



**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**UNIVERSITÉ LARBI BEN M'HIDI OUM EL BOUAGHI
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET LA VIE
DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET LA VIE**

N°d'ordre:.....

N°de série:.....

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3^{ème} cycle

Filière : Sciences biologiques

Option : Biotechnologie Microbienne

Thème

**Encapsulation d'une huile essentielle extraite de
Thymus vulgaris : Effet sur ses propriétés physico-
chimiques et biologiques**

Présentée Par : **CHAIB SAMIRA**

Devant le jury composé de :

Président	Dr. GRAMA Borhan Samir	U. Larbi Ben M'Hidi, Oum El Bouaghi
Directeur de thèse	Pr. ARHAB Rabah	U. Larbi Ben M'Hidi, Oum El Bouaghi.
Co-directeur de thèse	Dr. BEN ALI Nejib	ISET. Tunis
Examineurs	Dr. AOUF Abdelhakim	U. Ferhat Abbes, Sétif 1
	Dr. BENBOT Amel	U. Larbi Ben M'Hidi, Oum El Bouaghi

Année universitaire : 2020/2021

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

*Mes vifs remerciements vont à mon directeur de thèse **Mr. Rabah ARHAB** Professeur à l'Université d'Oum El Bouaghi qui m'a fait l'honneur et le plaisir de diriger ce travail. Vos conseils et vos encouragements m'ont permis de bien mener cette étude.*

*Je remercie également mon co-directeur de thèse, **Mr. Nejib BEN ALI** Docteur à l'Institut Supérieur d'Etude Technologique (ISET) GAFSA, (Tunis) qui a accepté de diriger ce travail de doctorat. Je vous remercie pour votre patience, votre disponibilité et vos conseils.*

*J'exprime toute ma gratitude à **Mr. Samir Borhan GRAMA** Docteur à l'Université d'Oum El Bouaghi pour avoir acceptée de présider ce jury.*

*J'adresse mes profonds remerciements à **Mr. Abdelhakim AOUF** Docteur à l'Université de Sétif, d'avoir accepté d'examiner ce travail, et pour le déplacement qu'il a fait et d'être membre du jury de cette thèse.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à **Mme. Amel BENBOT** Docteur à l'Université d'Oum El Bouaghi, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'être membre de mon jury de thèse.*

Mes plus profonds remerciements s'adressent aux ingénieurs de laboratoire ISET (Gafsa pour la confiance et leur aide), Je leur exprime toute ma reconnaissance et mon amitié.

Je remercie mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi, mes sœurs et frères pour leurs encouragements.

J'adresse toute ma gratitude à, mes ami(e)s, collègues (ingénieurs de laboratoire), enseignants et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à toutes et à tous

TABLE DES MATIERES

Remerciement

Liste d'abréviation

Liste de tableaux

Liste des figures

Introduction générale 01

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les huiles essentielles

1. Généralités sur les plantes médicinales.....	04
2. Etude botanique de la plante étudiée « <i>Thymus vulgaris</i> ».....	05
2.1 Le genre <i>Thymus</i>	05
2.2 Taxonomie.....	05
2.3 Noms vernaculaires.....	06
2.4 Habitat.....	06
2.5 Propriétés médicinales	06
3. Les huiles essentielles.....	06
3.1 Définition.....	06
3.2 Localisation et lieu de synthèse.....	07
3.3 Huile essentielle de thym et leur usage.....	07
3.3.1 Huile essentielle de thym.....	07
3.3.2 Usage	08
4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	08
5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	09
6. Composition chimique des huiles essentielles.....	10
6.1 Composés terpéniques.....	10
6.1.1 Monoterpènes.....	11
6.1.2 Sesquiterpènes.....	11
6.2 Composés aromatiques.....	11
6.3 Composés d'origine diverses	12
7 .Facteurs influençant la composition et le rendement des huiles essentielles.....	12
8 .Application des huiles essentielles.....	13

Chapitre 2 : Microencapsulation

1. Microencapsulation.....	15
1.1. Définition	15
1.2. Historique	15
2. Procédés d'encapsulation	15
2.1. Procédés chimiques	16
2.1.1. Polymérisation interfaciale	17
2.1.2. Polymérisation en milieu	18
2.2. Procédés mécaniques	18
2.2.1. Enrobage en lit fluidisé.....	18
2.2.2. Gélification ou congélation de gouttes.....	19
2.2.3. Atomisation	20
2.2.4. Extrusion	21
2.3. Procédés physico-chimiques	22
2.3.1. Gélification thermique	22
2.3.2. Evaporation-extraction de solvant	22
2.3.3. Coacervation	23
2.3.3.1. Coacervation simple.....	23
2.3.3.2. Coacervation complexe	24
3. Composition des microparticules	28
3.1. Matière active	28
3.2. Matière enrobante	28
3.2.1. Polymères synthétiques	28
3.2.2. Polysaccharides	28
3.2.3. Protéines	29
3.3. Additifs	32
4. Les interactions protéines – polysaccharides	32
4.1. Incompatibilité thermodynamique	32
4.2. Compatibilité thermodynamique	33
4.2.1. Co-solubilité	33
4.2.2. Séparation de phases associatives	33
5. Facteurs influençant la formation de complexe.....	34
5.1. pH.....	34

5.2.	Force ionique	35
5.3.	Charge des bio-polymères	35
5.4.	Ratio protéine polysaccharides	36
5.5.	Température	37
5.6.	Agitation	37
5.7.	Agent réticulant	38
6.	Caractérisation des microparticules.....	38
6.1.	Taille	38
6.2.	Structure interne.....	38
6.3.	Quantification de l'actif encapsulé.....	39
6.4.	Mode de libération des principes actifs	39
7.	Les applications de l'encapsulation	40

