptés de juger ce travail et d'apporter leurs précieuses critiques et suggestions.

On tient à exprimer notre gratitude à nos amis/es, nos collègues et à notre promotion MSBLA 2015-2016, nous sommes arrivées à ce stade grâce aux encouragements et à l'aide apporté par eux, ainsi que tous les laborantins du département de technologie alimentaire auxquels nous vouons le respect et l'admiration.

Finalement, nous voudrions adresser nos vifs remerciements à tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, de près ou de loin, spécialement M^{lle} Haderbache L.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	

Chapitre I: LE GRENADIER

I.1. Introduction.....	3
I.2. Généralité sur le grenadier	3
I.3. Classification botanique.....	4
I.4. Valeur nutritionnelle de la partie comestible	4
I.5. L'écorce de grenade.....	5
I.6. Composition chimique de l'écorce de grenade	6
I.7. Utilisations de la peau de grenade.....	6
I.7.1 Usage empiriques et traditionnels	6
I.7.2. Usages thérapeutiques	7
I.7.2.1.Prévention des maladies digestives	7
I.7.2.2. Propriétés anti-inflammatoire	7
I.7.2.3. Activité antioxydante.....	7
I.7.2.3. Activité antibactérienne	8
I.7.2.4. Propriété antiseptiques.....	8
I.7.3.Utilisation en agroalimentaire	8
I.7.3.1. Conservation des produits carnés	8
I.7.3.2. Stabilisation de l'huile de tournesol	9
I.7.3.3. Formulation d'un jus moins sucré	9

Chapitre II: LA MICRO-ENCAPSULATION

II.1. Micro-encapsulation	10
II.1.1. Historique.....	10
II.1.2. Classification des microparticules	11
II.1.3. Intérêts de la micro-encapsulation	13
II.1.3.1 Protéger la substance encapsulée	13
II.1.3.2 Contrôler la libération de la substance encapsulée.....	13
II.1.3.3 Faciliter l'utilisation des produits de nature liquide.....	13
II.2. Les applications de la micro-encapsulation	13
II.2.1. La micro-encapsulation en industrie alimentaire	14
II. 2.1.1. Matériaux d'encapsulation	16
II.3. Les différents procédés de micro-encapsulation	18
II.3.1. Procédés d'encapsulation physico-chimiques.....	20
II.3.1.1. Coacervation.....	21
II.3.1.2. Gélification.....	23
II.3.1.3.Evaporation de solvant	24
II.3.2. Procédés d'encapsulation chimiques	24

II.3.2.1. Polymérisation interfaciale.....	25
II.3.2.2. Polymérisation en milieu dispersé.....	25
II.3.3. Procédés d'encapsulation physico-mécaniques	26
II.3.3.1. Enrobage en lit fluidisé	26
II.3.3.2. Atomisation	27
II.3.3.3. Extrusion	28
II.4. Libération contrôlée.....	29

PATRIE EXPERIMENTALE

Chapitre III: MATERIEL ET METHODES

III.1. Démarche expérimentale	33
III.1.1. Problématique	33
III.1.2. Obtention de la poudre de l'écorce de grenade	33
III.1.3. La micro-encapsulation de la poudre d'écorce de grenade	34
III.1.3.1. La technique de la microencapsulation.....	34
III.2. Méthodes.....	34
III.2.1. Caractérisation de la PEG.....	34
III.2.1.1. Détermination de la teneur en eau	34
III.2.1.2. Détermination du pH et acidité	35
III.2.1.3. Détermination de la teneur en cendres.....	35
III.2.1.4. Analyse de la couleur de la poudre	36
III.2.1.5 Détermination de taux de solide soluble (TSS ou °Brix).....	36
III.3. Préparation des microcapsules.....	36
III.2.2. Evaluation de la microencapsulation	38
III.2.2.1. Observation par MEB	38
III.2.2.2. Détermination de l'efficacité de l'encapsulation (EE%)	38
III.2.2.3. Test de solubilité des microcapsules vides	39
III.2.2.3. Simulation <i>in vitro</i> de la dissolution des microcapsules	39
III.3. Essai d'incorporation de la PEGE dans un yaourt	40
III.3.1. Préparation du yaourt.....	40
III.3.2. Incorporation de la PEG et la PEGE	40
III.3.4. Evaluation globale de la qualité organoleptique du yaourt élaboré.....	41

Chapitre IV: RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Caractéristique physico-chimique de la PEG.....	43
IV.1.1. Teneur en eau	43
IV.1.2. Le pH.....	43
IV.1.3. L'acidité titrable	44

IV.1.4. Taux de solides solubles TSS (° Brix).....	44
IV.1.5. Taux de cendres.....	44
IV.1.6. Indice de couleur	44
IV.2. Evaluation de la micro-encapsulation de la PEG	45
IV.2.1. Observation sous microscope optique	45
IV.2.2. Microscopie électronique à balayage	46
IV.2.3. Efficacité de l'encapsulation (EE%)	49
IV.2.4. Test de solubilité des capsules vides	49
IV.2.5. Test de simulation <i>in vitro</i> de la dissolution des microcapsules	49
IV.3. Formulation du yaourt enrichi en poudre d'écorce de grenade encapsulée	51
CONCLUSION.....	54
LISTE DES REFERENCES	

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification botanique du grenadier	4
Tableau 2: Composition nutritionnelle de grenade (fruit)	5
Tableau 3: Applications de la micro-encapsulation	15
Tableau 4: Exemples d'application de la micro-encapsulation dans le domaine alimentaire..	16
Tableau 5 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé	21
Tableau 6: Exemples de microparticules obtenues par coacervation complexe	23
Tableau 7: Mécanismes de la libération contrôlée des arômes	31
Tableau 8: Composition des microcapsules	34
Tableau 9: La formulation des microcapsules.....	38
Tableau 10: Balayage spectrale de différentes préparations.	38
Tableau 11: Doses d'incorporation de la PEG et de la PEGE dans le yaourt.	41
Tableau 12: Caractéristiques physicochimiques de la PEG	43
Tableau 13 : Résultats préliminaires d'essai d'incorporation dans un yaourt étuvé	52

Liste des figures

Figure 1: Grenade, grain, grenadier.	4
Figure 2: Morphologie de particules obtenues par micro-encapsulation	11
Figure 3: Structure de l'acide polygalacturonique des pectines	18
Figure 4: Représentation schématique de la micelle de caséine	18
Figure 5: Principe du procédé de micro-encapsulation par coacervation complexe.....	23
Figure 6: Modes de libération des principes actifs des micro-capsules.	30
Figure 7: Protocole d'encapsulation de la poudre de l'écorce de grenade.....	37
Figure 8: Diagramme de fabrication de yaourt étuvé enrichi en poudre de grenade.	42
Figure 9 : Les différentes microcapsules élaborées (Photos originales).	45
Figure 10: Photos prises sous microscopie optique (Gr x100).....	46
Figure 11: MEB des poudres de l'écorce de grenade.....	Error! Bookmark not defined.
Figure 12: Cinétique de diffusion de la PEGE « test <i>in vitro</i> ».....	50

LISTE DES ABREVIATIONS

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

AG : Acide Galacturonique

BHI : Brain Heart Infusion

BHT : Hydroxytoluène Butylé

CIE : Commission Internationale d'Eclairage

CV (0 ; 1) : Capsules Vides ratio (0 ; 1)

DO : Densité Optique

EE% : Efficacité d'Encapsulation

FDA : Food Drug Administration

MEB : Microscopie Electronique à Balayage

PEG : Poudre d'Ecorce de Grenade

PEGE (1 ; 1) : Poudre d'Ecorce de Grenade ratio (1 ; 1)

PEGE (1 ; 2) : Poudre d'Ecorce de Grenade ratio (1 ; 2)

TSS : Taux de Solide Soluble

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La grenade est parmi les fruits les plus étudiés ces dernières années. Plusieurs études ont montré l'activité antioxydante (Saleha et al., 2014 ; Lairini et al., 2014), l'effet anti-hypercholestérolémique (Labib Ahmed Hossin, 2009), l'effet anti-cancérogène et antidiabétique du jus de grenade (Mustafa et al., 2014).

La transformation de la grenade génère de grandes quantités de sous produits non utilisés, alors que l'écorce représente près de 40% du fruit entier et que c'est le site d'accumulation d'innombrables molécules bioactives (Calin et al., 2005). En effet, dans une étude récente, il a été démontré que l'extrait méthanolique de l'écorce de grenade améliore la stabilité oxydative de l'huile de tournesol, son efficacité étant comparable à celle des antioxydants synthétiques classiques (Shahid, 2007).

L'écorce de grenade a été ainsi utilisée dans plusieurs produits alimentaires où il a été démontré que l'extrait de la poudre de l'écorce de grenade (PEG) peut être considéré comme conservateur naturel dans les produits carnés contre diverses souches tel que *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec un effet bactéricide avéré (Hasmik, 2011).

Néanmoins, le goût d'astringence et l'instabilité des polyphénols de la PEG limitent son utilisation dans les produits alimentaires. Des solutions techniques comme la microencapsulation sont des techniques envisageables qui offrent la possibilité de réduire ces effets gênants en utilisant un enrobage des principes actifs ou des particules par des membranes protectrices (Vandamme et al., 2009).

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à la micro-encapsulation de la PEG par coacervation, afin de préserver les polyphénols et d'adapter ce matériau précieux aux usages alimentaires. Pour ce faire nous avons procédé à l'élaboration des microcapsules de la PEG, puis à l'évaluation de l'efficacité de la micro-encapsulation et enfin l'étude de la stabilité des microcapsules dans le yaourt, une matrice vivante, fermenté et acide.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. INTRODUCTION

La thérapie des plantes est actuellement en demande, et sa popularité évolue de jour en jour parallèlement avec l'apparition des complications dues aux effets secondaires indésirables des médicaments chimiques. Près de 500 plantes utilisées en médication sont mentionnées dans les littératures ancestrales. Or, 80% des populations au monde dépend des dérivés des plantes médicinales pour leurs soins primaires grâce à leurs innocuités (Verma et Singh, 2008).

Le grenadier ou *Punica granatum* fait partie des espèces médicinales les plus anciennement connues, l'historique de son utilisation comme plante médicinale date de plus de 3000 ans, ses fruits ainsi que ses graines, son écorce et ses fleurs sont exploités pour leurs propriétés thérapeutiques notables (Bown, 1995).

Utilisé, de façon empirique, dans les médecines traditionnelles, pour soigner les maladies gastro-intestinales et les affections parasitaires. Le grenadier fait l'objet, depuis une dizaine d'années, d'un regain d'intérêt, tant sur un plan médical et pharmacologique que sur le plan cosmétologique. En effet, la grenade possède des propriétés antioxydantes supérieures à celles du vin rouge ou du thé vert (Wald, 2009).

De ce fait, il paraît intéressant de valoriser l'écorce de grenade, qui est considéré comme un déchet, pour pouvoir exploiter toutes ses vertus naturelles, dans le but d'améliorer le-bien-être de l'Homme sur la terre.

I.2. GENERALITE SUR LE GRENADIER

Le grenadier est un arbre ou arbuste buissonnant de 2,5 m de haut, légèrement épineux, au feuillage caduc et au tronc tortueux (Lairini et *al.*, 2014). La grenade, est une baie ronde, de la taille d'une pomme ou d'une orange, de 2 à 12 cm de diamètre, très colorée, généralement de couleur rouge vif, à blanc jaunâtre, ou jaune foncé marbrée ou encore de violet très foncé, selon l'espèce et le degré de maturité du fruit (Sharrif et Hamed, 2012). Les graines du fruit, qui constituent la partie comestible, sont enveloppées dans des loges séparées par des cloisons ténues et membraneuses de couleur blanche jaunâtre (Qnais et *al.*, 2007).

Le grenadier est originaire d'Iran et d'Afghanistan, où elle croit de façon spontanée depuis plus de 4000 ans. C'est grâce aux Perses que le grenadier fut implanté en Occident, sur les pourtours du bassin méditerranéen de l'Europe et de l'Afrique du Nord. Aujourd'hui, il est cultivé dans les zones climatiques chaudes et sèches sur tous les continents (Garachh et *al.*, 2012) (**Voir** Figure 1).



Figure 1: Grenade, grain, grenadier (Wikipédia).

I.3. CLASSIFICATION BOTANIQUE

Le grenadier, *Punica granatum*, a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753. Cette classification encore adoptée est décrite dans le Tableau 1 (Spichiger et *al.*, 2009).

Tableau 1: Classification botanique du grenadier (Spichiger et *al.*, 2009)

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Punicaceae (Lythraceae)</i>
Genre	<i>Punica</i>
Espèce	<i>Punica granatum</i>

I.4. VALEUR NUTRITIONNELLE DE LA PARTIE COMESTIBLE

La partie comestible de la grenade représente environ 50% du poids total d'une grenade dont 80% sont les arilles (partie charnue) et 20% les pépins (partie ligneuse).

La composition des graines de grenade est la suivante : eau (85%) ; sucres (10%), principalement fructose et glucose ; acides organique (1,5%) essentiellement acide ascorbique, citrique et malique ; composés bioactifs tels que les polyphénols et les flavonoïdes (essentiellement les anthocyanines) (Calin et *al.*, 2005).

En outre, les graines de grenade sont une source importante de lipide, car les pépins ont une teneur en acide gras qui oscille entre 12 et 20 % de leur poids total (poids sec) (Calin et *al.*, 2005). Dans le tableau suivant, se trouvent résumées les valeurs nutritionnelles de la grenade pour 100 g de portion comestible. Les valeurs indiquées sont issues du fichier canadien sur les éléments nutritifs de 2007 (Tableau 2).

Tableau 2: Composition nutritionnelle de grenade (fruit) (L'officinal, 2011)

GRENADE (VALEUR NUTRITIVE POUR 100g)			
Eau : 79 à 80%	Matières azotées : 1,2%	Mat. hydrocarbonées : 16%	
Fibres : 3 à 3,5g	Valeur énergétique : 52 à 60 Kcal		
Protéines : 1g	Lipides : 0,5g	Glucides : 13g	
Sels minéraux & oligo-éléments			
Potassium : 250mg	Phosphore : 22mg	Calcium : 11mg	Magnésium : 5mg
Sodium : 5mg	Fer : 1g	Zinc : 200 µg	Cuivre : 100 µg
Manganèse : 100µg			
Vitamines			
Vitamine C : 20mg	Vitamine B1 : 30 µg	Vitamine B2 : 10 µg	B3/PP/Niacine : 10 µg
Vitamine B5 : 50 µg	Vitamine B6 : 10 µg		
Vitamine A : 30 µg			

I.5. L'ECORCE DE GRENADE

L'écorce du fruit du grenadier est également appelée « *malicorium* », il s'agit de la partie dure du fruit. Elle représente environ 50% du poids total de la grenade (Calin et *al.*, 2005). Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtre sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient incrustées. Ces fragments sont de consistance coriace, ils sont formés d'un parenchyme de cellules à paroi minces, au milieu

desquelles on distingue des groupes de cellules pierreuses et des faisceaux fibro-vasculaires. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente (Wald, 2009).

I.6. COMPOSITION CHIMIQUE DE L'ECORCE DE GRENADE

L'écorce de grenade est une source très importante de composés bioactifs tels les polyphénols, les flavonoïdes, les ellagitanins (28% de l'épiderme du fruit), les proanthocyanidines et les minéraux, essentiellement du potassium, de l'azote, du calcium, du phosphore, du magnésium et du sodium (Calin et *al.*, 2005). L'écorce de grenade se compose également, d'acides gras, de catéchines, de quercétines et de rutines (Ghazaleh et *al.*, 2013). Toutefois, les flavonoïdes et les tanins sont plus abondants dans l'écorce de fruit sauvage que dans celle des plantes cultivées (Wald, 2009).

En outre, l'écorce du fruit contient également deux importants acides hydroxybenzoïques, l'acide gallique et l'acide ellagique, Elle renferme aussi des molécules de coloration jaunes et des anthocyanidines ; responsables de la couleur rouge des grenades (Hmid, 2014).

Cette composition lui a conféré plusieurs propriétés aussi bien dans le domaine médical que le domaine agroalimentaire (Lairini et *al.*, 2014).

I.7. UTILISATIONS DE LA PEAU DE GRENADE

L'écorce de grenade est employée en médecine humaine pour le traitement de maladies diverses, tels que les maladies de la peau, les vers parasites, les ulcères, la fièvre, les diarrhées. Et les infections microbiennes.

Ces dernières années, le grenadier a fait l'objet de plusieurs travaux de recherches scientifiques qui ont démontré ses effets antimicrobiens, antioxydants et même anti-cancers (Al-Saeed et *al.*, 2015).

I.7.1 Usage empiriques et traditionnels

Les Egyptiens, au VII^{ème} siècle avant J.C., connaissaient les effets vermifuges de l'écorce de grenade et mettaient à profit l'effet astringent du tanin contenu dans l'écorce, la fleur et le fruit du grenadier.