Chapitre 3 : Activités biologiques

1.	Activités anti-oxydantes des huiles essentielles pures et encapsulées	41
2.	Activités antimicrobiennes des huiles essentielles pures et encapsulées.....	42
2.1.	Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne	42
2.1.1.	Méthodes de diffusion	42
2.1.1.1.	Méthodes de diffusion par disque.....	42
2.1.1.2.	Méthodes des puits	43
2.1.2.	Méthode de dilution	43
2.1.2.1.	Dilution en bouillon	43
2.1.2.2.	Dilution en gélose	44
2.2.	Activités antimicrobienne liée à la composition chimiques des huiles essentielles.	44
3.	Autres activités biologiques.....	47

Matériels et méthodes

1.	Plante utilisée	48
2.	Extraction des huiles essentielles	48
3.	Préparation des microparticules.....	49
3.1	Produits chimiques.....	49
3.2	Processus d'encapsulation.....	51
3.2.1	Microencapsulation par coacervation complexe.....	51
3.2.2	Microencapsulation par émulsion directe.....	54
4.	Chromatographie phase gazeuse couplé de spectrométrie de masse (GC / MS).....	55

5. Caractérisation des microparticules	56
5.1 Rendement d'encapsulation.....	56
5.2 Efficacité d'encapsulation et libération d'huile.....	56
5.3 Analyse thermogravimétrique.....	56
5.4 Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	57
5.5 Microscopie optique et microscopie électronique à balayage (MEB).....	57
5.6 Cinétique de libération des huiles essentielles.....	58
6 Activités biologiques.....	58
6.1 Activité antioxydante.....	58
6.2 Activité antibactérienne des huiles essentielles	59
6.2.1 Souches bactériennes.....	59
6.2.2 Préparation des suspensions bactériennes.....	60
6.2.3 l'ensemencement	60
6.2.4 Technique d'aromatogramme	60
7 Analyse statistique	61

Résultats et discussion

1. Etude chimique des huiles essentielles.....	62
1.1 Rendement d'extraction.....	62
1.2 Composition chimique de l'huile essentielle de thym.....	62
2. La microencapsulation d'HET.....	65
2.1 La technique de coacervation complexe.....	65
2.1.1 Interaction entre gélatine et gomme arabique et formation du coacervat.....	65
2.1.2 Association des deux biopolymères.....	65
2.1.3 Refroidissement.....	66
2.1.4 Réticulation	66
2.2 La technique d'émulsion directe.....	67
3. Caractérisation des particules.....	68
3.1 Morphologie des microcapsules.....	68
3.1.1. Microscope optique.....	68
3.1.2. Analyse MEB des microparticules.....	71
4. Rendement et efficacité d'encapsulation.....	75
4.1 Rendement du processus d'encapsulation.....	75
4.2 Efficacité d'encapsulation.....	76

5. Evaluation FTIR des microcapsules produites.....	78
6. Analyse thermogravimétrique (TGA).....	80
7. Cinétique de libération	82
8. Evaluation des activités biologiques.....	84
8.1 Activité antioxydante.....	84
8.1.1 Détermination de l'activité antioxydante des huiles essentielles.....	84
8.1.2 Détermination de l'activité antioxydante des microcapsules.....	85
8.2 Activité antibactérienne.....	87
8.2.1 Détermination de L'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	87
8.2.2 Détermination de L'activité antibactérienne des microcapsules	90
Conclusion générale	96
Références bibliographiques	97
Annexes	
Résumés	

Liste d'abréviation

ATCC	American Type Collection Culture
CG.MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
DO	Densité optique
DPPH	1,1- Diphényl-2-picryl-hydrazyle
FTIR	La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
GAr	Gomme arabique
GE	Gélatine
HE	Huile essentielle
HE.CC	Huile essentielle extraite des capsules de coacervation complexe
HE.ED	Huile essentielle extraite des capsules d'émulsion directe
HET	Huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>
HETE	Huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> encapsulée
HETN	Huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> non encapsulée
IR	Indice de rétention
Rdt	Rendement
Rpm	Rotations par minute
TGA	Analyse thermogravimétrique
<i>T. vulgaris</i>	<i>Thymus vulgaris</i>

Liste des Tableaux

Tableau	page
Tableau 1. Quelque Procédés de microencapsulation	16
Tableau 2 : Procédés d'encapsulation et leurs propriétés	26
Tableau 3 : Exemples d'utilisation des polymères, polysaccharides et protéines comme matière enrobante en microencapsulation.	30
Tableau 4 : Quelques additif sutilisés dans la microencapsulation	32
Tableau 5 : Domaine d'application d'encapsulation	40
Tableau 6 : Activité antioxydante des huiles essentielles brutes et encapsulées	42
Tableau 7 : Différents effets des composants des HEs	45
Tableau 8 : Activité antimicrobienne des HEs brutes et encapsulées	46
Tableau 9 : Coacervation complexe par gélatine (GE)/gomme Arabique (GAR) avec différentes concentrations	54
Tableau 10 : Emulsion directe avec différentes concentrations de gélatine	54
Tableau11 : La composition chimique d'HET pure, HEs des microparticules et des composés non encapsulés (phase liquide)	64
Tableau 12 : Efficacité et rendement d'encapsulation par les deux méthodes	76
Tableau 13 : Activité antioxydante d'HET pure et extraite des capsules obtenues par les deux méthodes	84
Tableau 14 : Activité antioxydante des capsules d'HET obtenues par les deux méthodes	86
Tableau 15: Activité antibactérienne d'HET pure et extraite des capsules obtenues par les deux méthodes	87
Tableau 16 : Activité antibactérienne des capsules obtenues par les deux méthodes	90
Tableau 17 : Activité antibactérienne des contrôles des capsules obtenues par les deux méthodes	91

Listes des Figures

Figure	page
Figure 1 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	10
Figure 2 : Microencapsulation par Polymérisation interfaciale (Janssen et Te Nijenhuis, 1992)	17
Figure 3 : Principe du procédé de microencapsulation par polymérisation en milieu dispersé : (a) solution de polymères contienne une matière active dispersée, (b) formation des oligomeres, (c) obtention de microcapsule (Nesterenko, 2012).	18
Figure 4 : Microencapsulation par méthode d'enrobage en lit fluidisé : (a) matière active fluidisée, (b) matière enrobante pulvérisée(c) formation des microparticules (Madene et al., 2006; Nesterenko, 2012)	19
Figure 5 : Schéma du procédé d'atomisation (spray-drying) (Robin, 2012)	21
Figure 6 : Microencapsulation par évaporation du solvant : (1) solution organique de polymère contienne la matière active dispersée, (2) mise en de la phase organique émulsifiée dans la phase aqueuse, (3) évaporation du solvant organique de la phase dispersée, (4) formation d'enrobage de polymère et formation des microparticules (Singh et al., 2014).	23
Figure 7 : Schéma de principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe (a) La dispersion de la matière active dans la solution de polymère (protéine/polysaccharide), (b) et (c) formation d'enrobage et (d) réticulation (Richard et Benoit, 2000).	25
Figure 8 . Schéma représente le mode d' interaction possible entre les polysaccharides et les protéines (Ghosh et Bandyopadhyay, 2012)	34
Figure 9 : Photographies obtenues par microscopie électronique à balayage représentant : A :microsphère dans laquelle le principe actif est dispersé dans le matériau enrobant (Yang et al., 2001) ; B. microcapsule (Sanna et al., 2015).	38
Figure 10 : Modes de libération d'un principe actif	39
Figure 11 : La plante de <i>Thymus vulgaris</i>	48
Figure 12 : Montage de Clevenger	49
Figure 13 :Représentation chimique de la structure de gélatine (EL Zoghbie, 2013)	50
Figure 14 : La structure de la gomme arabique (Dauqan & Abdullah, 2013)	51
Figure 15 : Procédé d'encapsulation par coacervation complexe	52
Figure 16 : Différentes étapes d'encapsulation d'HET par coacervation complexe	53
Figure 17 : Procédé d'encapsulation par émulsion directe	55
Figure 18 : La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	57
Figure 19 : Microscopie électronique à balayage (MEB)	58
Figure 20 : Spectrophotomètre	59
Figure 21 : Réalisation d'antibiogramme et incubation des boîtes de pétrie dans l'étuve	61
Figure 22 : Les différentes classes terpéniques d'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	63

Figure 23 : coacervat complexe formé par gélatine (cation) et gomme arabique (anion) (De Oliveira <i>et al.</i> , 2019)	66
Figure 24 : Mécanisme de réticulation/durcissement du coacervat encapsulant une huile essentielle en utilisant un agent réticulant (Muhoza <i>et al.</i> , 2020).	67
Figure 25 : Photographies de microscope optique des microcapsules obtenues par coacervation complexe	70
Figure 26 : Photographies de microscope optique des microcapsules obtenues par émulsion directe	71
Figure 27 : Photos du MEB des particules obtenues par coacervation complexe	75
Figure 28 : Photos du MEB des particules obtenues par émulsion directe	75
Figure 29 : Spectres FTIR de (a) HET, (b) contrôle (polymères GE : GAr), (c) microcapsules de coacervation complexes et (d) microcapsules à émulsion directe	79
Figure 30 : Thermogrammes comparatifs pour d'HET, les microcapsules, polymères	81
Figure 31 : Cinétique de libération à partir de microcapsules préparées par des procédures complexes de coacervation et d'émulsion	83
Figure 32 : Pourcentage de piégeage des radicaux libre par l'HET pure et extraite des capsules	85
Figure 33 : Pourcentage de piégeage des radicaux libre par des capsules d'HET	86
Figure 34 : zone d'inhibition d'HET pure et extraite des capsules sur les bactéries : <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	88
Figure 35 : Activité antibactérienne d'HET pure et extraite des capsules sur <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	89
Figure 36 : zone d'inhibition des capsules sur les bacteris : <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	91
Figure 37 : Activité antibactérienne de contrôle (polymères sans huile essentielle) des deux méthodes	92
Figure 38 : Activité antibactérienne des capsules obtenues par coacervation complexe sur <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93
Figure 39 : Activité antibactérienne des capsules obtenues par émulsion directe sur <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	94
Figure 40 : Diffusion d'huile essentielle (Muhoza <i>et al.</i> , 2020)	95

Introduction générale

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme de se nourrir, se vêtir, se chauffer et se parfumer. L'utilisation des plantes dans les soins et la prévention des affections est connue depuis l'antiquité. Cette pratique est à l'origine de ce que l'on appelle aujourd'hui la phytothérapie et l'aromathérapie (**Bruneton, 1999**). En effet, les plantes représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elle contient : alcaloïdes, flavonoïdes, hétérosides, saponines, quinones, vitamines et huiles essentielles (HEs) etc... (**Sallé, 1991**). Ces substances bioactives, synthétisées à partir de métabolites secondaires des plantes médicinales, suscitent de plus en plus l'intérêt des chimistes, biologistes et médecins. Elles font partie de la pharmacie verte grâce à leurs propriétés biologiques prouvées : antimicrobienne, antioxydante, analgésique, anti-inflammatoire, anti-cancérogène, antiparasitaire, insecticide (**Bakkali et al., 2008; Murbach Teles Andrade et al., 2014**). En outre, leur usage dans de multiples et diverses industries (agroalimentaire, cosmétique, parfumerie) commence à connaître un grand essor (**Burt, 2004; Da Cruz Cabral et al., 2013**).

L'encapsulation est une technique permettant d'emprisonner des liquides ou des solides dans une enveloppe qui les isole dans le but de les protéger de l'environnement extérieur, ou de maîtriser leur libération dans un environnement choisi.

L'élaboration de systèmes d'encapsulation permet de protéger les substances actives à la fois contre la dégradation physique (précipitation, cristallisation), la dégradation chimique (oxydation) induite par l'exposition à l'oxygène, la lumière, l'humidité, la température ou les changements de force ionique ou de contrôler leur libération dans des conditions souhaitées. Dans ce but, différents procédés chimiques (coacervation, co-cristallisation, inclusion moléculaire, polymérisation interfaciale) et mécaniques (atomisation, atomisation à froid, extrusion, séchage en lit fluidisé) d'encapsulation ont été décrits.