Hippocrate recommandait l'usage de l'écorce sèche de grenade comme lavement pour la dysenterie ; La pharmacopée et la médecine traditionnelles chinoise font aussi référence au

grenadier, ainsi, la peau de la grenade séchée est reconnue pour ses propriétés astringentes pour l'intestin, pour « arrêter le sang » et pour « chasser les parasites ». Elle est ainsi indiquée en cas de diarrhée chronique, dysenterie chronique, prolapsus rectal, spermatorrhée, accumulation des parasites, douleurs abdominales. La peau séchée de la grenade est alors utilisée en décoction, à raison de 2,8 à 5 g par jour, ou en usage externe, en lavage local avec la décoction ou par application de poudre de peau de grenade séchée.

Ainsi, au XIX^{ème} siècle, les fleurs et l'écorce du fruit du grenadier sont reconnues pour être toniques et astringentes, on les emploie dans le traitement des hémorragies passives, les écoulements muqueux avec atonie.

A la même époque, il semblerait que l'écorce du fruit du grenadier soit considérée, par les médecins persans et tibétains, comme remède des fièvres intermittentes (Elodie, 2009).

I.7.2. Usages thérapeutiques

I.7.2.1. Prévention des maladies digestives

L'écorce, la peau et les feuilles sont utilisées pour calmer les perturbations gastriques et les diarrhées dus aux problèmes digestifs (Debjit et al, 2013).

Selon Al-Yahya (2005), l'extrait aqueux de l'écorce de grenade *Punica granatum* contient des substances qui réduisent la diarrhée par inhibition de la motilité intestinale ainsi que l'accumulation de fluide intestinales.

Les écorces du fruit sont utilisées aussi contre les parasites intestinaux, en particulier le vers solitaire (ténia) et la dysenterie amibienne. Elles contiennent des alcaloïdes, dont la pelletiérine, vermifuge efficace contre le ténia, inscrite au Codex de la pharmacopée française depuis 1937 (Cutray et al., 2010).

I.7.2.2. Propriétés anti-inflammatoire

L'extrait de l'écorce de grenade possède aussi des propriétés anti inflammatoire et anti ulcérrogénique (Ghazaleh et al., 2013).

I.7.2.3. Activité antioxydante

L'extrait aqueux de l'écorce de grenade est caractérisé par un pouvoir antioxydant. Dans le jus de grenade, les principaux polyphénols antioxydants sont les ellagitannins et les anthocyanines. Les ellagitannins comptent pour 92% de l'activité antioxydante du jus de

grenade et sont concentrés dans l'écorce, les membranes et les moelles du fruit (Seeram et *al.*, 2004).

I.7.2.3. Activité antibactérienne

L'écorce du fruit de *Punica granatum* possède, *in vitro*, une activité antimicrobienne remarquable sur des souches pathogènes tel *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E coli*, et aussi *Candidum geotricum* et *Penicillium expansum*. La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergique, explique probablement cette activité antibactérienne non retrouvée dans d'autres fruits également riches en tanins et en alcaloïdes (Prashanth, 2001).

I.7.2.4. Propriété antiseptiques

Une autre étude publiée par Al-Saeed et *al.* (2015), a révélé l'efficacité de l'extrait éthanoïque de l'écorce de grenade dans le traitement des plaies infectées par des champignons chez les lapins, prouvant la propriété antiseptique de l'écorce de grenade. Egalement, l'extrait iso flavonoïdes de l'écorce de grenade peut avoir un effet significatif sur l'amélioration des paramètres reproductifs chez les males des lapins.

I.7.3. Utilisation en agroalimentaire

Nous citons ici quelques utilisations dans le domaine alimentaire.

I.7.3.1. Conservation des produits carnés

Des études expérimentales ont montré que l'extrait de la poudre de la peau de grenade (EPPG) peut être utilisé comme conservateur naturel dans les produits carnés. Dans ces études *Listeria monocytogenes* a été utilisée comme référence. Dans une évaluation préliminaire par la méthode de diffusion sur disques la peau de grenade a montré un effet inhibiteur contre les cinq espèces étudiées, la sensibilité de ces souches est classée par ordre croissant comme suit: *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Aucune cellule viable de *Listeria monocytogenes* n'a été détectées après incubation dans un bouillon (BHI) en présence de (7,5% v/v) de la peau de grenade liquide, équivalent 24,7 mg de matière sèche peau de grenade par millilitre (PG/ml). Cette concentration a été considérée comme la Concentration minimale bactéricide de l'extrait de la peau de grenade testé (Hasmik, 2011).

I.7.3.2. Stabilisation de l'huile de tournesol

Une étude récente a démontrée que l'extrait méthanolique de la peau de grenade améliore la stabilité oxydative de l'huile de tournesol, à différentes concentrations. L'extrait de la peau de grenade à des Concentrations de 800 à 850 ppm, a une efficacité de stabilisation comparable aux antioxydants synthétiques classiques, à savoir le BHT à sa limite légale (200 ppm) (Shahid, 2007).

I.7.3.3. Formulation d'un jus moins sucré

Une étude réalisée par Janeth et al. (2013) a porté sur la formulation d'un jus et d'une gelée de jus de grenade additionné d'un extrait de l'écorce. Les résultats montrent que la additionnée de l'extrait de l'écorce présente des propriétés rhéologiques similaires à celles des gelée commerciales. Ainsi, un jus de grenade moins sucré, pauvre en calories a été fabriqué, par l'ajout de l'extrait de l'écorce de grenade, ce jus est riche en antioxydants tout au long de la période de conservation (08 semaines).

Chapitre II : LA MICRO-ENCAPSULATION

Actuellement, la tendance des peuples va vers une manière plus saine de vivre, qui implique une conscience croissante de consommateur à propos de la nature de l'alimentation ainsi que les ingrédients servant à maintenir une bonne santé (Poshadri et Aparna., 2010). Dans ce contexte, la micro-encapsulation est une technologie de pointe qui permet l'incorporation des ingrédients bioactifs dans les aliments sans réduire leurs biodisponibilité, ni leurs fonctionnalité, assurant ainsi une protection de ces composés sensibles de l'effet du milieu environnant (la matrice alimentaire) (Vandamme et *al.*, 2007). La micro-encapsulation offre de nouveaux challenges aux progrès des produits alimentaires.

II.1. MICRO-ENCAPSULATION

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

II.1.1. Historique

La première application industrielle de microparticules date des années 1950 quand Green et Schleicher ont encapsulé des particules de pigments dans des polymères naturels (protéine/gélatine et polysaccharide/gomme arabique) par coacervation complexe. Cette stratégie, aussi utilisée pour la production de papier "carbone", permet la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression en encapsulant des colorants (Dubey et *al.*, 2009).

Dans les années 1960, l'encapsulation de cristaux liquides par la gélatine et la gomme d'acacia pour la production de matériaux pour écrans thermosensibles a été décrite par

Ferguson (1964). Cette méthode d'encapsulation a permis le développement des écrans à cristaux liquides utilisés pour les structures aérospatiales.

Au cours des dernières années, la micro-encapsulation s'est considérablement développée à l'échelle industrielle. Les microparticules ont des applications très variées, elles sont utilisées pour la production de textiles parfumés (Rodrigues *et al.*, 2008) et de produits cosmétiques (El-Zawahry *et al.*, 2007 ; Ge *et al.*, 2009), pour la protection des récoltes agricoles (Bingham *et al.*, 2007 ; Stelinski *et al.*, 2007), dans l'agroalimentaire pour donner de nouvelles propriétés aux aliments (encapsulation d'arômes, colorants, épices) (Augustin *et al.*, 2009), mais aussi dans les produits phytosanitaires (Nordstierna *et al.*, 2010 ; Scher *et al.*, 1998) et dans le domaine de la médecine et de la pharmacie (Benita *et al.*, 1985 ; Sugamori et Sefton., 1989).

II.1.2. Classification des microparticules

Les microparticules obtenues par ces techniques peuvent se présenter sous deux morphologies distinctes :

- ✓ Les microsphères qui sont des particules constituées d'un réseau macro-moléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active. Cette dernière peut se présenter sous forme de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions.
- ✓ Les microcapsules qui sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant (Richard et Benoit, 2000).

Ces deux types de morphologie de microparticules sont représentés sur la Figure 2.

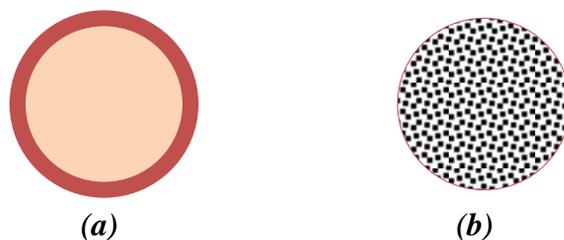


Figure 2: Morphologie de particules obtenues par micro-encapsulation

(a) microcapsule simple, (b) microsphère simple (Richard et Benoit, 2000)

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

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

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

En ce qui concerne le relargage, deux systèmes existent : les systèmes à libération déclenchée et ceux à libération prolongée. Les premiers sont généralement des microcapsules formées d'une membrane étanche qui vont libérer brutalement leur contenu par fusion ou éclatement de la membrane. Les systèmes à libération prolongée se distinguent les uns des autres par les mécanismes de libération mis en jeu (diffusion passive, dégradation/dissolution du matériau enrobant, échange d'ions) et par leur structure (voir Figure 2) microcapsule ou microsphère) qui vont directement influencer la cinétique de libération résultante (Richard et Benoit., 2000).

II.1.3. Intérêts de la micro-encapsulation

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

II.1.3.1 Protéger la substance encapsulée

La micro-encapsulation est un procédé de fabrication de particules fermées dans lesquelles le contenu a été enveloppé à l'intérieur d'un film. L'encapsulation permet non seulement d'éviter la pollution secondaire du contenu encapsulé, mais permet aussi une fonction d'isolation de matériaux fonctionnels sensibles à la lumière ou à l'oxygène d'un environnement extérieur, ce qui maintient le contenu encapsulé stable sur une durée plus longue (Barthès-biesel et al., 2009).

II.1.3.2 Contrôler la libération de la substance encapsulée

La micro-encapsulation 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. Normalement, il y a deux types de processus pour atteindre ce but : soit la diffusion à travers la membrane, soit l'éclatement de la membrane. Au niveau de la diffusion, le contrôle de la taille des pores de la membrane, l'épaisseur de la membrane, et le gradient de concentration des molécules spécifiques, permettent de contrôler la délivrance continue des principes encapsulés (Barthès-biesel et al., 2009).

II.1.3.3 Faciliter l'utilisation des produits de nature liquide

La technique permet de conditionner des produits liquides sous une forme solide. Ce processus facilite le transport des produits liquides, qui peuvent fuir ou s'évaporer du récipient. Pour chaque capsule, le dosage est contrôlé par le volume de la capsule. Les capsules pourront donc être apportées séparément selon le dosage dont on a besoin. (Barthès-biesel et al., 2009).

II.2. LES APPLICATIONS DE LA MICRO-ENCAPSULATION

On trouve désormais des applications de la micro-encapsulation dans de nombreux domaines industriels, listés dans le Tableau 3, dans lequel sont également précisés des exemples de composés encapsulés.

II.2.1. La micro-encapsulation en industrie alimentaire

Shahidi et Han (1993), ont proposé six raisons pour l'application de la micro-encapsulation en industrie alimentaire:

- Réduction de la réactivité des composants avec les facteurs du milieu environnant, elle permet la séparation de différents agents réactifs dans des formulations de catalyseurs, d'enzymes, d'oxydants,
- Diminuer le pourcentage de transfert des composants vers l'environnement extérieur, tel les huiles essentielles, les arômes, ce qui participe à prolonger leur durée de conservation.
- Ciblage de l'activité ou de la libération des composés bioactifs.
- Contrôler la libération prolongée du principe actif et/ou de composés bioactifs.
- Masquer et préserver le goût ou la flaveur des composés bioactifs incorporés dans les aliments.
- Diluer les composés bioactifs lorsqu'ils doivent être utilisés en faibles quantités.

Plusieurs travaux scientifiques ont été réalisés, étudiant ainsi l'application de la micro-encapsulation dans le domaine alimentaire (voir Tableau 4).

Tableau 3: Applications de la micro-encapsulation
D'après Finch et Bodmeier (2005), Madene *et al.* (2006), Vandamme *et al.* (2007)

Domaine industriel	Exemples de composés encapsulés
Pharmacie et médical	Antibiotiques, contraceptifs, enzymes, vaccins, bactéries, vitamines, minéraux, antigènes, anticorps...
Cosmétique	Parfums, huiles essentielles, anti transpirants, agents bronzants, crèmes solaires, colorants capillaires, baumes démêlants, mousses à raser...
Alimentaire	Huiles essentielles, graisses, épices, arômes, vitamines, minéraux, colorants, enzymes, levures, micro organismes...
Agriculture	Herbicides, insecticides, engrais, répulsifs, hormones végétales...
Biotechnologie	Enzymes immobilisées, microorganismes, cellules vivantes, cellules artificielles, cultures tissulaires, composés nutritionnels...
Chimie	Catalyseurs, enzymes, additifs pour plastiques, eau (plâtre et béton), inhibiteurs de corrosion, retardateurs d'incendie, colorants et pigments, agents UV protecteurs, parfums, huiles essentielles, agents lubrifiants...
Détergents	Adoucissants, antistatiques, agents décolorants, agents moussants, silicones, cires, détachants...
Textile	Colorants, parfums, pigments, bactéricides, fongicides, répulsifs d'insectes, agents antistatiques, retardateurs d'incendie, agents imperméabilisants, adhésifs, composés bioactifs médicaux, composés bioactifs cosmétiques
Graphismes et Impression	Colorants, pigments, parfums, révélateurs, cristaux liquides, toners, composés photosensibles...
Photographie	Halogénures d'argent, pigments, colorants, composés photopolymérisables, révélateurs pour photographies couleurs, plastifiants...
Electronique	Cristaux liquides, matériaux semi-conducteurs, adhésifs, agents de séchage, retardateurs de flammes, antistatiques...
Traitement des déchets	Microorganismes, substrats, détoxifiants, déchets liquides (solidification), déchets industriels à risques, déchets radioactifs

Le Tableau 4 résume des différentes applications d'encapsulation dans l'industrie alimentaire.

Tableau 4: Exemples d'application de la micro-encapsulation dans le domaine alimentaire.

Matériaux d'encapsulation	Matière active	Technique d'encapsulation	Référence
Gomme acacia/ maltodextrines	Arome	lyophilisation	Atmane Madene., 2006
Protéine de soja	Hydrolysate de caséine	Atomisation	Ortiz et <i>al.</i> , 2009 ; Favaro-Trindade et <i>al.</i> , 2010
	Riboflavine	Gélification	Gan et <i>al.</i> , 2008
	Huile de poisson	Coacervation	Chen et <i>al.</i> , 2008
Pectine	Huile de poisson	Atomisation	Drusch et <i>al.</i> , 2007
Amidon	Arômes	Gélification	Jeon et <i>al.</i> , 2003
		Atomisation	Murúa-Pagola et <i>al.</i> , 2009 / Shaikh et <i>al.</i> , 2006

II. 2.1.1. Matériaux d'encapsulation

Le système d'encapsulation joue un rôle principal sur l'efficacité, la stabilité des microparticules et sur le degré de protection de la matière active. En général, les critères de choix des matériaux enrobants sont basés sur leurs propriétés physico-chimiques (stabilité, humidité, pH, oxydation), thermiques et mécaniques. L'encapsulation permet de modifier radicalement l'aspect du produit encapsulé : masquer le goût et l'odeur, changer l'état de surface, la solubilité, la rhéologie ou l'état fondamental, comme par exemple la transformation des liquides ou des gaz en poudres fluides (Lazko et *al.*, 2004).

Suivant le procédé utilisé, le matériau d'encapsulation est constitué d'un ou de plusieurs polymères. L'avantage des systèmes enrobants polymériques (à base des polymères naturels ou synthétiques) réside dans la possibilité de fonctionnalisation des chaînes ce qui permet l'obtention de nouvelles propriétés telles que la résistance aux températures élevées et aux agents chimiques. En agro-alimentaire, les polymères doivent appartenir à une liste positive d'autorisation, être approuvés par le FDA ou l'AFSSA (Europe), comestible, non réactifs et souvent sans goût particulier, en plus d'un coût modéré (Madene, 2006).

Parmi tous les matériaux, les plus largement utilisés en micro encapsulation dans le domaine agro-alimentaire sont :

- ✓ Les polysaccharides, l'amidon et ses dérivés-amylase, amylopectine, dextrine, maltodextrines, polydextrose, la cellulose et ses dérivés sont communément utilisés. l'enrobage des ingrédients alimentaires hydrosolubles dans les aliments acides.
- ✓ Les extraits de plantes-gomme arabic, gum karaya, galactomananes et pectines sont également utilisés occasionnellement, les extraits marins comme la carragenane et l'alginate sont aussi utilisés dans les aliments.
- ✓ Les protéines sont appropriées pour l'encapsulation, tel que la caséine et les protéines de lactosérum, la gélatine et le gluten.
- ✓ Les lipides sont convenables aux applications alimentaires, il y a les acides gras, les cires (cire d'abeilles), les glycérides et les phospholipides (Abdelilah et *al.*, 2016).