La résistance des microorganismes aux différentes classes d'antibiotiques est devenue une préoccupation majeure des politiques et de la communauté sanitaire et scientifique qui cherche continuellement à trouver des produits naturels comme alternative aux antibiotiques. Les huiles essentielles peuvent apporter une réponse à ce problème. Toutefois, leur faible solubilité dans l'eau, leur sensibilité à l'oxydation et à la lumière et leur volatilité ont constitué de vrais obstacles pour leur développement industriel (**Turek et Stintzing, 2013**). C'est ainsi que des systèmes d'encapsulation sont utilisés pour préserver ces molécules et permettre leur libération continue et contrôlée. Les défis techniques des systèmes d'encapsulation restent à résoudre dans

l'avenir concernant principalement le fait que *i*) la plupart des systèmes de libération disponibles ne permettent pas encore de stabiliser considérablement les principes actifs contre la dégradation, *ii*) les capacités d'encapsulation (solubilisation) de certains systèmes sont encore faibles et *iii*) les cinétiques de libération des principes actifs sont rapides. Pour cela, différents systèmes d'encapsulation ont été élaborés :

- les liposomes dont la membrane est constituée d'une bicouche de phospholipides,
- les microsphères qui sont des particules constituées d'un réseau de macromolécules dans lequel est piégée la substance active sous forme de molécules, de particules solides micrométriques ou de fines gouttelettes de solution,
- les microcapsules qui sont des particules creuses entourées d'une paroi plus ou moins rigide. Ces particules servent de réservoir pour les substances à encapsuler
- et l'encapsulation moléculaire (cyclodextrines, maltodextrines) dans laquelle la substance est encapsulée dans une cavité hydrophobe.

La microencapsulation par coacervation complexe est choisie pour cette étude. C'est une technique efficace utilisée pour l'encapsulation en raison de la charge élevée du noyau à l'intérieur des particules et les conditions douces utilisées pour les produire, comme l'absence de solvants organiques, l'utilisation de biopolymères naturels. La porosité de ces particules peut être modifiée pour obtenir une libération prolongée par l'incorporation d'agents de réticulation (**Hernández-Muñoz et al., 2004**). Cette méthode est basée sur l'utilisation d'un ou plusieurs hydrocolloïdes. Elle implique des interactions entre deux biopolymères de charges opposés tel que la protéine (gélatine) et un polysaccharide (gomme arabique). Ainsi autre méthode l'émulsion directe à été développée pour la première fois en utilisant un seul biopolymère qui est la gélatine.

Dans cette optique, ce projet de thèse a pour but d'investiguer deux techniques permettant l'immobilisation des huiles essentielles. Il s'agit d'une encapsulation classique par la méthode de coacervation complexe et une encapsulation par une émulsion directe. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L., particulièrement riche en thymol, est choisie comme modèle dans cette étude. Cette plante présente un intérêt particulier pour ses activités biologiques avérées ; Ses composés phénoliques comprennent le thymol et le carvacrol qui sont de puissants agents antimicrobien (**Batish et al., 2008; Stott et al., 1996**) et antifongique (**Devi et al., 2012**). Ils sont doués également d'un potentiel antioxydant considérable (**Hosseini et al., 2013; Martins, 2012**). Ainsi dans ce projet de thèse, nous proposons de développer un système d'encapsulation d'huiles essentielles par coacervation et émulsion (nouveau procédé) en élucidant les principales étapes suivantes :

- extraction de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par hydrodistillation et détermination de leur composition par CPG-MS,
- encapsulation de l'huile essentielle par deux méthodes d'encapsulation : coacervation et émulsion directe,
- caractérisation des capsules (taille, structure interne, quantification du principe actif encapsulé)
- et étude de l'effet de la complexation sur les propriétés biologiques des composés : activités antioxydantes des composés libres ou encapsulés, mesure des activités antimicrobiennes sur différentes souches de bactéries.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur les huiles essentielles

1. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur. Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, leur action provient de leur composition chimique (métabolites primaires ou secondaires) ou des synergies entre les différents composés présents (**Sanogo, 2006**). Elles sont utilisées indépendamment ou en combinaison avec des médicaments synthétiques. Pour une thérapie adéquate et appliquée avec succès, il est important de connaître l'effet pharmacologique de leurs composants.

Les plantes médicinales sont riches en molécules actives d'intérêt multiple mis à profit dans plusieurs domaines. Les grands types d'usage par l'homme sont cosmétiques (adouçissantes, cicatrisantes, capillaires, pigmentaires), alimentaires, industriels (fibres textiles, insecticides) et médicinales (**Petrovska, 2012**).

L'Algérie, pays très riche dans sa biodiversité florale, la médecine traditionnelle y a sa place malgré l'absence de complémentarité de la phytothérapie à la médecine. Botanistes, phytochimistes, pharmacologues et médecins sont appelés à conjuguer leurs connaissances scientifiques pour que la phytothérapie soit une discipline thérapeutique officielle comme c'est le cas dans plusieurs pays comme la Chine, la Turquie, etc.... (**Kabouche et al., 2005**).

Parmi les espèces végétales (800 000 à 1 500 000 selon les botanistes) 10 % seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique par l'intermédiaire de poils, poches ou canaux sécréteurs. Les genres capables d'élaborer les constituants des huiles essentielles sont répartis dans un nombre de familles limité; *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Zingiberaceae* et *Piperaceae* (**Bruneton, 1999**).

Un très grand nombre de genres de la famille *Lamiaceae* sont riches en huiles essentielles, ce qui leur confère une importance économique et thérapeutique mais aussi, en composés phénoliques, tannins, flavonoïdes, iridoïdes glycolysés, quinones, coumarines, terpénoïdes, saponines et dans certains cas, des pyridines et des alcaloïdes pyrrolidiniques (**Naghbi et al., 2005**). Ils sont également très utilisés dans le domaine culinaire, de la parfumerie et de la cosmétique. Parmi ceux les plus cités dans la littérature : *Salvia*, *Mentha*, *Origanum*, *Thymus*, *Rosmarinus*, *Ocimum* et *Lavandula*..

2. Etude botanique de la plante étudiée « *Thymus vulgaris* »

Le thym est représenté par plus de 300 espèces à travers le monde dont 12 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques (Quézel et Santa, 1962). Ces espèces sont réparties le long du territoire national, du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais (Kabouche *et al.*, 2005).

2.1 Le genre *Thymus*

Le genre *Thymus* appartient à la tribu *Menthae* et à la sous-famille *Nepetoideae* (Morales, 2002). Il se divise selon (Jalas, 1971) en huit sections : *Micantes*, *Mastichina*, *Piperella*, *Teucrioides*, *Pseudothymbra*, *Thymus*, *Hyphodromi* et *Serpyllum*. Il représente l'un des huit genres les plus importants en ce qui concerne le nombre d'espèces incluses dans la famille *Lamiaceae*, regroupant entre 250 et 350 taxons de plantes sauvages répartis dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère nord mais qui sont particulièrement fréquents dans la région méditerranéenne qui semble être le centre de ce genre (Crespo *et al.*, 1991).

T. vulgaris est une plante aromatique à tiges ramifiées de la famille des *labiatae*, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes (Yakhlef, 2010).

Pendant des siècles, les espèces du genre *Thymus* ont été utilisées couramment dans plusieurs pays comme épices (Ismaili *et al.*, 2004), selon (Chun *et al.*, 2001) les feuilles de *T. vulgaris* sont utilisées comme un thé et comme épices dans les recettes occidentales pour améliorer le goût des plats et comme aromatisant distinct.

2.2 Taxonomie

La situation botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* L. est donnée ci-dessous (Goetz et Ghedira, 2012).

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta

Sous-embranchement : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus vulgaris* L.

2.3 Noms vernaculaires

Thym vulgaire, thym des jardins, farigoule, férigoule, barigoule, thym commun, thym cultivé et saatar ou zaatar (en arabe صعتر ou زعتر) (Teuscher *et al.*, 2005).

2.4 Habitat

T. vulgaris est une plante typique des garrigues, qui s'accommode particulièrement des zones calcaires et rocailleuses (Pitman, 2004; Polese, 2006). Elle préfère les sols légers, perméables, secs ou bien drainés, légèrement alcalins, constamment ensoleillés et quelque peu riches en matières organiques et en éléments minéraux fertilisants. Elle ne survit pas longtemps dans un sol lourd et détrempé. Sa croissance tolère un pH allant de 4.5 à 8.0 et est possible dans n'importe quel climat ayant une température annuelle moyenne de 7 à 20°C.

2.5 Propriétés médicinales

Le Thym est excellent contre plusieurs maladies y compris la bronchite, la pleurésie, les déficiences nerveuses, l'hypotension, la chlorose, les infections pulmonaires, la tuberculose et l'asthme. On s'en sert aussi pour traiter les parasites intestinaux et les infections urinaires (Jiménez-Arellanes *et al.*, 2006). Pour cela nous pouvons prendre du Thym comme condiment dans nos potages, ou le prendre en infusion constituée d'une branche de Thym, comme nous pouvons prendre de 3 à 5 gouttes en solution alcoolique ou dans du miel (Isérin *et al.*, 2001).

3 Les huiles essentielles

3.1 Définition

Les plantes aromatiques médicinales (PAM) contiennent des molécules à haute valeur, parmi lesquelles on trouve des composés ayant une activité olfactive. Ils représentent ce que l'on appelle les huiles essentielles (HE) et sont très convoités par les industries pharmaceutiques et cosmétiques (Boukhatem *et al.*, 2010). Selon la norme française NF T 75-006 (AFNOR, 1980) : « l'HE est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation «sèche». L'HE est ensuite séparé de la phase aqueuse

par des procédés physiques». Ces composées volatiles sont très solubles dans les graisses d'où le terme « huiles » soulignant le caractère visqueux et hydrophobe de ces substrats. Cependant, le terme « essentielle » signifie la caractéristique principale de la plante à travers ces exhalations. Et contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, l'huile essentielle ne contient pas de corps gras comme l'huile végétale (**Anton et al., 2005**).

La concentration dans les plantes est en général faible, aux alentours de 1 à 2% voire moins, mais il y a des exceptions comme le clou de girofle avec 15% d'huile essentielle ou la noix de muscade, 5-15%. Parmi les familles végétales les plus productrices d'huiles essentielles, on distingue les labiateae (famille du thym, de la lavande, de la menthe, du basilic), les asteraceae (camomille, absinthe), les myrtaceae (eucalyptus, melaleuca, myrte, girofle), les lauraceae (cannelle, laurier). Beaucoup de végétaux contiennent des huiles essentielles ou des substances voisines mais en pratique peu d'espèces sont utilisées (**Hurtel, 2006**).

3.2 Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles, dans des poils sécréteurs, dans des poches sécrétrices ou dans des canaux sécréteurs (**Boz et al., 2009; Bruneton, 1999; Hazzit, 2002**). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs, les feuilles, les racines, les rhizomes, les fruits, le bois et/ou les graines (**Anton et al., 2005**).

3.3 Huile essentielle de thym et leur usage

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Cimanga et al., 2002; Cowan, 1999; Lamiri et al., 2001; Paster et al., 1990**).

3.3.1 Huile essentielle de thym

Les huiles essentielles de thym sont largement utilisées comme agents antiseptiques dans plusieurs domaines pharmaceutiques et comme aromatisants pour de nombreux types de produits alimentaires (**Papageorgiou, 1980**). Le thym est consommé en tisane, condiment ou épice, en raison de ses nombreuses propriétés ethnomédicinales, il est utilisé comme stimulant, antiseptique, sédatif, stomachique, antitussif, antispasmodique, antimicrobien, antioxydant, anti-

inflammatoire, antiviral, diaphorétique et diurétique (**Razzaghi-Abyaneh et Rai, 2013**).