Cas de la pectine et de la caséine

Selon (Cucheval, 2009) et (Marcela et *al.*, 2012) le complexe (pectine-caséine) peut être un biopolymère de choix pour la micro-encapsulation en agroalimentaire vue sa biodégradabilité ainsi que son innocuité. La formation de complexe se fait grâce aux interactions ioniques entre le polysaccharide (la pectine) chargé positivement et la protéine (caséine) chargée négativement à un pH inférieur à son pH isoélectrique.

- ✓ Les pectines sont des extraites des plantes (pépins des tomates, écorces d'agrumes et betteraves, pulpes de pommes) (Ridley et *al.*, 2001). Elles représentent des structures variées. Leur structure primaire a été élucidée dans les années 1920 (Grrigs et Johnstin, 1926). Les pectines sont des polymères composés de plusieurs chaînes d'acide galacturonique (AG), voir Figure 3, ramifiés en position α -(1-4) (Thakur et *al.*, 1997). Elles sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire pour leurs propriétés gélifiantes dans des produits tels que les confitures et les gelées et pour leur capacité à stabiliser les produits laitiers acides. Leur caractère anionique leur permettrait des interactions avec les protéines (Voragem et *al.*, 1995 ; Tolstoguzov, 1991).

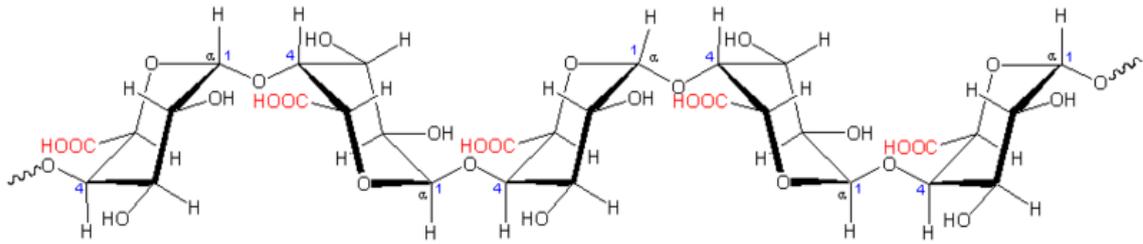


Figure 3: Structure de l'acide polygalacturonique des pectines (wikipédia).

✓ **La caséine**, Est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine (Jean et Dijon, 1993). Les caséines se distinguent par leur faible solubilité à pH 4,6 (par acidification ou après l'action de la chymosine), elles sont différenciées sur la base de la distribution des charges et de la sensibilité à la précipitation par le calcium (Jelen et Rtray, 1995). Elle correspond à une fraction micellaire qui représente près de 80% des protéines du lait. Les micelles sont chargées et les fortes répulsions électrostatiques empêchent leur rapprochement (Jean et Dijon, 1993) (Figure 4).

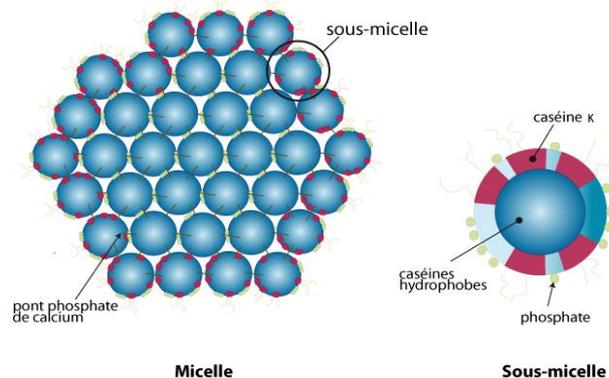


Figure 4: Représentation schématique de la micelle de caséine (Vandamme, 2007)

II.3. LES DIFFERENTS PROCEDES DE MICRO-ENCAPSULATION

La micro-encapsulation peut être réalisée par différents procédés physiques ou chimiques donnant lieu à la formation de capsules de grandeurs et de formes variés suivant la technologie mise en œuvre (Vandamme et *al.*, 2007). Toute fois, il n'existe pas une méthode d'encapsulation adaptée à toutes les molécules à encapsuler ou au produit d'application

(Wilson et Shah, 2007). Le choix de la méthode d'encapsulation est fortement lié à la nature du matériau d'encapsulation et aux caractéristiques désirées du produit fini (Poshadri et Aparna, 2010). Richard et Benoit (2000) proposent quatre manières de classer les méthodes d'encapsulation :

- L'emploi ou non de solvant organique, certaines techniques telles que la coacervation complexe utilisant des fluides supercritiques.
- La nature du milieu dispersant peut également servir de base à une classification : il peut être liquide (polycondensation interfaciale, coacervation, ...), gazeux (spray drying, enrobage en lit fluidisé, ...), ou encore à l'état supercritique (séparation de phase, ...).
- La famille à laquelle appartient le composé employé pour obtenir la capsule peut également permettre de classer les modes d'encapsulation : peuvent être utilisés des polymères préformés (coacervation, ...), des lipides (spray-congealing, ...), ou encore des monomères (polycondensation interfaciale, polymérisation en milieu dispersé, ...).
- Enfin, une dernière classification repose sur la base duquel est réalisée la micro-encapsulation : on distingue les procédés physico-chimiques des procédés chimiques et mécaniques.

Les différentes méthodes d'encapsulation sont récapitulées dans le tableau 5 présenté ci-dessous selon la dernière classification citée.

II.3.1. Procédés d'encapsulation physico-chimiques

Les procédés physico-chimiques sont basés sur les variations de solubilité et les conditions de précipitation des agents enrobants. Il s'agit par exemple de la précipitation contrôlée d'un polymère en solution, par ajout d'un non-solvant ou d'un polymère incompatible (coacervation).

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

Tableau 5 II.3.1. Procédés d'encapsulation physico-chimiques

Les procédés physico-chimiques sont basés sur les variations de solubilité et les conditions de précipitation des agents enrobants. Il s'agit par exemple de la précipitation contrôlée d'un polymère en solution, par ajout d'un non-solvant ou d'un polymère incompatible (coacervation).

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

Tableau 5 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé (d'après Richard et Benoit, 2009, et Finch et Bodmeier, 2005)

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

II.3.1.1. Coacervation

La coacervation est un phénomène se produisant dans les solutions colloïdales. Le mot coacervation provient du latin *acervus* qui signifie agrégat et du préfix *co* qui exprime l'association de macromolécules. Lorsqu'une solution colloïdale est soumise à des modifications environnementales (pH, Température), les forces d'attraction entre molécules deviennent supérieures aux forces de liaison molécules-solvant entraînant une désolvation de la solution.

A l'issue de ce phénomène deux phases apparaissent dans le milieu :

- L'une riche en polymère et pauvre en solvant, le coacervat.
- L'autre pauvre en polymère et riche en solvant, le surnageant (Madène, 2006).

La micro-encapsulation par coacervation consiste à provoquer la précipitation de la matière enrobante, par séparation de phase, autour de la matière active. Une particule de type

microcapsule est alors formée. Cependant, quand la quantité de matière active dans le milieu est très faible par rapport au coacervat, les particules peuvent s'agréger et donc former une microsphère. Deux types de coacervation sont connus : la coacervation complexe quand la structure du coacervat comprend plusieurs polymères et la coacervation simple quand la matrice est formée d'un seul polymère.

a. Coacervation simple

La coacervation simple consiste en les répulsions polaires et apolaires entre deux solutés dont l'un doit être un polymère (Lazko et *al.*, 2004 ; Weib et *al.*, 1995). Elle est provoquée principalement par une désolvatation directe du polymère qui a lieu après changement du pH ou de la température, par addition d'un non-solvant ou d'un électrolyte. Les étapes du procédé sont identiques à celles de la coacervation complexe.

Le principal avantage de cette technique est qu'il est possible d'utiliser aussi bien des polymères hydrophobes (Palomo et *al.*, 1996) que des polymères hydrophiles (Mohanty et *al.*, 2005), car le coacervat peut se former en milieu organique ou aqueux. Les tailles des particules obtenues par la méthode de coacervation varient de quelques μm à quelques centaines de μm , et le taux d'encapsulation peut atteindre jusqu'à 90 %.

b. Coacervation complexe

La coacervation complexe consiste en la désolvatation simultanée de deux poly-électrolytes hydrosolubles portant des charges opposées, provoquée par une modification du pH du milieu aqueux (Bédié et *al.*, 2008 ; Liu et *al.*, 2010 ; Moschakis et *al.*, 2010). Dans le cas où le produit à encapsuler (sous forme liquide ou solide) est dispersé dans une solution aqueuse contenant les deux polymères (Figure 5-a), la coacervation est déclenchée par un ajustement du pH de la solution, de façon que les charges positives du premier polymère équilibrent les charges négatives de la seconde phase. Ensuite l'attraction électrostatique des deux poly-électrolytes provoque l'apparition d'un coacervat mixte. Les gouttelettes de coacervat formé viennent s'adsorber à la surface de la matière active (Figure 5-b) et former un enrobage continu (Figure 5-c) (Richard et Benoit, 2000).

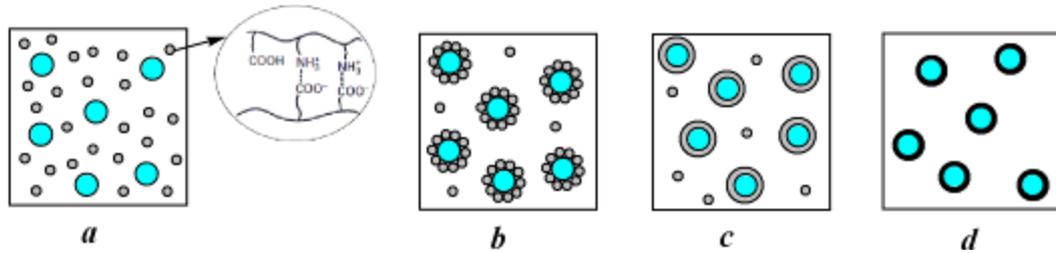


Figure 5: Principe du procédé de micro-encapsulation par coacervation complexe

- (a) matière active dispersée dans la solution de polymère (protéine/polysaccharide)
- (b) coacervation à la surface de matière active
- (c) formation d'enrobage continu et
- (d) réticulation d'enrobage (Richard et Benoit, 2000)

Les sensibilités au pH et à la force ionique sont des facteurs qui limitent l'utilisation des coacervats dans l'encapsulation. L'augmentation de la stabilité des coacervats et de la solidité de leur enrobage est envisageable par la réticulation du polymère (Figure 5-d). Les agents réticulants utilisés pour cet effet peuvent être les glutaraldéhydes (Lazko et *al.*, 2004 ; Dai et *al.*, 2010), les transglutaminases (Dong et *al.*, 2008) ou les polyphénols (Strauss et Gibson., 2004) Quelques exemples d'application de coacervation complexe sont présentés dans le Tableau 6.

Tableau 6: Exemples d'applications de microparticules obtenues par coacervation complexe

Matière enrobante	Matière active	Application	Référence
Gomme arabique/gélatine	<i>n</i> -hexa- (octa-, nona-)decane	Textile	(Onder <i>et al.</i> , 2008)
Gomme arabique/protéine du lait	Huiles aromatiques	Alimentation	(Weinbreck <i>et al.</i> , 2004)
Pectine/ gélatine Alginate de sodium/gélatine	Médicaments	Médecine	(Saravanan et Panduranga., 2010)

II.3.1.2. Gélification

Le procédé de micro-encapsulation par gélification thermique repose sur la fusion et la solidification du matériau enrobant les matières actives. Le matériau d'enrobage, souvent des lipides, doit avoir un point de fusion bas et être thermolabile. Les microsphères obtenues suivant ce procédé ont une taille de 30µm à 300µm.

Elles ont une teneur en matière active de l'ordre de 20 %. Les avantages que peut apporter ce procédé sont les suivants :

- La possibilité d'obtenir une distribution granulométrique très étroite des particules;
- Des polymères hydrosolubles sont utilisés, par exemple l'alginate de sodium (Yufero *et al.*, 2005).

L'inconvénient réside en l'instabilité de morphologie, des formes cristallines non souhaitées et l'altération physique des microsphères au cours du refroidissement (Dominique et Eric, 2009).

II.3.1.3.Évaporation de solvant

La méthode de micro-encapsulation par évaporation de solvant (Freitas *et al.*, 2005) repose sur l'évaporation de la phase continue d'une émulsion sous agitation. Cette technique est le plus souvent utilisée dans le domaine de la pharmacie pour la production et la libération contrôlée de médicaments (Augustin et Hemar, 2009). Initialement, le matériau d'enrobage, généralement un polymère hydrophobe, est dissout dans le solvant organique volatil. Ensuite, la substance active à encapsuler est dissoute ou dispersée dans une solution organique avec le polymère qui formera la matrice.

Les microparticules obtenues sont généralement de type matriciel. Ce procédé présente quelques limites : les microsphères fabriquées peuvent contenir des traces non négligeables de solvant organique et le recyclage du solvant peut être difficile à l'échelle industrielle. Parmi les polymères utilisés pour la micro-encapsulation par la technique d'évaporation de solvant on peut notamment trouver l'acide poly(lactique-co-glycolique) (Li *et al.*, 2008), le gluten de blé et le poly(éthylène glycol) (Andreani *et al.*, 2009), l'éthylcellulose (Jones et Pearce, 1995) ou encore l'acide polylactique (Leo *et al.*, 2000). Le taux de matière active dans les microparticules obtenues par ce procédé est compris entre 30 % et 40 %, et le rendement (efficacité) d'encapsulation peut atteindre 100 %. La taille des particules produites est de 0,5-200 μm (Richard et Benoit, 2000).

II.3.2. Procédés d'encapsulation chimiques

L'encapsulation par voie chimique consiste en la polymérisation autour de la matière active (pure ou en solution) d'un ou plusieurs monomères conduisant à la formation *in situ*

d'une membrane de protection. Plusieurs types de polymérisation peuvent être envisagés : polycondensation, polymérisation radicalaire ou anionique.

II.3.2.1. Polymérisation interfaciale

L'encapsulation par polymérisation interfaciale nécessite la formation d'une émulsion, dans laquelle deux monomères réactifs sont solubles respectivement dans chacune des phases de l'émulsion où la matière active se trouve dans la phase dispersée (Pitaksuteepong et *al.*, 2002). La réaction de polymérisation se déroule alors à l'interface des gouttelettes contenant la matière active (pure, en solution ou en dispersion) créant ainsi la paroi des microcapsules (Janssen et Nijenhuis., 1992).

Ce procédé s'applique à des solutions de matières actives aussi bien liposolubles (Bouchemal et *al.*, 2006 ; Liang et *al.*, 2009) que hydrosolubles (Zydowicz et *al.*, 2001). Les particules obtenues par cette technique ont des tailles comprises entre quelques μm et une centaine des μm . Les principales limitations du 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. Les solvants organiques utilisés dans ce procédé sont principalement le cyclohexane, le chloroforme, l'éthylènediamine ou encore le dichlorométhane (Janssen et *al.*, 1992 ; Zydowicz et *al.*, 2001).

II.3.2.2. Polymérisation en milieu dispersé

Le procédé chimique de micro-encapsulation en milieu dispersé peut avoir lieu en dispersion, émulsion ou encore en micro-suspension (Richard et Benoit, 2000). La voie de polymérisation peut être soit anionique soit radicalaire.

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. Après amorçage de la réaction de 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 le 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.

Pour assurer des conditions d'encapsulation efficaces, il suffit que la tension interfaciale entre la matière active et la phase continue soit supérieure à celle entre la matière active et le coacervat.

Le plus souvent, cette technique d'encapsulation est utilisée pour enrober les nanoparticules solides, notamment le dioxyde de titane, la silice, l'oxyde de fer (oxyde magnétique) ou encore l'argent (Yu et *al.*, 2004 ; Kai et *al.*, 2005). Les tailles des particules obtenues varient entre quelques dizaines de nm et quelques μm .

Les procédés d'encapsulation chimiques sont largement utilisés dans le domaine phytosanitaire pour la production de microcapsules d'insecticides, d'herbicides et de fongicides avec des membranes de polyamide, polyurée ou polyuréthane et dans le domaine de la biologie pour encapsuler des molécules actives telles que l'hémoglobine, des enzymes et des anticorps (Richard et Benoit, 2000).

II.3.3. Procédés d'encapsulation physico-mécaniques

II.3.3.1. Enrobage en lit fluidisé

Le procédé d'enrobage en lit fluidisé s'applique exclusivement à des matières actives sous forme solide (granules, cristaux). Durant le procédé d'enrobage, il y a formation d'une couche de matrice homogène autour du principe actif donnant aux microparticules obtenues une structure de type capsule (Dewettinck et *al.*, 1999).

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. Le polymère s'adsorbe à la surface des particules, la couche d'enrobage se forme après des passages successifs par les zones de pulvérisation et de séchage permettant de couvrir la totalité de la surface de la particule par une couche continue et homogène. L'épaisseur de la couche de polymère formée peut être variable de quelques μm à une vingtaine de μm (Richard et Benoit, 2000).