Le genre *Thymus* englobe de nombreuses espèces et variétés et la composition chimique de leurs huiles essentielles a été étudiée depuis longtemps (**Baser et al., 1992, 1998; Guillén et Manzanos, 1998; Ložiene et Venskutonis, 2006; Sáez, 1998; Tümen et al., 1998; Vila et al., 1995**). Les huiles essentielles de plusieurs espèces de thym ont déjà prouvé leurs propriétés antibactériennes et antifongiques (**Agnihotri et Vaidya, 1996; Benjlali et al, 1987; Pellecuer et al., 1980**). Il est donc important d'orienter les recherches vers des nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours servi de base à des nouveaux médicaments (**Oussou et al., 2010**).

T.vulgaris est une des plantes aromatiques les plus populaires utilisées dans le monde entier, ces applications sont très vastes et touchent particulièrement le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (**Adwan et al., 2006**). Son huile essentielle est exploitée en aromathérapie et dans les industries alimentaires et cosmétiques. Cette plante également entre dans les formulations de divers produits pharmaceutiques comme les pommades antiseptiques et cicatrisantes, les émulsions, ainsi que, les gouttes, les sirops, les élixirs ou les gélules pour le traitement des affections des voies respiratoires ainsi que des préparations pour inhalation (**Tiwari et Tandon, 2004; Zarzuelo et Crespo, 2002**).

3.3.2 Usage

- En **usage interne**, les parties aériennes sont utilisées en décoction ou en infusion dans le traitement de la dyspepsie et autres troubles gastro-intestinaux, de la toux, des irritations de l'appareil respiratoire et des rhumes mais aussi, des infections des voies urinaires (**Polese, 2006**).
- En **usage externe**, elles traitent les affections liées à l'inflammation telles que les rhumatismes, les gonflements musculaires, les piqûres d'insectes et les douleurs (**Namsa et al., 2009**). Elles peuvent s'employer en gargarismes, inhalations, bains de bouche et comme additif de bain pour stimuler la circulation sanguine soulageant de ce fait, la dépression nerveuse (**Özcan et Chalchat, 2004**).

4 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire. Elles possèdent en commun un certain nombre de propriété (**Bruneton, 1999; Lemberg, 1982**).

- Elles sont solubles dans : l'alcool, l'éther, le chloroforme, et dans la pluparts des solvants organiques.
- La densité est généralement inférieure à celle de l'eau.
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation.
- Elles sont liquides à température ambiante.
- Elles sont incolores ou de couleur jaune pale.
- Elles sont odorantes ,volatiles ce qui les différencie des huiles fixes (**Roux et Catier, 2007**).
- Elles sont très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs (**Solène, 2012**).

5 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales (**Sallé, 2004**) parmi les : entraînement à la vapeur d'eau, expression à froid, par solvants organiques, CO₂ supercritique, ultrasons, micro-onde ainsi que la méthode la plus utilisée est l'extraction par hydrodistillation. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins,..), du rendement en huile et de la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (**Crespo et al., 1991; Hellal, 2011**).

❖ Extraction par hydro distillation

Le principe de l'hydrodistillation consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau (aujourd'hui remplacé par un Clevenger), que l'on porte ensuite à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques avec la vapeur d'eau sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Cette méthode est simple dans son principe et son appareillage n'est pas couteux (**Lucchesi, 2005**).

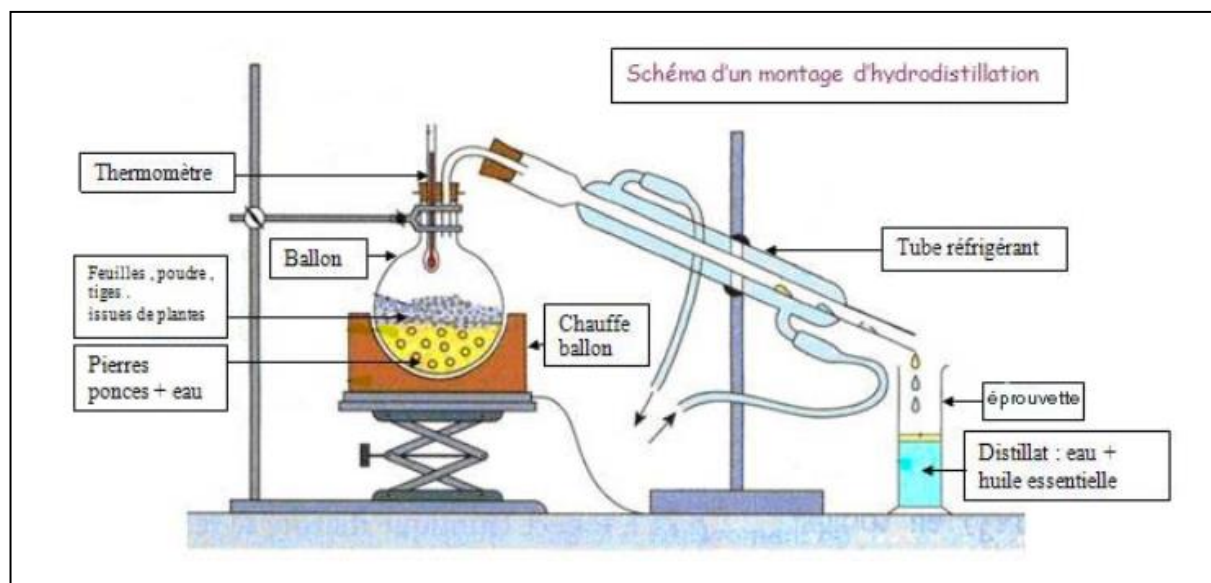


Figure 1. Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation

6 Composition chimique des huiles essentielles

La composition des huiles essentielles est très complexe, ce sont des mélanges fortement variables et analysables, ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par les origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Benayad, 2008; Guinoiseau, 2010).