Le procédé d'enrobage en lit fluidisé est souvent utilisé dans le domaine de la pharmacie pour l'encapsulation de médicaments et pour la protection supplémentaire de matières très sensibles, comme dans l'alimentation pour protéger des vitamines et des minéraux. Cette technique permet la formation d'enrobages homogènes d'épaisseur contrôlée. La taille des microparticules produites peut aller de quelques dizaines de μm jusqu'à 600 μm

et le taux de micro-encapsulation est compris entre 60 et 90 % (Richard et Benoit, 2000 ; Hampel et *al.*, 2013 ; Ehlers et *al.*, 2009).

II.3.3.2. Atomisation

Le procédé d'atomisation (ou spray-drying) est un procédé mécanique continu de déshydratation qui permet la transformation de préparations liquides en poudres sèches.

Différentes formes liquides initiales peuvent permettre la micro-encapsulation de la matière active par atomisation (Gharsallaoui et *al.*, 2007 ; Wan et *al.*, 1991):

- l'émulsion – la matière active est émulsionnée dans une solution contenant le matériau enrobant ;
- la solution – la matière active et le matériau enrobant sont solubilisés dans le même solvant ;
- la dispersion – des particules solides de matière active sont dispersées dans la solution de matière enrobante.

L'étape préliminaire de l'atomisation est la réalisation d'une forme liquide (émulsion, solution ou dispersion) appelée solution d'alimentation, homogène et relativement stable dans un solvant adapté. Finalement, quand la quantité de solvant dans la gouttelette atteint son niveau critique par séchage, l'enveloppe sèche est formée autour du principe actif. La vitesse d'évaporation diminue et devient dépendante de la vitesse de diffusion de l'eau à travers la surface de la croûte formée. Le séchage est terminé quand la température de la particule devient égale à celle de l'air dans la chambre d'atomisation (Gharsallaoui et *al.*, 2007). Le séchage peut être effectué suivant deux régimes, à co-courant ou à contre-courant.

La taille moyenne des microparticules varie entre 1 μm et 100 μm pour le séchage à co-courant et entre 50 μm et 200 μm pour le séchage à contre-courant où l'agrégation des petites microparticules avec les grandes est plus fréquente.

Plusieurs paramètres peuvent influencer l'efficacité du procédé, Parmi lesquels, on peut citer la viscosité et la température de la préparation liquide de départ, la température d'entrée et de sortie d'appareil, la nature et la concentration de la matière active et de la matière enrobante et le débit de la solution d'alimentation (Gharsallaoui et *al.*, 2007).

La nature de la matière enrobante joue également un rôle important. Ce matériau doit être choisi en fonction des propriétés désirées des microparticules (taille, propriétés mécaniques, thermiques ou encore celles de la libération). Les matières enrobantes utilisées dans le procédé d'atomisation sont les polysaccharides, les protéines, les polymères synthétiques ainsi que les lipides. Parfois ces matériaux peuvent être mélangés pour améliorer les propriétés des microparticules. Par exemple, l'addition de lactose dans une préparation avec des protéines de lait favorise la formation de la croûte autour des microparticules, permet d'améliorer les propriétés du séchage et l'efficacité de micro-encapsulation (Rosenberg et Sheu, 1996).

Le procédé d'encapsulation par atomisation est simple à mettre en œuvre, rapide et économique. Pour ces différentes raisons, il est très largement utilisé dans l'industrie. Parmi les domaines d'utilisation de l'atomisation comme procédé de micro-encapsulation on peut trouver :

- l'alimentation – épices, stabilisants, vitamines, minéraux et arômes ;
- la pharmacie/médecine – antibiotiques, additifs et médicaments ;
- la biologie – enzymes et microorganismes ;
- d'autres domaines d'industrie – pigments pour la teinture, matériaux céramiques et supports catalytiques.

Les facteurs limitant du processus peuvent être la sensibilité des produits à la température élevée, l'entretien de l'appareil, surtout l'usure de la buse d'atomisation avec des produits cristallisés et concentrés.

II.3.3.3. Extrusion

La technique d'extrusion 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 (Richard et Benoit, 2000 ; Yuliani et *al.*, 2006). 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 (Bocquel).

Les principaux avantages de cette méthode sont les suivants:

- Des coûts de transformation faibles et des rendements élevés sans production d'effluents;
- Les poudres obtenues ont une morphologie dense et sont peu poreuses ;
- Les composés actifs sont protégés par la matrice contre l'oxydation grâce à la formation d'une microsphère dense (Gouin, 2004).

Cette technique est essentiellement utilisée dans le cas des matières actives et matières enrobantes résistantes à haute température (jusqu'à 200 °C). La taille des microsphères obtenues par la technique est plus importante (supérieure à 200 µm) que pour celles obtenues par les procédés chimiques et physico-chimiques. La proportion de la matière active dans les particules peut atteindre 50 %.

II.4. LIBERATION CONTROLÉE

La libération contrôlée peut être définie comme une méthode par laquelle un ou plusieurs principes actifs ou ingrédients se rendent disponibles sur un site à un moment désiré avec une teneur spécifique (Pothakamury et Barbosa-Canonas, 1995).

Beaucoup d'études ont essayé de mieux comprendre les effets qui contrôlent la libération des arômes à travers des matrices alimentaires complexes (Guichard, 2000). La physico-chimie de la libération des molécules aromatiques a été étudiée par Taylor (1998). Ces techniques de libération contrôlée sont surtout utilisées en pharmacie, en cosmétique et en industrie alimentaire.

Au niveau de la capsule, le principe actif ou l'ingrédient est libéré soit brutalement : libération déclenchée, soit progressivement : libération prolongée (Figure 6).

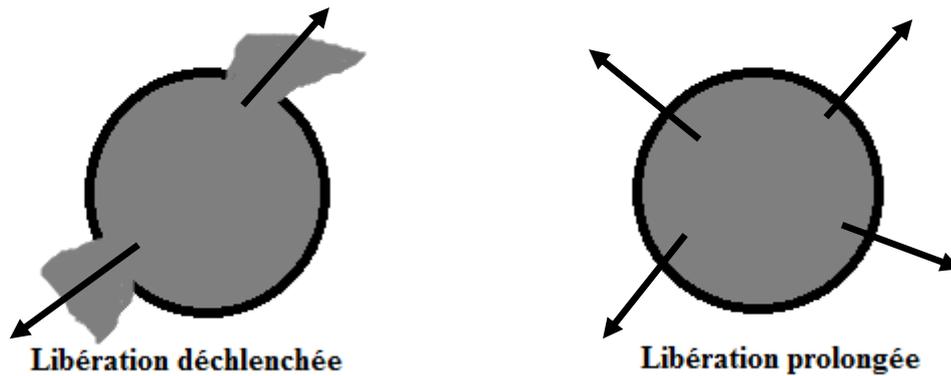


Figure 6: Modes de libération des principes actifs des micro-capsules.

Taylor (1998)

- ✓ **Les systèmes à libération déclenchée** sont constitués d'une membrane imperméable qui peut subir une rupture sous l'effet d'une pression (osmotique ou mécanique) ou par fusion sous l'effet d'une modification de pH ou de température.
- ✓ **Les systèmes à libération prolongée** se distinguent les uns des autres par les mécanismes de libération mis en jeu (diffusion passive, dégradation/dissolution du matériau enrobant) et par leur structure (microcapsules ou microsphère) qui va directement influencer la cinétique de libération résultante. Les microparticules à libération prolongée sont très largement utilisées dans les domaines alimentaires et pharmaceutiques.

La cinétique de libération peut être d'ordre 0 ou 1. Elle dépend principalement de l'épaisseur de la membrane, de sa porosité, de sa composition chimique et des propriétés de la substance active (Greenblatt et *al.*, 1993 ; De Ross, 2000).

Pour des matériaux d'enrobage, la libération de la matière active dépend de plusieurs paramètres tels que la diffusion de la molécule à travers la matrice, sa nature et sa géométrie et la dégradation/dissolution de la matrice (Pothakamury et Barbosa-Canonas, 1995).

Le mécanisme de libération contrôlée du principe actif ou l'ingrédient peut être basé sur la fonte, la diffusion, la dégradation ou sur l'érosion du système, Tableau 7 montre les mécanismes de libération contrôlée des arômes.

Les composés aromatiques ne sont pas neutres vis-à-vis de la matrice dans laquelle ils se trouvent et interagissent avec les autres constituants du milieu. Les liaisons établies se divisent en deux grands groupes :

**Tableau 7: Mécanismes de la libération contrôlée des arômes
(Richard et Benoit, 2000)**

Technique d'encapsulation	Mécanisme de la libération contrôlée
- Coacervation simple	-Libération prolongée
- Coacervation complexe	-Libération prolongée (diffusion) et libération déclenchée (pH, déshydratation, action mécanique ou enzymatique, dissolution)
- Atomisation	-Libération prolongée et libération déclenchée.
- Séchage en lit fluidisé	- Libération déclenchée (pH ou traitement thermique)
- Extrusion	- Libération prolongée

- **Liaisons chimiques ou de valence (> 10kj/mol)** irréversibles, elles mettent en jeu des échanges d'électron. Il s'agit de liaisons covalentes et ioniques.
- **Interactions physico-chimiques (<45kj/mol)** Ce sont des liaisons réversibles. Il s'agit des interactions électrostatiques faibles dues aux forces de répulsion ou d'attractions (forces de Van der Waals), de liaisons hydrogènes, d'interaction hydrophobes et de rétention par encombrement stérique (complexes d'inclusion) (Guichard, 2006).

PATRIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : MATERIELS ET METHODES

III.1. DEMARCHE EXPERIMENTALE

III.1.1. Problématique

Notre travail consiste à valoriser les bienfaits de la poudre d'écorce de grenade (PEG) riche en composants bioactifs notamment les polyphénols solubles, les tanins et les anthocyanidines, sous une forme adéquate. En outre, la poudre de l'écorce de grenade est utilisée dans des recettes ancestrales dans tous les pays du bassin méditerranéen spécifiquement comme remède aux problèmes gastro-intestinaux. Récemment on trouve dans la littérature beaucoup de travaux scientifiques qui ont utilisé la poudre de l'écorce de grenade dans plusieurs formulations alimentaires (Janeth Ventura et al., 2013, Shahid Iqbal et al., 2008, Hasmik Hayrapetyan, 2012). Cependant, l'astringence de cette poudre, qui est due principalement à la présence des tanins, représente un facteur limitant pour son utilisation dans les formulations alimentaires.

Le but de notre travail s'inscrit dans cette logique, il s'agit de la micro-encapsulation de la PEG afin de masquer le goût d'astringence, et de faciliter de ce fait son incorporation dans les formulations alimentaires. Pour évaluer l'efficacité de la micro-encapsulation et la stabilité des microcapsules, on les a incorporées dans le yaourt étuvé et brassé.

III.1.2. Obtention de la poudre de l'écorce de grenade

Les fruits de grenadier *Punica granatum* de la variété *mouzahlou* sont recueillis au hasard à maturité au début d'Octobre en 2014 dans la région de Bordj Menail (Boumerdès).

Une fois les fruits lavés et pelés, les graines sont séparées manuellement de l'écorce, ensuite, l'écorce est séchée à 40°C dans une étuve de type MAMMERT. Après broyage, la poudre de l'écorce de grenade (PEG) obtenue est stockée dans des boîtes hermétiquement fermées à l'abri de la lumière.

III.1.3. La micro-encapsulation de la poudre d'écorce de grenade

Après les essais préliminaires, la PEG retenue pour l'encapsulation est la fraction granulométrique de diamètre < 200µm. La pectine utilisée, a été fournie par « Zine Food Compagny», et la caséine par l'industrie de biscuiterie.

III.1.3.1. La technique de la microencapsulation

La technique utilisée est une coacervation complexe, qui est couramment utilisée en industrie, alimentaire, pharmaceutique et cosmétique, et qui se base sur l'interaction entre différents polymères de charge opposée formant ainsi des complexes insolubles (Izabela et al., 2010).

Le Tableau 8 suivant représente les doses des composés utilisées pour la préparation des microcapsules.

Tableau 8: Composition des microcapsules

Composition	CV (0 ; 1)	PEGE (1 ; 1)	PEGE (1 ; 2)
Eau	100ml	100ml	100ml
Pectine	02g	02g	02g
Caséine	08g	08g	08g
PEG	00	10g	05g

CV (0 ; 1) : Capsules vides, PEGE (1 ; 1) : Poudre d'écorce de grenade encapsulé (1 ; 1), PEGE (1 ; 2) : Poudre d'écorce de grenade encapsulé (1 ; 2), PEG : Poudre d'écorce de grenade.

III.2. METHODES

III.2.1. Caractérisation de la PEG

III.2.1.1. Détermination de la teneur en eau (NF V 05-105, 1974)

La teneur en eau est un paramètre déterminant dans la conservation des denrées alimentaires. Elle est déterminée par déshydratation de 2g de la PEG dans une étuve à 105°C±2°C, jusqu'à l'obtention de poids constant.

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{M1 - M2}{p} \times 100$$

Soit : M1 : est la masse de la (capsule + matière fraîche) avant étuvage (g). M2 : est la masse de la (capsule + matière sèche) après étuvage (g). P: est la masse de la prise d'essai (g).

III.2.1.2. Détermination du pH et acidité (NF V 05-101,1974)

Trois grammes de PEG sont placés dans une fiole conique avec 30 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie. La fiole conique est adaptée à un réfrigérant à reflux afin de chauffer le contenu au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, le contenu de la fiole conique est transvasé quantitativement dans une fiole jaugée de 250 ml et complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie. Il est par la suite bien mélangé puis filtré. Le pH est mesuré directement sur le filtrat par un pH mètre de type JENWAY.

Pour déterminer l'acidité titrable, 50 ml du filtrat, le même filtrat versés dans un bêcher, sont titrés avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N ; en présence de 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

L'acidité titrable, exprimée en milléquivalents de NaOH par 100 g de produit, est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Acidité} = \frac{250 \cdot V_1 \cdot 100}{M \cdot 10 \cdot V_0} \times 0.06$$

Soit : M : la masse en (g) de poudre prélevée.

V₀ : est le volume en ml de la prise d'essai (50ml).

V₁ : est le volume en ml de la solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N.

III.2.1.3. Détermination de la teneur en cendres (NF V79-101, 1979)

Une masse de 0,1g de la PEG est placée dans une capsule en porcelaine qui est mise par la suite dans un four à moufle réglé à 550 °C, durant 8 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise claire ou blanchâtre. La capsule est ensuite retirée du four et refroidie dans un dessiccateur puis pesée par une balance analytique. La teneur des cendres est exprimée en g/100g de matière fraîche.

Le taux de matière organique (MO) du produit est calculé selon la formule suivante :

$$\text{MO}\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100$$

Soit : MO % : Matière organique , M₁ : Masse de la capsules + prise d'essai.
M₂: Masse des capsules + cendres , P : Masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres (Cd) est calculée par la formule suivante :

$$\text{Cd}\% = 100\% - \text{MO}.$$

III.2.1.4. Analyse de la couleur de la poudre

On réalise trois lectures directes sur la PEG soigneusement placée dans des boîtes pétri. Les valeurs (L, a, b) sont lues directement à l'aide d'un colorimètre type Konica Minolta CR 10 en utilisant le système CIE lab (Ruiz-Navajas, Y2011).

III.2.1.5 Détermination de taux de solide soluble (TSS ou °Brix) (NF V05 -109,1970)

La détermination du °Brix est réalisée par un réfractomètre à brix. Pour cela, 1g PEG est additionné à 25 ml d'eau distillée. La solution est chauffée dans un bain marie pendant 30mn. Après filtration, une goutte de la solution obtenue est déposée sur le prisme d'un réfractomètre et la valeur de °Brix est directement affichée (le réfractomètre est étalonné avec l'eau distillée avant la mesure de °Brix de la solution).

La teneur en solide soluble est calculée par la formule suivante :

$$\text{°Brix} = \frac{M \cdot M_1}{E}$$

Soit : M : la masse totale de la solution pesée (contenue dans le bécher).

M₁ : la masse de résidu sec soluble pour 100 g de produit analysé (g) (lue sur le réfractomètre).

E : la masse de produit utilisé pour la détermination (g).

III.3. PREPARATION DES MICROCAPSULES

Plusieurs travaux ont abordé la micro-encapsulation d'une poudre, (Madène ,2006 ; Wilson et hah , 2007 ; Kouadio,2008, Isailovic et al.,2009 ; Barbey,2009 ; Cilek, 2012 ; Reid, 2010 ; Baracat *et al.*, 2012 ; Narsih *et al.*, 2013, De marco *et al.*, 2013,), nous avons adopté le protocole cité par Baracat *et al.* (2012), avec quelques modifications :

- Le ratio (pectine ; caséine / 5 ; 5) a été modifié en (pectine ; caséine / 2 ; 8).
- On a éliminé l'étape de centrifugation avant le séchage, vu que notre préparation est très dense, la centrifugation étant inefficace.
- On a éliminé le glutaraldehyde. (Selon Alvim *et al.* (2010), le glutaraldehyde peut être éliminé.