6.1 Composés terpéniques

❖ D'après (Couic-Marinier et Lobstein, 2013), Ils sont classés selon :

- Leurs fonctions : alcools (Géraniol, Linalol), esters (Acétate de linalyle), aldéhydes (Citral, citronellal), cétones (Menthone, Camphre, Thuyone), éthers-oxydes (Cinéole).
- Leur structure : linéaire (Farnésène, Farnésol) ou cyclique ; monocyclique (Humulène, Zingiberène), bicyclique (Cadinène, Caryophyllène, Chamazulène) ou tricyclique (Cubébol, Patchoulol, Viridiflorol).

❖ Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en **monoterpènes** formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), **les sesquiterpènes**, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$), **les diterpènes**, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$). **Les tetraterpènes** sont constitués de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. **Les polyterpènes** ont pour formule

générale : $(C_5H_8)_n$ ou n peut être de 9 à 30. Les **terpénoïdes** sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhydes, cétone, acide).

6.1.1 Les monoterpènes

Les monoterpènes sont constitués par le couplage de deux unités isopréniques ($C_{10}H_{16}$), sont volatils entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des huiles essentielles, parfois plus de 90 % (**Bakkali et al., 2008**). Avec une grande diversité de structures, ils comportent plusieurs fonctions (**Lakhdar, 2015**) :

✓ Carbure : Acyclique: « Myrcene, Ocimene.. », Monocyclique: « Terpinenes, *p*-cimene, phellandrenes..», Bicyclique: « Pinenes, Camphene, Sabinene.. ». Il est à signaler qu'à ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique.

✓ Alcools : Acyclique : « Geraniol, Linalol, Citronello, Lavandulol, Nerol.. », Monocyclique : « Menthol, α -terpineol, Carveol.. », Bicyclique: « Borneol, Fenchol, Chrysanthenol, Thuyon-3-ol ».

✓ Aldéhydes : Acyclique: « Geranial, Neral, Citronellal.. ».

✓ Cétones : Acyclique: « Tegetone », Monocyclique: « Menthone, Carvone, Pulegone, Piperitone », Bicyclique: « Camphor, Fenchone, Thuyone, Ombellulone, Pinocamphone, Pinocarvone... ».

✓ Esters: Acyclique: Linalyl acetate ou Propionate, Citronellyl acetate, etc., Monocyclique: Menthyl or α -terpinyl acetate, etc..., Bicyclique: isobornyl acetate, etc...

✓ Ethers: « 1,8-cineole, Menthofurane... ».

✓ Peroxydes: ex : « Ascaridole », etc.

✓ Phénols: ex : « Thymol », « Carvacrol », ...

6.1.2. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes contiennent 15 atomes de carbone. Ils sont moins volatils et présentent des points d'ébullition plus élevés que les monoterpènes (**Baser et Buchbauer, 2015**). Ce sont des dérivés hydrocarbures de formule C_{15} . Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurelles, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. La structure et la fonction des sesquiterpènes sont semblables à celles des monoterpènes (**Bakkali et al., 2008**).

6.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont moins fréquents dans les HEs que les monoterpènes et sesquiterpènes. Les lactones dérivées des acides cinnamiques, comme les

coumarines, sont pour la plupart, entraînaibles par la vapeur d'eau et ainsi présentes dans certaines HEs (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**). Ils sont également intéressants sur le plan olfactif. Par exemple, l'eugénol est responsable de l'odeur caractéristique du clou de girofle, l'anéthol de celle de l'anis, le cinnamate de méthyle et le méthylchavicol permettent de distinguer des chémotypes intéressants au sein de l'espèce d'*Ocimum basilicum* (**Bruneton, 1999**).

6.3. Composés d'origine diverses

Il s'agit de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles (composés issus de la dégradation des autres composés). Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits (**Bruneton, 1999**).

7. Facteurs influençant la composition et le rendement des huiles essentielles

Etant formées de mélanges généralement complexes, les HEs présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au leur rendement. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des HEs peuvent être très différentes (**Garnero, 1991**). Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante :

a) L'espèce botanique : Toutes les plantes ne sont pas aromatiques et même quand elles le sont, les constituants sont variables tant dans leur nature que dans leurs proportions (**Sangwan et al., 2001**).

b) Le cycle végétatif : pour une espèce donnée, la proportion des constituants d'une HE peut varier tout au long du développement de la plante. Le rendement est généralement optimal juste avant la floraison car après, la plante perd environ 70 % de son HE (**Masotti et al., 2003**).

d) La période de récolte : dans le cas de la fleur de jasmin, la teneur en HE est plus élevée et l'arôme est plus riche au coucher de soleil. Les fleurs d'ylangylang donnent un meilleur rendement en HE en mai et juin, bien qu'elles s'épanouissent toute au long de l'année (**Angioni et al., 2006; Baydar et al., 2005; Weyerstahl et al., 1992**)

e) **L'organe végétal** : citons le cas du *Curcuma longa* où l'huile essentielle de rhizomes contient des curcumines que l'on ne retrouve pas dans les feuilles (**Angioni et al., 2006; Masotti et al., 2003**).

f) **Les facteurs extrinsèques** : les facteurs de l'environnement comme l'humidité relative de l'air, la température, la durée de l'insolation, l'altitude et autres influent directement sur la proportion des différents constituants d'une HE, surtout chez les espèces dont les structures sécrétrices sont superficielles (Cas des poils sécréteurs des lamiacées), les conditions de culture (nature du sol, apport en engrais...), d'autres facteurs tels que les traitements préliminaires (conditions de transport, durée de séchage et de stockage du matériel végétal...) peuvent engendrer une grande variabilité de la composition d'une huile essentielle, suite à des dégradations enzymatiques (**Besombes, 2008; Selles, 2012**).

g) **Le chémotype** : Le chémotype d'une HE est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'HE. C'est l'élément qui permet de distinguer de H.E extraite d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les HEs pour une utilisation plus précise, et plus efficace. Le Thym présente, par exemple, 7 chémotypes différents : cinéol, géraniol, linalol, terpinéol, thuyanol, thymol et carvacrol. Chacune de ces molécules a leurs propres propriétés qui peuvent parfois être antagonistes entre elles. Ceci implique l'importance de classer les HEs avec leurs chémotypes pour une utilisation plus sûre et efficace (**Bonnafous, 2013**). Il est important de noter que les HEs à chémotype différent présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables. Cette classification dépend des facteurs liés directement aux conditions de vie spécifiques de la plante à savoir le pays, le climat, le sol et la période de récolte qui peuvent influencer la composition de l'huile essentielle (**Zhiri et Baudoux, 2005**).