La

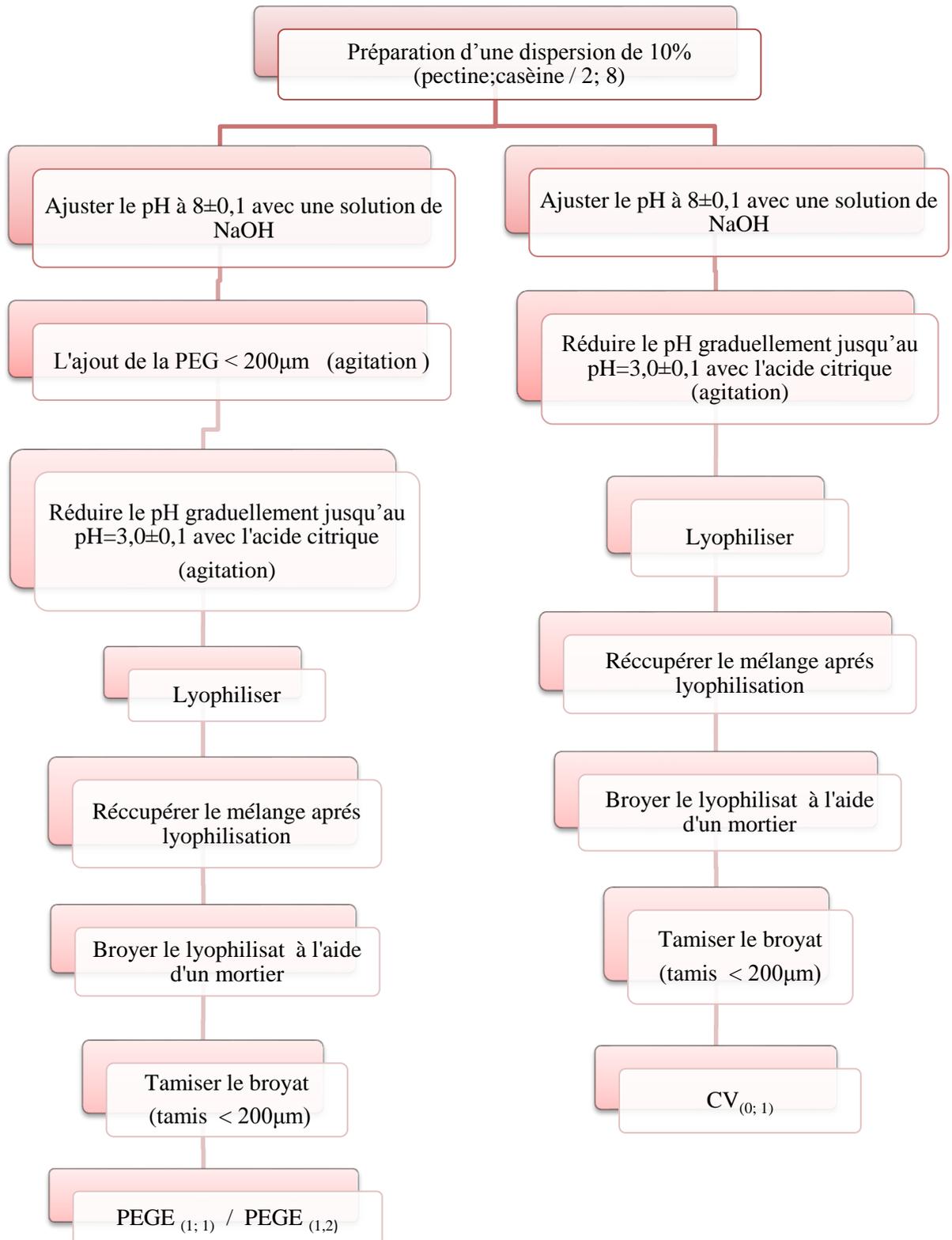


Figure 7 montre les étapes en détail.

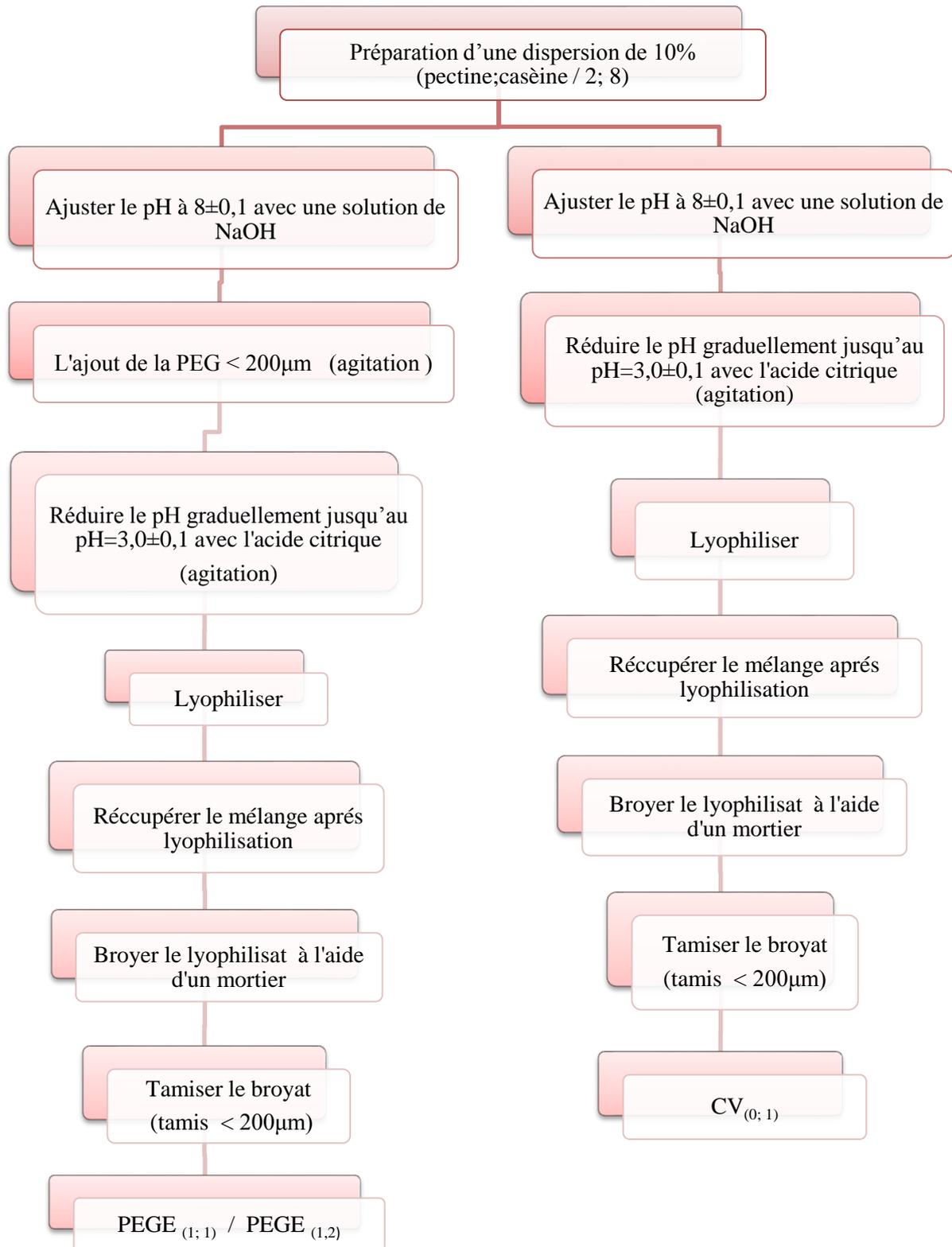


Figure 7: Protocole d'encapsulation de la poudre de l'écorce de grenade Baracat *et al.* (2012) avec modifications

On a réalisé 3 essais de microencapsulation (Tableau 9)

Tableau 9: La formulation des microcapsules

	Ratio (pectine : caséine)	Ratio (PEG : polymère)
CV _(0 ; 1)	2 ; 8	0 ; 1
PEGE _(1 ; 1)	2 ; 8	1 ; 1
PEGE _(1 ; 2)	2 ; 8	1 ; 2

III.2.2. Evaluation de la microencapsulation

III.2.2.1. Observation par MEB

Les capsules obtenues sont observées sous microscope optique. Une comparaison est faite par rapport à la PEG, des photos sont prises dans des grossissements appropriés. Des images en MEB ont été réalisées sur les poudres obtenues ainsi que la PEG.

III.2.2.2. Détermination de l'efficacité de l'encapsulation (EE%)

Afin de déterminer la longueur d'onde maximale (λ_{\max}) de travail, quatre préparations ont été réalisées. Pour cela, 1g de poudre est dispersé dans 25ml d'H₂O sous agitation magnétique pendant 1heure, la dispersion est ensuite centrifugé à 6000 rpm pendant 10 min, le surnageant est filtré, et analysé par spectrophotométrie comme suit :

Tableau 10: Balayage spectrale de différentes préparations.

Dispersion	Couleur de la dispersion	Intervalle spectrale
CV _(0 ; 1)	transparent	230nm → 400 nm
PEGE _(1 ; 1)	Jaune	350 nm → 500 nm
PEGE _(1 ; 2)	Jaune	350 nm → 500 nm
PEG	Jaune	350 nm → 500 nm

L'analyse spectrale a montré une longueur d'onde d'absorbance maximale de l'ensemble des molécules diffusées était de 368nm.

L'efficacité de l'encapsulation est évaluée comme suit:

250mg de microcapsules sont dispersés dans 20ml d'H₂O, la dispersion obtenue est centrifugé à 4000g pendant 10 min, le surnageant est filtré en utilisant un filtre seringue en nylon, le filtrat est analysé en spectrophotométrie visible à 368 nm.

L'expérimentation est faite pour les microcapsules (1 ; 1) et (2 ; 1) avec trois répétitions pour chacun, ainsi que pour la PEG. Le résultat est exprimé en moyenne \pm écart type. Barakat *et al.*, (2012).

Le EE% est calculé selon la formule suivante :

$$\text{EE\%} = (\text{DO de PEG} - \text{DO de PEGE}) / \text{DO de PEG}$$

Soit : PEG : Poudre d'écorce de grenade, PEGE : Poudre d'écorce de grenade encapsulée,
DO : densité optique

III.2.2.3. Test de solubilité des microcapsules vides

0,5g de microcapsules vides sont dispersés dans 50ml d'eau distillée, la dispersion obtenue est centrifugée à 3000rpm pendant 5mn. Le surnageant est récupéré dans une boîte de Pétri en verre bien nettoyée, séchée et tarée à 10^{-4} g près. Le contenu est séché dans une étuve à 105°C pendant 5 heures (jusqu'au poids constant) (De Marco, 2013).

$$\text{S\%} = (\text{poids avant séchage} - \text{poids après séchage}) \times 100$$

III.2.2.3. Simulation *in vitro* de la dissolution des microcapsules

Une simulation du pH de fluide gastrique et intestinal est faite sur 3 échantillons à savoir : la PEG, la PEGE (1 ; 1) et la PEGE (2 ; 1). Pour cela, nous avons préparé une solution de HCl ayant un pH=1,2 et on fixe la température à 37°C. Après deux heures, on ajoute un tampon phosphate et on ajuste le pH à 6,8, tout en préservant la température à 37°C.

De 0 à 2h : 2,25g de microcapsules sont dispersées dans 125ml, et maintenu sous agitation (50 rpm) d'une solution d'HCl ayant un pH=1,2 à une température de 37°C (conditions du fluide gastrique). Il est préférable d'utiliser un thermocouple pour stabiliser la température,

De 2 à 6h : 42ml de tampon phosphate (Na_2HPO_4) sont ajoutés pour arriver au pH=6,8 \pm 0,1 (pH de fluide intestinal).

Ensuite, effectuer des prélèvements de 6 à 8 ml de surnageant à l'aide des seringues, chaque 30min, centrifuger à 10000rpm pendant 20 min pour éliminer les particules en suspension, puis réaliser une lecture spectrale à 368nm après filtration sur filtres seringues en nylon à 0,45 μm (Marcela *et al.*, 2012).

Les résultats sont représentés sous forme de courbe cinétique des pourcentages de diffusion. Le pourcentage de diffusion est calculé comme suit :

Pour un prélèvement au temps t_x :

$$D\% = (\text{DO de PEGE à } t_x / \text{DO de PEG à } t_x) * 100$$

Soit : DO : densité optique lue au spectrophotomètre.

PEGE : poudre d'écorce de grenade encapsulée , PEG : poudre d'écorce de grenade

III.3. ESSAI D'INCORPORATION DE LA PEGE DANS UN YAOURT

III.3.1. Préparation du yaourt

Le yaourt a été élaboré selon le protocole récapitulé dans la Figure 8 . Pour cela, nous avons utilisé un lait reconstitué : une poudre de lait dans du l'eau minérale, remuer pour homogénéiser à l'aide d'une cuillère, le lait est standardisé à 140g de matière sèche par litre du lait. Ensuite le lait a été pasteurisé à 85°C pendant 5 minutes. Après refroidissement jusqu'à une température de 45°C, l'inoculation est faite par l'ajout du levain lactique préalablement préparé (0.56 g de mélange des ferments « *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* » dans 1000ml du lait 0% de matière grasse).

III.3.2. Incorporation de la PEG et la PEGE

La PEG et la PEGE ont été incorporé directement avant incubation et juste après l'ensemencement à différentes doses (Tableau 11).

Afin de vérifier l'effet des polymères de la micro-encapsulation et de la PEG sur la stabilité du yaourt, on a préparé trois témoins. Après incorporation, les pots sont incubés à 45°C pendant 4heures. Après incubation, les pots sont refroidis au réfrigérateur à 4°C.(

Tableau 11)

Tableau 11: Doses d'incorporation de la PEG et de la PEGE dans le yaourt.

Formulation	% d'incorporation		
Témoin 0	-	-	-
Témoin CV	1,5%	02%	-
Témoin PEG	1,5%	02%	3%
PEGE (1 ; 1)	1,5%	02%	3%
PEGE (1 ; 2)	1,5%	02%	3%

La Figure 8 montre les détails d'incorporation avec les conditions opératoires.

III.3.4. Evaluation globale de la qualité organoleptique du yaourt élaboré

Plusieurs critères ont été utilisés pour l'évaluation de la qualité du yaourt élaboré

- L'aspect du coagulum.
- La synérèse (séparation du sérum).
- Changement de la couleur.
- Formation de dépôt.

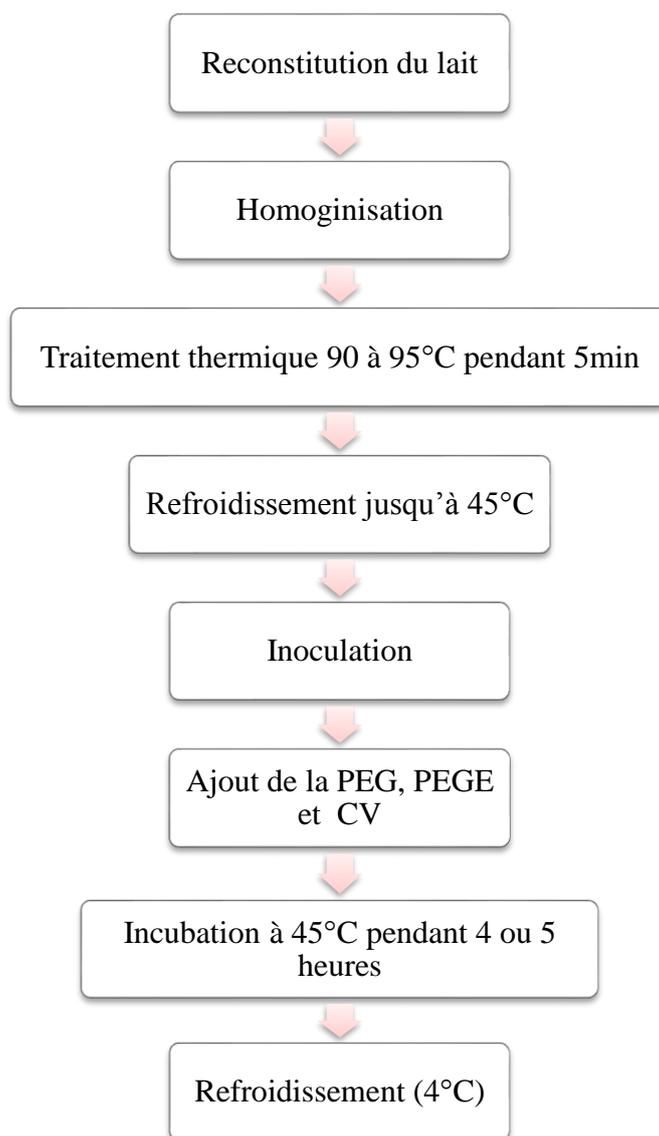


Figure 8: Diagramme de fabrication de yaourt étuvé enrichi en poudre de grenade.

Chapitre IV : RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. CARACTERISTIQUE PHYSICO-CHIMIQUE DE LA PEG

Le Tableau 12 résume les principales caractéristiques physicochimiques de la PEG, exprimées en moyenne \pm écart type.

Tableau 12: Caractéristiques physicochimiques de la PEG

Paramètres		Valeurs
Teneur en eau (g/100g)		9,83 \pm 0,06
pH		4,16 \pm 0,02
Acidité (meq/100g)		4,89 \pm 0,15
TSS ($^{\circ}$ Brix)		56,25 \pm 6,25
Teneur en cendre (%)		4,80 \pm 0,76
Couleur	<i>L</i>	52,5 \pm 0,7
	<i>a</i>	4,1 \pm 0,2
	<i>b</i>	19,2 \pm 0,5

IV.1.1. Teneur en eau

La teneur en eau est un critère de qualité utilisé essentiellement pour estimer le degré d'humidité des poudres, elle conditionne la conservation du produit. La PEG étudiée présente une teneur de 9,83% \pm 0,06, cette valeur est proche de celle trouvée par Mediani et Guerhli(2015) (9,20% \pm 0,58) et Sidoummou (2011) (9,5% \pm 0,7). Cependant elle est légèrement supérieure à la valeur mentionnée chez Achtiouane et Benamrouche (2015) (8,83%), cela est probablement dû à la durée de stockage de la poudre qui a été obtenue en 2015.

IV.1.2. Le pH

Le pH est un des paramètres physicochimiques qui jouent un rôle important dans la prolifération microbienne dans les denrées alimentaires. Un pH acide est favorable à la croissance des levures et des moisissures, tant dis que les bactéries préfèrent un pH neutre. Nos résultats montrent un pH acide de 4,16 \pm 0,02 inférieur à la valeur mentionnée chez

Mediani et Guerhli en 2015 ($4,77\pm 0,023$) et Achiouane et Benamrouche en 2015 (4,40), cependant il reste proche du pH trouvé par Sidoummou en 2011 qui est de $4,02\pm 0,042$. Ce pH est dû à la richesse de la PEG en deux importants acides : hydroxybenzoïques, l'acide gallique et l'acide ellagique (Ilham Hmid, 2014). Le pH de 4,16 est susceptible de favoriser une prolifération des levures et des moisissures, problème souvent rencontré sur les écorces de grenade, ce qui exige une conservation à l'abri de l'humidité.

IV.1.3. L'acidité titrable

La PEG présente une acidité de $4,89\pm 0,15\text{meq}/100\text{g}$, cette valeur est légèrement supérieure à celle de Mediani et Guerhli ($3,36\pm 0,054$) et Achiouane et Benamrouche (4,0), mais elle est très élevée par rapport à celle trouvée par Sidoummou en 2011 qui est de : $1,59\pm 0,156$, cet écart est due à plusieurs facteurs : la variété, le stade de maturation et la méthode de dosage de l'acidité.

IV.1.4. Taux de solides solubles TSS (° Brix)

On entend par résidu sec soluble, la concentration en composés solubles (en %) d'une solution aqueuse. La PEG présente un TSS de : $56,25\pm 6,25$, qui est légèrement supérieur à celui trouvé par Achiouane et Benamrouche (2015) (41,62%). Le TSS nous renseigne sur la qualité de la poudre obtenue par séchage. La valeur trouvée indique que la poudre de l'écorce de grenade est riche en solides solubles.

IV.1.5. Taux de cendres

Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présente dans la PEG. Le résultat trouvé montre la richesse de la PEG en minéraux ($4,80\pm 0,76$), en comparaison avec les valeurs trouvées par Mediani et Guerhli (2015) ($1,93\pm 0,076$). Cependant, la valeur trouvée est proche à celle de Sidoummou (2011) ($4,6\pm 0,076$), mais il est nettement inférieur à celle trouvée par Achiouane et Benamrouche (2015) (10,00%). On note que la richesse des plantes en minéraux dépend de la composition du sol et la richesse de l'eau d'irrigation en matière minérale.

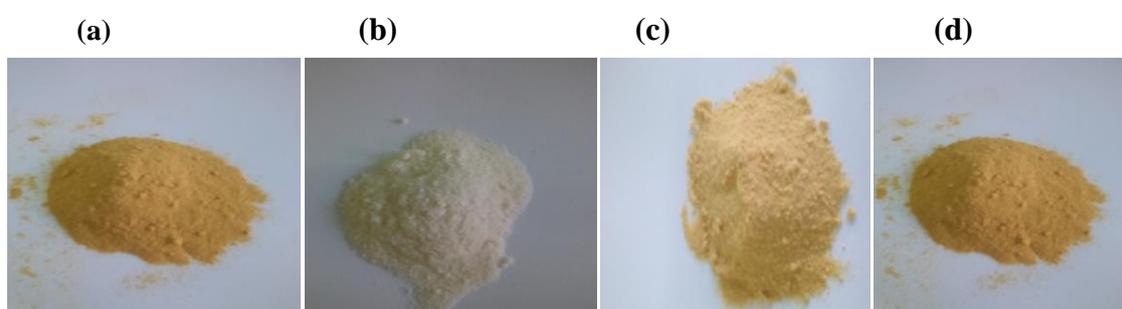
IV.1.6. Indice de couleur

La couleur est l'un des paramètres les plus importants pour l'évaluation de la qualité des produits alimentaires car elle influence l'acceptabilité par le consommateur (40% du critère d'acceptabilité).

La PEG étudiée présente un indice L (Lightness) de $52,5 \pm 0,7$ (Tableau 12) indiquant une clarté moyenne, qui est inférieure à celle trouvée par Mediani et Guerhli (2015) et Achtiouane et Benamrouche (2015) avec des valeurs de $72,0 \pm 0,5$ et $77,5$ respectivement. Cependant l'indice de rouge a de notre écorce est de $4,1 \pm 0,2$ cette valeur est très proche de celle trouvée par Mediani et Guerhli (2015) ($3,9 \pm 0,2$) mais elle est faible par rapport à celle de Achtiouane et Benamrouche (2015) ($7,3$). Pour la bande jaune-bleu, la PEG étudiée présente un indice de jaune $b = 19,2 \pm 0,5$; ce qui donne la couleur jaune franche à la poudre. Mais elle reste inférieure aux valeurs trouvés par Mediani et Guerhli (2015) ($30,3 \pm 0,3$) et Achtiouane et Benamrouche (2015) ($25,23$). Cela est dû à des nombreux facteurs : la variété, l'état de maturité des fruits et le procédé de séchage.

IV.2. EVALUATION DE LA MICRO-ENCAPSULATION DE LA PEG

Dans cette étude, nous avons opté pour la préparation de deux ratios (PEG : polymère) qui sont : PEGE (1 ; 1) et PEGE (1 ; 2) afin de déterminer le ratio qui assure la meilleure encapsulation. Ainsi, le ratio du complexe de polymère utilisé (pectine ; caséine) est fixé à (2 ; 8). La micro-encapsulation réalisée, a donné une poudre jaunâtre un peu plus claire que la PEG (Figure 9).



(a) PEG ; (b) CV_(0;1) ; (c) PEGE_(1;2) ; (d) PEGE_(1;1)

Figure 9 : Les différentes microcapsules élaborées (Photos originales).

IV.2.1. Observation sous microscope optique

L'observation microscopique montre que la PEG se présente sous forme de particules amorphes de formes et de dimensions irrégulières (Figure 10 -a). Les CV apparaissent sous forme de cristaux. Tandis que (Figure 10 c - d) montre que la PEGE a un aspect de cristaux vitreux ayant un cœur opaque.

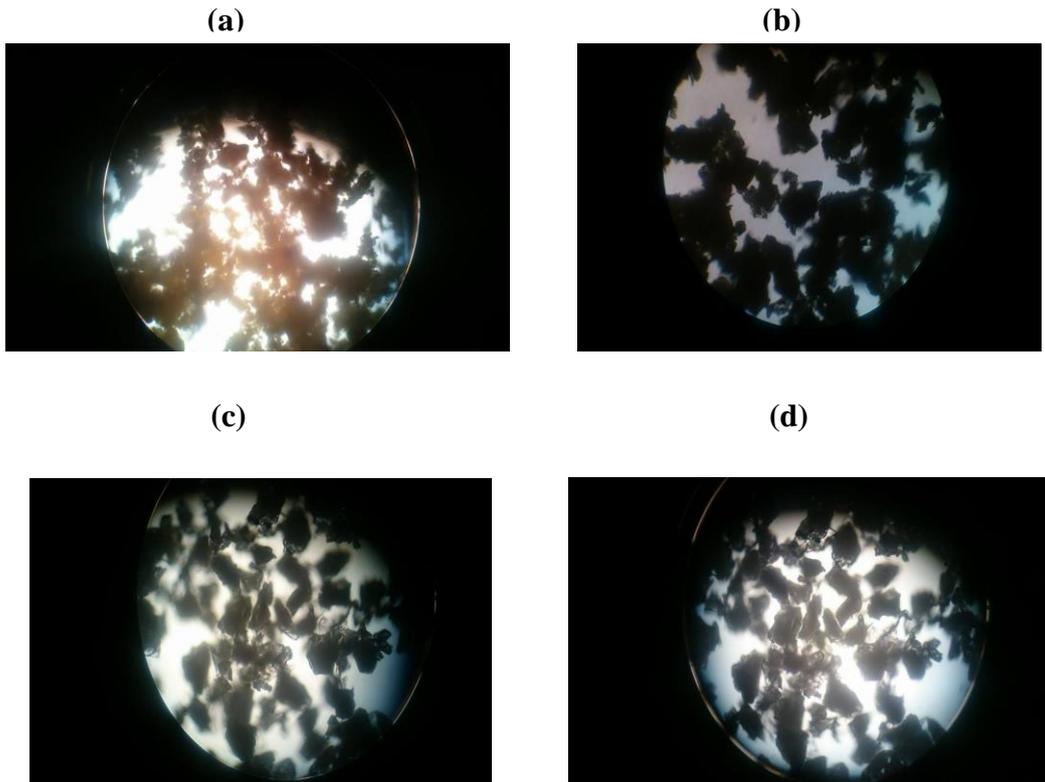


Figure 10: Photos prises sous microscopie optique (Gr x100)

(a) PEG ; (b) CV $(0;1)$; (c) PEGE $(1;1)$; (d) PEGE $(1;2)$

IV.2.2. Microscopie électronique à balayage

Les résultats de l'observation sous le microscope électronique à balayage (MEB) de la PEG, CV et PEGE sont illustrés dans la figure 11.

La PEG et la PEGE présentent des dimensions inférieures à $200\mu\text{m}$. Les microphotographies MEB des microcapsules montrent que les particules se présentent sous différentes formes avec des agglomérations dans la PEGE. La densité de l'agglomération reflète le taux de complexation (PEG ; polymère).

La PEG (a) se présente sous forme de particules amorphes de forme irrégulière et de taille $<200\mu\text{m}$ (la fraction granulométrique choisie). Dans la figure 11(b) on observe des cristaux qui représentent les CV.

Concernant la figure 11 (c) et (d) on constate la présence des agglomérats sous forme de cristaux vitreux, c'est la PEGE.

Selon Tuinier et *al* (2002), la pectine s'adsorbe sur les micelles de caséine sous de multicouches durant le processus de l'acidification, ce qui explique en partie l'observation en (b), de ce fait, on peut dire que le réseau qui apparaît sur la figure 11 (c) et (d) représente le complexe (pectine : caséine) qui enveloppe les particules de la PEG.

La qualité des microcapsules est influencée principalement par l'humidité, la taille et la forme des capsules (Cam et al, 2014).

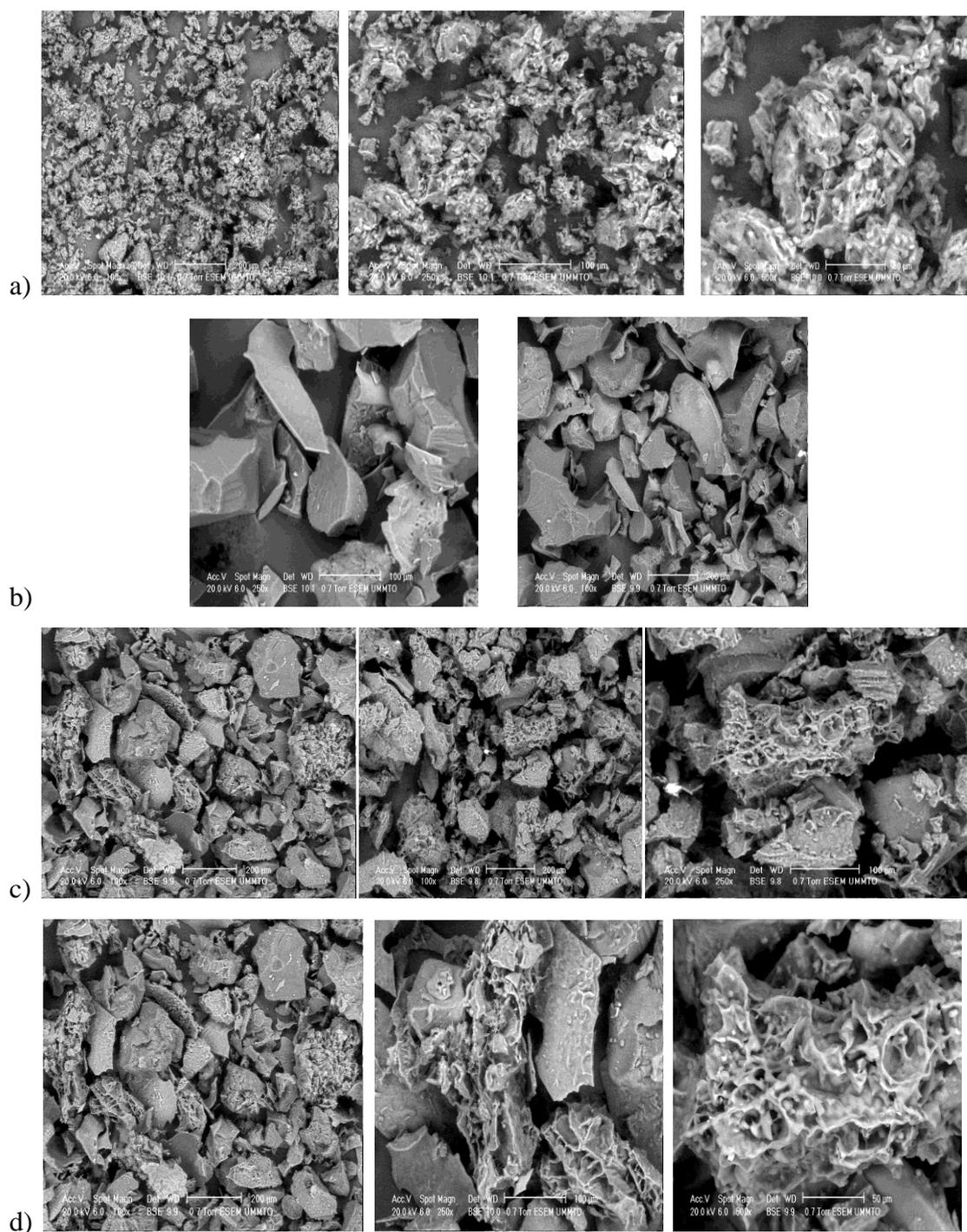


Figure 07 : MEB des poudres de l'écorce de grenade

(a) PEG ; (b) CV (0;1) ; (c) PEGE (1;1) ; (d) PEGE (1;2)

IV.2.3. Efficacité de l'encapsulation (EE%)

L'efficacité de l'encapsulation représente le pourcentage de la PEGE par rapport à la PEG dans un mélange. L'étude a été effectuée sur les poudres encapsulées avec un ratio (polymère ; PEG) de (1 ; 1) et (1 ; 2) ($PEGE_{(1;1)}$ / $PEGE_{(1;2)}$).

Les résultats obtenus ont révélé une efficacité de 96,73% pour $PEGE_{(1;2)}$ et de 91,79% pour la $PEGE_{(1;1)}$. Ces valeurs sont supérieures à celles trouvés par De Marco et al. (2013) (micro-encapsulation de la bixine colorant alimentaire) qui était de 75,69% , Morais (2004) (56% à 83%) et Cilek (2012) sur la micro-encapsulation des composés phénoliques extraits des grignons de cerises acides avec 69,38% à 92,26%, mais elles sont inférieures à celles trouvés par Cam et al. (2014) (98%) (Micro-encapsulation de l'extrait phénolique des écorces de grenade). Cela indique le bon déroulement de l'encapsulation de la PEG. En outre, la différence entre les pourcentages d'efficacité d'encapsulation de la $PEGE_{(1;1)}$ et $PEGE_{(1;2)}$ est due probablement à la quantité de poudre utilisée (le ratio de mélange).

IV.2.4. Test de solubilité des capsules vides

L'estimation de la solubilité de $CV_{(0;1)}$ nous renseigne sur leur stabilité dans l'eau, qui conditionne à son tour la diffusion des composants de la poudre encapsulée dans le milieu. Le test de solubilité a donné un pourcentage de $31,41 \pm 0,24\%$. La solubilité des microcapsules est influencée par le pH et la température qui affectent l'intégrité du complexe.

IV.2.5. Test de simulation *in vitro* de la dissolution des microcapsules

L'estimation de la solubilité des microcapsules dans le pH gastrique nous permet de suivre la cinétique de libération de la PEGE.

Les résultats obtenus nous ont permis de tracer les courbes suivantes (Figure 11) :

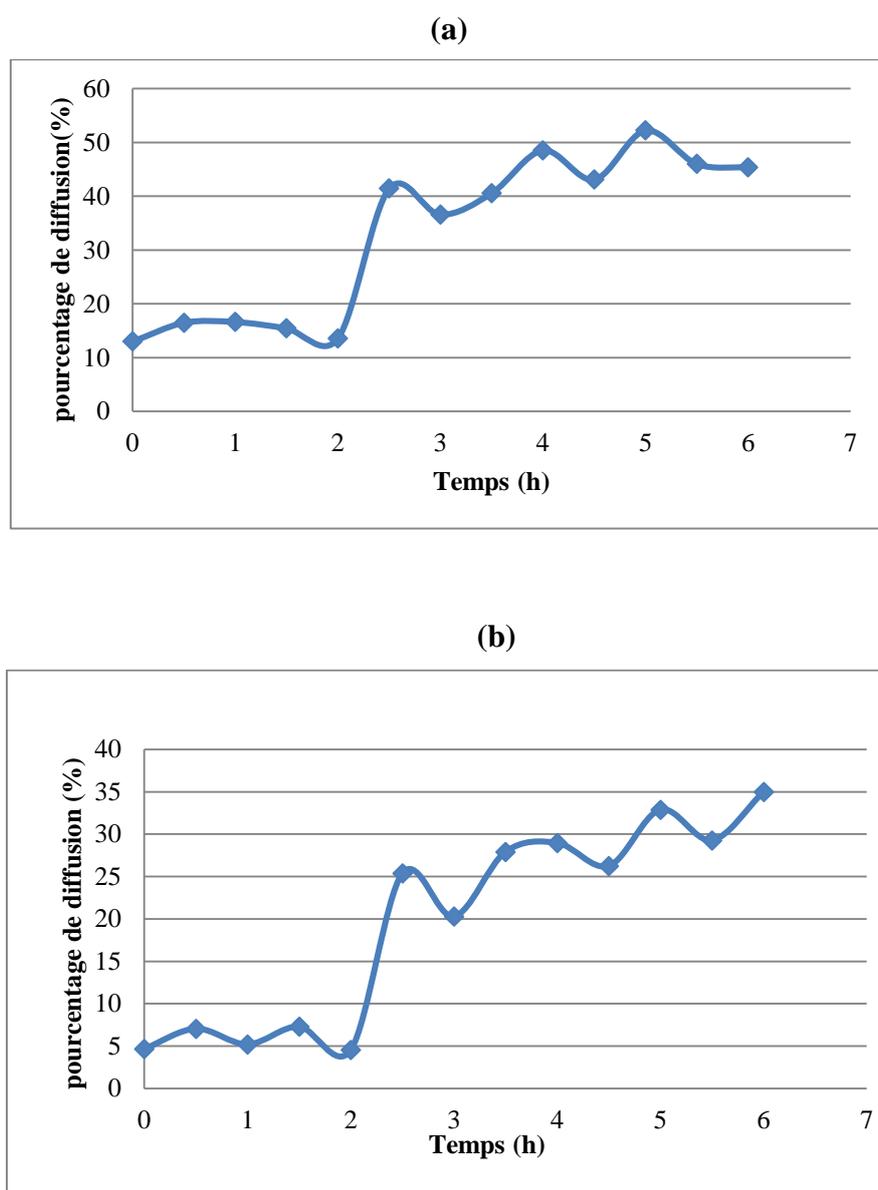


Figure 11: Cinétique de diffusion de la PEGE « test *in vitro* »

(a) PEGE_(1;1) ; (b) PEGE_(1;2)

La Figure 11 représente la cinétique de diffusion des composants de la PEGE_(1;1) et la PEGE_(1;2) dans le pH 1,2 et le pH 8. Les résultats obtenus montrent une diffusion partielle au pH 1,2 (pH du fluide gastrique) de 0 à 2 heures. La différence entre le pourcentage de diffusion de la PEGE_(1;1) et la PEGE_(1;2), dans cette phase, est due au ratio (PEG ; polymère). Ensuite la diffusivité augmente d'une manière brusque mais cette augmentation est plus importante pour la PEGE_(1;1), elle est de 25,37% et de 41,42% après 2h et de 35% et

50% après 6h pour $PEGE_{(1; 1)}$ et $PEGE_{(1; 2)}$ respectivement. Cela est expliqué par la variation de pH du milieu.

Dans la deuxième phase (phase intestinale), le graphe présente une allure sous forme de dent de scie, cela est expliqué par la décomposition de quelques molécules diffusées par oxydation.

D'après les résultats obtenus, la diffusion partielle durant la première phase est expliquée par la solubilisation de la pectine à pH acide. Ensuite, la diffusion augmente après 2h pour un pH de 6,8 (pH intestinal), cela est expliqué par la solubilisation de la caséine à pH=6,8

. Ce comportement vient d'une part, de la structure de la pectine. Selon Tuinier et *al* (2002), l'adsorption de la pectine sur les micelles de caséine se présente sous forme de multicouche, ce qui explique en partie la faible diffusion dans un pH assez acide ; d'autre part, par la solubilisation des protéines (caséine) au pH alcalin. Donc, cela nous permet d'assimiler la structure de la microcapsule à un matériau multi-couches, dont une couche intérieure « la caséine » et une couche supérieure « la pectine ».

IV.3. FORMULATION DU YAOURT ENRICHI EN POUDRE D'ECORCE DE GRENADE ENCAPSULEE

Le

Tableau 13 : Résultats préliminaires d'essai d'incorporation dans un yaourt étuvé résume les caractéristiques globales du yaourt enrichi par la PEG, $PEGE_{(1; 1)}$, et $PEGE_{(1; 2)}$.

D'après le Tableau 13 : Résultats préliminaires d'essai d'incorporation dans un yaourt étuvé ci-dessus en constate que le yaourt témoin présente un bon coagulum ce qui indique une bonne fermentation (levain de bonne qualité).

Le yaourt avec la PEG présente une couleur jaune vert typique de la couleur de la PEG, avec une astringence intense due à sa richesse en tanins, pour toutes les concentrations. Ceci revient à la diffusion des composants de la poudre dans le milieu. Le coagulum présente un aspect ferme, ce qui nous permet de conclure que les ferments lactiques résistent à l'activité antimicrobienne de l'écorce de grenade. Néanmoins, on constate un dépôt de la PEG.

L'incorporation de la $PEGE_{(1; 1)}$ affecte la formation du coagulum. Lors de l'ajout de la PEGE on a constaté la formation de flocons (précipitation précoce des caséines du lait

avant même l'action des ferments lactiques) qui sont probablement du à l'acidité des capsules, donnant de ce fait une séparation du lactosérum et un coagulum lâche et moue. En effet, cette acidification est due au complexe (caséine-pectine) qui est formé par coacervation ce qui nécessite un abaissement graduelle du pH jusqu'au $\text{pH} = 3$, sans pour autant l'existence de possibilités de lavage des capsules formés sans risque d'érosion du complexe (31% de perte-voir test de solubilité des capsules vides).

Tableau 13 : Résultats préliminaires d'essai d'incorporation dans un yaourt étuvé

	Doses	Formation de coagulum	Synérèse	Couleur	L'astringence	Dépôt
Témoin blanc	-	Bon	Absence	blanc	-	absence
PEG	1,5%	Bon	Absence	Jaune vert	Apparente	Présence
	02 %	Bon	Absence	Jaune vert	Apparente	Présence
	2,5%	Bon	Absence	Jaune vert	Apparente	Présence
PEGE (1 ; 1)	1,5%	Mauvais	présence	crème	Partiellement masqué	absence
	02%	Mauvais	présence	crème	Partiellement masqué	absence
	2,5%	Mauvais	présence	crème	Partiellement masqué	absence
PEGE (1 ; 2)	1,5%	Mauvais	présence	Crème	Masqué	absence
	02%	Mauvais	présence	Crème	Masqué	absence
	2,5%	Mauvais	présence	Crème	Masqué	absence
CV (0 ; 1)	02%	Mauvais	présence	Blanc	-	absence
	2,5%	Mauvais	présence	Blanc	-	absence

L'astringence est partiellement masquée, prouvant la résistance des microcapsules dans le yaourt, ainsi le but principal de cette application a été atteint. Cette dernière a été nettement masquée dans le yaourt avec la PEGE (1 ; 2). L'apparition de la couleur crème peut être du soit à la fraction de la PEG non encapsulée, représentant 8% et 3% pour la PEGE (1 ; 1) et la PEGE (1 ; 2) respectivement, soit à la diffusion des molécules de couleur jaune via les capsules.

L'absence de dépôt dans le yaourt enrichi avec la PEGE est expliqué par l'hydratation de la pectine dans le milieu aqueux et les interactions (pectine - caséine) donnant du corps au mélange, empêchant ainsi la sédimentation des capsules.

CONCLUSION

La poudre d'écorce de grenade constitue une source importante de polyphénols. Ces constituants présentent diverses activités biologiques, principalement l'activité antioxydante. Cela justifie son utilisation comme ingrédient fonctionnel dans l'industrie alimentaire. Toutefois, du fait du goût astringent de la Poudre d'Ecorces de Grenade PEG, cette dernière est inutilisable en l'état. Ce qui motive la recherche de solutions techniques à cet inconvénient que nous menons dans ce travail.

La micro-encapsulation de la PEG par un complexe de biopolymère (pectine-caséine) s'avère une option envisageable, car elle a donné des microcapsules biodégradables dans le pH gastro-intestinale offrant ainsi la possibilité de libérer les composants bioactifs de la poudre, et par la suite leur absorption dans l'intestin. En outre, l'efficacité de l'encapsulation a été estimée à une valeur de 91 à 96 %, ce qui prouve les performances de la coacervation.

La formulation d'un yaourt étuvé enrichi par la PEGE a été réalisée. Un test sensoriel préliminaire a montré que l'astringence de la PEG a été sensiblement masquée dans le cas de PEGE (1 ; 2) ainsi que le problème de sédimentation, permettant d'arriver à des taux d'incorporation de 2 à 3% de PEGE correspondant à une quantité de PEG de 0,6 à 1,5%, quantités acceptables pour un effet santé éventuel.

A la lumière des résultats obtenus et tenant compte de la problématique du sujet il nous semble conséquent d'approfondir le présent travail par :

- La caractérisation complète des microcapsules y compris le pH et l'acidité.
- L'optimisation des ratios (PEG ; polymère) afin d'arriver au meilleur rendement d'encapsulation.
- L'utilisation d'autre technique de micro-encapsulation afin d'élaborer des microcapsules plus facile à incorporer dans les produits alimentaires.
- Essai d'incorporation de la PEGE dans des matrices alimentaires acides plus compatibles avec la nature des capsules tel que le yaourt brassé et le jus.

LISTE DES REFERENCES

- Ach, D. 2014. Microencapsulation par coacervation complexe des protéines du lactosérum et de gomme d'acacia. Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard LYON 1.
- Achiouene, S. et Benamrouche, R. 2015. Contribution à l'évaluation des propriétés physicochimiques, fonctionnelles et biologiques de la poudre de peaux de grenade (*Punica granatum*) d'Algérie (région de Bordj Menail) Mémoire de Master, Département de Technologie Alimentaire, FSI, Université de Boumerdes
- AL-Saeed, M.H., Hadi, N.S. 2015. Etude de l'effet des iso flavonoïdes extraits de l'écorce de *Punica granatum* sur la fertilité et les caractéristiques du sperme chez les males des lapins ». Université de Basrah, Iraq.
- AL-Saeed, M.H., Othman, R.M., AL-Saeed, A.H. 2015. L'effet de l'extrait éthanoïque de l'écorce de *Punica granatum* sur la guérison des plaies infectées de champignons chez les lapins ». *AL-Qadisiya Journal of Vet. Med. Sci*, Vol. 14 No.1
- Alvim, I.D., Grosso, C.R.F. 2010. microparticules obtenues par coacervation complexe : influence de type de réticulation et le process de séchage sur la libération de matériel de cœur. *Sciences et technologies des aliments* ISSN 0101-2061.
- Al-Yahya, M.A. 2005. Etudes préliminaires phytochimiques et pharmacologiques de l'écorce de grenade (*Punica granatum L*), *Journal Pakitstanais des Sciences biologiques* 8(3) : 479-481, ISSN 1028-8880
- Andreani, L., Cercena, R., Ramos, B.G.Z. and Soldi, V. 2009. Development and characterization of wheat gluten microspheres for use in a controlled release system. *Mater Sci Eng*, 29, 524-531.
- Association française de normalisation AFNOR. 1974. Recueil des normes françaises des fruits et légumes et ses dérivés.
- Augustin, M.A. and Hemar, Y. 2009. Nano- et micro-structure pour l'encapsulation des ingrédients des aliments. *Chem Soc Rev*, 38, 902-912.
- Barbey, C. 2009. Séchage et enrobage d'un extrait aqueux de jus de grenade concentré en substances bioactives. Rapport de travail de diplôme, Haute Ecole Spécialisé de la Suisse Occidentale.
- Barthès-Biesel, D. et Leclerc, E. 2009. Conception et réalisation d'un système microfluidique pour la production de gouttes calibrées et leur encapsulation. Thèse de doctorat in hal Id: tel-00424911 <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00424911>, 11,12.
- Bédié, G.K., Turgeon, S.L. and Makhlof, J. 2008. Formation of native whey protein isolate–low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. *Food Hydrocolloid*, 22, 836-844.
- Benita, S., Hoffman, A. and Donbrow, M. 1985. Microencapsulation de paracétamol utilisant la résine de polyacrylate, cinétique de libération du médicament et évaluation d'un modèle cinétique. *J Pharm Pharmacol*, 37, 391.
- Bingham, G., Gunning, R.V., Gorman, K., Field, L.M. and Moores, G.D. 2007. Synergie temporelle par microencapsulation de piperonyl butoxide et α -cyperméthrin

pour la résistance des insecticides contre les ravageurs de culture. *Pest Manag Sci*, 63, 276-281.

- Bocquel, D. Microencapsulation d'arômes par extrusion. <http://itv.hevs.ch/switzerland/microencapsulation-aromes-extrusion.html>.
- Bouchemal, K., Briancon, S., Fessi, H., Chevalier, Y., Bonnet, I. 2006. Simultaneous emulsification and interfacial polycondensation for the preparation of colloidal suspensions of nanocapsules. *Material Sci Eng*, 26, 472-480.
- Calin, S.A., et Carboneli, B.A.A. 2005. La grenade cultivées en Espagne Punicalagine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les l'aliment fonctionnelle du fruit. Livre. Natural ontioxydant granatum, université Miguel Hernandez (EDS), Murcia Espagne, 77p.
- Cam, M., Icyer, N.C., Erdogan, F. 2014. Les phénols de l'écorce de Grenadier: Microencapsulation, stabilité de stockage et les ingrédients potentiels pour le développement des aliments. *Sciences et Technologie des aliments*. 117-123.
- Chen, L. and Subirade, M. 2009. Elaboration and characterization of soy/zein protein microspheres for controlled nutraceutical delivery. *Biomacromolecules*, 10, 3327-3334.
- Cildas, K. G. 2010. Aspects physicochimiques de l'encapsulation et de la désencapsulation des probiotiques. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale des sciences chimiques, 825, p.57-58
- Cilek, B. 2012. Microencapsulation des composés phénoliques extraits des grignons de cerises acides *Prunus cerasus L.* Thèse de Master des Sciences, Ecole Supérieure des Sciences Naturelles et Appliquées, Université Technique de Moyen Orient.
- Cucheval, A. S. B. 2009. investigations sur le comportement des systèmes pectine/micelle de caséine et leurs analogues. Thèse de Doctorat, Institut des sciences fondamentales, université de Massey, New Zélande.
- Dai, R., Wu, G., Li, W., Zhou, Q., Li, X. 2010. Gelatin/carboxymethylcellulose/dioctyl sulfosuccinate sodium microcapsule by complex coacervation and its application for electrophoretic display. *Colloid Surface*, 362, 84-89.
- De Marco, R., Vieira, A.M.S. Ugri, M.C.A., Monteiro, A.R.G., Rita de C. Bergamasco. 2013. Microencapsulation de l'extrait des graines de rocou : stabilité et application. *Transactions de L'Ingénierie Chimique*, Vol.32, 1777-1782 DOI: 10.3303/CET1332297.
- Debji, B., Harish, G., Pragati Kumar, B., Duraivel, S., Aravind G., Sampath Kumar, K.P. 2013. Utilisations médicinales de *Punica granatum* et ses bénéfiques sur la santé. *Journal of pharmacognosy and Phytochemistry*, Volume 1 Issue 5, ISSN : 2278-4136
- Dewettinck, K. and Huyghebaert ,A. 1999. Fluidized bed coating in food technology. *Trends Food Sci Tech*, 10, 163-168.
- Drusch, S. 2007. Sugar beet pectin: A novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. *Food Hydrocolloid*, 21, 1223-1228.
- Dubey, R., Shami, T.C. et Bhasker Rao, K.U. 2009. Technologie et application de la microencapsulation. *Defence Sci Journal*, 59, 82-95.

- Ehlers, H., Rääkkönen, H., Antikainen, O., Heinämäki, J. and Yliruusi, J. 2009. Improving flow properties of ibuprofen by fluidized bed particle thin-coating. *Int J Pharm*, 368, 165-170.
- El-Zawahry, M.M., El-Shami, S. et El-Mallah, M.H. 2007. Optimisation de process de séchage de la laine ayant un colorant réactif par microencapsulation dans des liposomes. *Les pigments colorés*, 74, 684-691.
- Favaro-Trindade, C.S., Santana, A.S., Monterrey-Quintero, E.S., Trindade, M.A. and Netto, F.M. 2010. The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloid*, 24, 336-340.
- Fergason, J.L. 1964. Les cristaux des liquides. *Scientific American J*, 211, 77.
- Finch, C.A., Bodmeier, R. 2005. Microencapsulation, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 10.1002/14356007.a16_575.
- Freitas, S., Merkle, H.P. and Gander, B. 2005. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *J Control Release*, 102, 313-332.
- Gan, C.Y., Cheng, L.H. and Easa, A.M. 2008. Evaluation of microbial transglutaminase and ribose crosslinked soy protein isolate-based microcapsules containing fish oil. *Innov Food Sci Emerg Tech*, 9, 563-569.
- Garachh, D., Patel, A., Chakraborty, M., Kamath Jagdish, V. 2012. Aperçu de profile phytochimique et pharmacologique de *Punica granatum*. Article de synthèse, *Journal international de recherche en pharmacie*, ISSN 2230-8407.
- Ge, X., Wan, Z., Song, N., Fan, A. and Wua, R. 2009. Méthodes efficaces de l'extraction et la micro-encapsulation du pigment rouge d'une rose hybride. *J Food Eng*, 94, 122-128.
- Genté, M.C. 2007. Utilisation de complexes formés de pectine et d'isolat de protéines sériques dans la formulation de yaourt brassé. Mémoire de maitre ès sciences, Université de Laval, Québec.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. and Saurel, R. 2007, Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res Int*, 107-1121.
- Gouin, S. 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci Tech*, 15, 330-347.
- Grrigs, M.A., Johinslin, R. 1926. Préparation et propriétés colloïdales de pectine. *Génie chimique et industrielle*, 18(6),623-625.
- Hampel, N., Bück, A., Peglow, M. and Tsotsas, E. 2013. Continuous pellet coating in a wurster fluidized bed process. *Chem Engineer Sci*, 86, 87-98.
- Hasmik, H., Wilma, C., Hazeleger-Rijkelt, R., Beumer . 2012. Inhibition de *Listeria monocytogenes* par l'extrait de l'écorce de grenade (*Punica granatum*) dans la viande à différentes températures. *Control des aliments*, 23(2012) 66-72.
- Heidebach, T., Forst, P. and Kulozik, U. 2009. Microencapsulation of probiotic cells by means of rennetgelation of milk proteins. *Food Hydrocolloid*, 23, 1670-1677.
- Hmid, I. 2014. Contribution à la valorisation alimentaire de la Grenade marocaine (*Punica granatum*): caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leurs jus vrais. Food and nutrition, archives ouvertes de l'université d'Anger.

- Isailovic, B., Kalusevic, A., Zurzul, N., Coelho, M.T., Dordevic, V., Alves, V.D., Sousa, I., Moldao-Martins, M., Bugarski, B., Nedovic, V.A. 2009. Microencapsulation des antioxydants naturels de *Pterospartum tridentatum* dans des systèmes différents d'alginate et d'inuline. 6^{ème} Congrè Européen Central.
- Jahir, A. K., Sonali, H. 2011. Les propriétés antibactériennes de l'écorce de *Punica granatum*. *Journal international de biologie appliquée et technologie pharmaceutique*, Volume : 2, Issue-3, ISSN : 0976-4550
- Janeth, V., Francisco Alarcon-, A. , Ruben Ruben, R., Efrain Campos, S., Maria L. Reyes-Vega, V., Boone-Villa, D., Edgar Ivan Jasso, V., Cristobal, N. , Aguilar. 2013. Qualité et propriétés antioxydants de jus de Grenade moins sucré, avec l'extrait aqueux de l'écorce de grenade. *Chimie des aliments*. 136 (2013) 109-115
- Janssen, L.J.J.M. and Nijenhuis, K. 1992. Encapsulation by interfacial polycondensation. *J Membrane Sci*, 65, 59-75
- Jean, C., et Dijon, C. 1993. Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.
- Jeon, Y.J., Vasanthan, T., Temelli, F. and Song, B.K. 2003. The suitability of barley and corn starches in their native and chemically modified forms for volatile meat flavor encapsulation. *Food Res Int*, 6, 349-355.
- Kai, Z., Qiang, F., Jinghui, F. and Dehui, Z. 2005. Preparation of Ag/PS composite particles by dispersion polymerization under ultrasonic irradiation. *Mater Lett*, 59, 3682-3686.
- Kouadio, G.B. 2008. Microencapsulation des composées nutraceutiques dans des complexes protéines-polysaccharides » thèse de Doctorat, Université de Laval, Quebec.
- L'officinal N°86. 2011. Phytothérapie Nature et santé, La grenade fruit du grenadier. L'officinal (EDS), 3p.
- Labib Ahmed Hossin, F. 2009. Effet de l'écorce de Grenadier *Punica granatum* et son extrait sur l'hypercholestérolémie des rats obèses. *Journal Pakistanais de nutrition* 8(8) : 1251-1257 ISSN 1680-5194
- Lairini, R., Bouslamti, F., Zerrouq et A., Farah. 2014. Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante. *J. Master. Environ. Sci.* 5(S1) : 2314-2318, ISSN : 2028-2508
- Lazko, J., Popineau, Y., and Legrand, J. 2004. Soy glycinin microcapsules by simple coacervation method. *Colloid Surface*, 37, 1-8.
- Leo, E., Forni, F. and Bernabei, M.T. 2000, Surface drug removal from ibuprofen-loaded PLA microspheres. *Int J Pharm*, 196, 1-9.
- Liang, C., Lingling, X., Hongbo, S. and Zhibin, Z. 2009. Microencapsulation of butyl stearate as a phase change material by interfacial polycondensation in a polyurea system. *Energ Convers Manage*, 50, 723-723.
- Liu, S., Elmer, C., Low, N.H. and Nickerson, M.T. 2010. Effect of pH on the functional behaviour of pea protein isolate–gum Arabic complexes. *Food Res Int*, 43, 489-495.
- Madene, A. 2006. Etude des transferts d'arômes encapsulés dans une matrice alimentaire type Génoise. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine.

- Marcela, M., Baracat, A. M., Nakagawa, R. C. , Sandra, R., Georgetti, W.A., Verri Jr., and Osvaldo F. 2012. Préparation et caractérisation des microcapsules basées sur des polymères biodégradable : complexe pectine /caséine pour les systèmes de libération contrôlée des médicaments. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* Vol.13.No.2.
- Mediani, A. et Guerhli, A. 2015. Essais de caractérisation et d'incorporation des poudre d'écorce de grenade dans une matrice alimentaire type L'ben et boisson bitter. Mémoire de Master, département de technologie alimentaire, FSI, Université de Boumerdes.
- Moghaddam, G., Sharifzadeh, M., Hassanzadeh, G., Khanavi, M., Hajimahmoudi, M. 2013. L'activité anti ulcérigénique de l'extrait méthanoïque de l'écorce de Grenadier (*Punica granatum*) ». *Sciences des aliments et de nutrition*, 4, 43-48.
- Mohanty, B., Aswal, V.K., Kohlbrecher, J. and Bohidar, H.B. 2005. Synthesis of gelatin nanoparticles via simple coacervation. *J Surf Sci Tech*, 21, 149-160.
- Moschakis, T., Murray, B.S. and Biliaderis, C.G. 2010. Modifications in stability and structure of whey protein-coated o/w emulsions by interacting chitosan and gum arabic mixed dispersions. *Food Hydrocolloid*, 24, 8-17.
- Murúa-Pagola, B., Beristain-Guevara, C.I. and Martínez-Bustos, F. 2009. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. *J Food Eng*, 91, 380-386.
- Narayan, T., Deshpande, S., Jha, A., Ramprasad, V.P. 2014. Le fruit de *Punica granatum* (grenadier) et ses pertinences dans l'hygiène oral. *Journal des sciences dentaires et médicales*, Volume 13, Issue 8 Ver . IV, pp 29-34 ISSN : 2279-0853
- Narsih, Sri Kumalaingsih, Susinggih Wijana and Wignyanto. 2013. Microencapsulation de poudre d'antioxydants naturels de la peau de *Aloe vera L* utilisant la méthode de séchage par tapis de mousse. *Journal international de recherche alimentaire*. 20(1) : 285-289 (2013)
- Nordstierna, L., Abdalla, A.A., Masuda, M., Skarnemark, G. and Nydén, M. 2010. Libération moléculaire des surfaces peintes : biocides libres et encapsulés. *Prog Org Coat*, 69, 45-48.
- Onder, E., Sarier, N. and Cimena, E. 2008. Encapsulation of phase change materials by complex coacervation to improve thermal performances of woven fabrics. *Thermochim Acta*, 467, 63-72.
- Ortiz, S.E.M., Mauri, A., Monterrey-Quintero, E.S. and Trindade, M.A. 2009. Production and properties of casein hydrolysate microencapsulated by spray-drying with soybean protein isolate. *Food Sci Technol*, 42, 919-923.
- Palomo, M.E., Ballesteros, M.P. and Frutos, P.1996. Solvent and plasticizer influences on ethylcellulose-microcapsules. *J Microencapsul*, 13, 307-318.
- Pitaksuteepong, T., Davies, N.M., Tucker, L.G. and Rades, T.2002. Factors influencing the entrapment of hydrophilic compounds in nanocapsules prepared by interfacial polymerisation of water-in-oil microemulsions. *Eur J Pharm Biopharm*, 53, 335-342.
- Poshadri, A. et Kuna, A. 2010 « Technologie de microencapsulation : article de synthèse ». Centre de Recherche et de Poste Graduation, ANGER Université d'Agriculture, Hyderabad.

- Qnais, E. Y., Elokda, A. S., Abu Ghalyun, Y. Y. et Abdulla, F. A. 2007. Activité anti diarrhée de l'extrait aqueux de l'écorce de *Punica granatum* (Grenadier). *Biologie pharmaceutique*, VOL. 45, No. 9, pp. 715-720
- Rahul, N., Divya, S., Amit, G., Mohit, B., et Patel, H. 2014. L'activité anti inflammatoire de différentes fractions des extraits méthanoïque de l'écorce de *Punica granatum* avec leurs évaluation phytochimique. *Journal international de phytothérapie*, Vol4, Issue 3, 112-114, ISSN 2249-7730
- Raid, A. 2010. Protection des composés bioactifs hydrosolubles et liposolubles par encapsulation dans une émulsion multiple. Thèse de Doctorat, Université de Laval, Quebec.
- Richard, J., Benoit, J.P. 2000. Microencapsulation. *Techniques de l'Ingénieur*, J 2210, 1-20
- Ridley, B.L., O'Neill, M.A. , Mohen, D. 2001. Pectine : structure, biosynthèse et signalement relié aux oligogalacturonides. *Phytochemistry*, 57, 929-967.
- Rodrigues, S.N., Fernandes, I., Martins, I.M., Mata, V.G., Barreiro, F. 200. Microencapsulation de limonène pour des applications aux textiles. *Ind Eng Chem Res*, 47, 4142-4147.
- Rosenberg, M. and Sheu, T.Y. 1996. Microencapsulation of volatiles by spray-drying in whey-proteinbased wall system. *Int Dairy J*, 6, 273-284.
- Saravanan, M. and Panduranga Rao, K. 2010. Pectin–gelatin and alginate–gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: Influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical properties of microcapsules. *Carbohydr Polym*, 80, 808-816.
- Scher, H.B., Rodson, M. et Lee, K.S. 1998. Microencapsulation des pesticides par polymerization interfaciales ». utilizing isocyanate or aminoplast chemistry. *Pestic Sci*, 54, 394-400.
- Shahid, I., Saba, H., Mubeena, A., Muhammad, Z-U.H, Jamshed, A. 2008. Efficacité de l'extrait de l'écorce de Grenadier dans la stabilisation d'huile de Tournesol sous des conditions accélérées. *Recherche internationale des aliments* 41(2008)-194-200.
- Shahidi, F. and Han, X.Q. 1993. In Poshadri, A. and Aparna, K. Microencapsulation Technology : A Review. Nutriplus. *International Crops Research institute for semi-Arid Tropics, Hyderabad*, Post Graduate & Research Centre, ANGR Agricultural University, Hyderabad, 2010, 38, 89-102.
- Shaikh, J., Bhosale, R. and Singhal, R. 2006. Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food Chem*, 94, 105-110.
- Sharrif Moghaddasi, M. et Haddad Kashani, H. 2012. Composition chimique de la plante *Punica granatum L.*(Grenadier) et ses effets sur le cœur et le cancer ». *Journal de recherche des plantes médicinales*. Vol. 6(40), PP.5306-5310, ISSN 1996-0875
- Sidoummou, N. 2011. Caractérisation physicochimique et évaluation des activités biologiques du mélange (miel-écorce de grenade). Mémoire de Master, département de Biologie, FS, Université de Boumerdes
- Sugamori, M.E. and Sefton, M.V. 1989. Microencapsulation of pancreatic islets in a water insoluble polyacrylate. *ASAIO Trans*, 35, 791.

-
- Thakur, B.R., Rakesh, K.S., Handa, K.H. 1997. Chimie et utilisations de la pectine : article de synthèse. Articles de synthèse dans *Sciences des aliments et Nutrition*, 37(1), 47-73.
 - Theron, F. 2009. Conception et mise en œuvre d'un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation, Thèse de Doctorat en génie des procédés et de l'environnement, institut national polytechnique de toulouse.
 - Tuinier, R., Rolin, C. et Kruif, C.G. 2002. Électro sorption de la pectine sur les micelles de caséine ». *NIZO recherche des aliments*, Pays-Bas
 - Vandamme, T., Denis Poncelet, Pascale Subra-Paternault. 2007. La microencapsulation : des sciences aux technologies. Edition Lavoisier. 348p.
 - Wald, E. 2009. Le grenadier *Punica granatum*, plante historique et évolutions thérapeutique récentes. Thèse de Docteur en Pharmacie, Université Henrie Poincaré, Nancy1.
 - Wan, L.S.C., Heng, P.W.S., and Chia, C.G.H. 1991. Preparation of coated particles using a spray drying process with an aqueous system. *Int J Pharm*, 77, 183-191.
 - Weib, G., Knoch, A., Laicher, A., Stanislaus, F. and Daniels, R. 1995. Simple coacervation of hydroxypropyl methylcellulose phthalate (HPMCP) I. Temperature and pH dependency of coacervate formation. *Int J Pharm*, 124, 87-96.
 - Weinbreck, F., Minor, M. and Kruif, C.G. 2004. Microencapsulation of oils using whey protein/gum Arabic coacervates. *J Microencapsul*, 21, 667-679.
 - Wilson, N. et Shah, N.P. 2007. Microencapsulation des vitamines. Article de synthèse, Ecole des sciences moléculaires, Université de Victoria, Australie.
 - [www.wikipedia.org/wiki/Grenade \(fruit\).jpg](http://www.wikipedia.org/wiki/Grenade_(fruit).jpg)
 - Yu, D.G. and An, J.H. 2004. Titanium dioxide core/polymer shell hybrid composite particles prepared by two-step dispersion polymerization. *Colloid Surface*, 237, 87-93.
 - Yufera, M., Fernandez-Diaz, C. and Pascual, E. 2005. Food microparticles for larval fish prepared by internal gelation. *Aquaculture*, 248, 253-262.
 - Yuliani, S., Torley, P.J., D'Arcy, B., Nicholson, T. and Bhandari, B. 2006. Extrusion of mixtures of starch and D-limonene encapsulated with cyclodextrin: Flavour retention and physical properties. *Food Res Int*, 39, 318-331.
 - Zydwicz, N., Chaumont, P. and Soto-Portas, M.L. 2001. Formation of aqueous core polyamide microcapsules obtained via interfacial polycondensation: Optimization of the membrane formation through pH control. *J Membrane Sci*, 189, 41-58.
-



Dédicace

*A mes parents et ma famille,
A Karima, Samira et Nadia ainsi que toutes mes
amies,
A mon très cher binôme et sa famille
A mon futur mari
Je dédie ce modeste travail*

Fahima



Dédicace

*Je dédie ce travail à mes chers parents qui m'ont
encouragé.*

A mon frère Imad et ma sœur Imane

A ma douce sœur Sara pour son soutien

A ma très chère sœur et mon idole : Latifa

A mon très cher binôme Fahima

*A ma mère Lila et mes sœurs : Salima, Mounira,
Safa et Habiba*

A mes cousins : Hicham, Fadel, Amine et Racim

A mes deux princesses Racha et Merieme.

Hadjer