8. Application des huiles essentielles

Il existe une grande variété d'HEs connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des HEs qui leur confère aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes, mais aussi, les différentes utilisations possibles et leur coût de production. Ces caractéristiques offrent des débouchés

importants dans de nombreux domaines industriels, que ce soit dans l'industrie cosmétique, les secteurs de la santé, de l'agro-alimentaire ou de l'agriculture (**Fillatre, 2011**).

➤ **Parfums et cosmétiques**

Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les HEs sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit (**Aburjai et Natsheh, 2003**). La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, qui utilisent les isolats (isomères des substances pures isolées des HEs exemple : citronellal, linalol, comme matières premières pour la synthèse des substances odorantes (**Bruneton, 1999**).

➤ **Santé**

Les HEs sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques, ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques pour guérir, atténuer ou prévenir les maladies et les infections, notamment les infections respiratoires (**Buchbauer et Jirovetz, 1994**). En pharmacie, les HEs sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses administrées par voie orale (**Bruneton, 1999**). **Tisserand et Balacs, (1995)** indiquent que les HEs sont utilisées pour traiter certaines maladies externes par leur application sur la peau au travers de massages.

➤ **Agro-alimentaire**

Actuellement, les HEs ou leurs composés actifs, représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires, tout en assurant une meilleure qualité organoleptique, en rehaussant le goût des aliments (**Caillet et Lacroix, 2007; Tiwari et al., 2009**). Ainsi, Les HEs ont également des propriétés fongicides et très efficaces contre les moisissures responsables de la détérioration des denrées alimentaires lors de leurs stockages (**Mejlholm et Dalgaard, 2002**). Les HEs extraites des feuilles des plantes aromatiques ont également révélé des propriétés insecticides très intéressantes contre une grande variété d'insectes ravageurs des stocks des denrées alimentaires (**Kellouche, 2005; Tapondjou et al., 2003**).

➤ **Agriculture**

La volonté de réduire l'utilisation des pesticides de synthèse dans l'agriculture moderne en faveur de l'écologie, du développement et de l'aménagement durables. Dans ce contexte environnemental, les pesticides naturels basés notamment sur les HEs, représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (**Dayan et al., 2009; Isman, 2000**).

Chapitre 2

Microencapsulation

1. Microencapsulation

1.1 Définition

L'encapsulation se définit comme le procédé par lequel on emprisonne des principes actifs qui peuvent se présenter sous la forme de fines particules de solide divisé, d'un liquide, ou encore d'un composé gazeux (Boh et Šumiga, 2008). Cette technique permet d'obtenir des produits à haute valeur, soit des nanoparticules (1 à 1000 nm) soit des microcapsules (1 à 1000 µm) (Augustin et Hemar, 2009), ces derniers peuvent contenir des composés d'origines variées : additifs alimentaires (Wang *et al.*, 2014), arômes (Leclercq *et al.*, 2009), catalyseurs de réactions chimiques, alors que les matériaux enrobants sont des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des lipides (Benoit et Richard, 2013). L'encapsulation permet de transformer un liquide en un solide, de masquer une odeur ou un goût désagréable, de protéger des substances sensibles des effets délétères de l'environnement extérieur (protection de la matière encapsulée contre l'oxydation ou des effets de milieu ambiant tels que la chaleur, l'humidité ou le pH), ainsi que d'obtenir une libération contrôlée et ciblée des principes actifs (Gouin, 2004).

1.2 Historique

Cette technique a été développée pour la première fois dans les années 1950 pour la fabrication du papier autocopiant permettant la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression. Ce produit contient des microparticules de colorant réalisées par coacervation complexe entre la gélatine et la gomme arabique qui se brisent sous l'effet de la pression d'une tête d'imprimante ou d'un stylo. A la fin des années cinquante la technologie de la microencapsulation fut utilisée dans le domaine pharmaceutique pour les médicaments analgésiques à libération prolongée, ainsi que pour d'autres applications industrielles telles que les colles (Vandamme *et al.*, 2007). Dans les années 1960, l'encapsulation de cristaux liquides par la gélatine et la gomme d'acacia utilisés dans la production de matériaux pour écrans thermosensibles a été décrite par (Ferguson, 1964). Cette méthode a permis le développement des écrans pour les structures aérospatiales. Au cours des dernières années, la microencapsulation a reçu une attention croissante dans divers domaines de la recherche fondamentale.

2. Procédés d'encapsulation

Plusieurs techniques permettant l'encapsulation de principes actifs sont disponibles donnant lieu à la formation des capsules de grandeurs et de formes variées suivant la technique mise en œuvre (Vandamme *et al.*, 2007). Toutefois chaque technique correspond un intervalle de taille ainsi qu'un taux d'encapsulation et une structure interne différente, ainsi il n'existe pas une

méthode d'encapsulation adaptée à toutes les molécules à encapsuler (**Wilson et Shah, 2007**). Le choix d'une technique se fera en fonction de la nature du matériau à encapsuler, aux caractéristiques désirées du produit fini et de l'application envisagée (**Poshadri et Aparna, 2010**). Selon **Richard et Benoit, (2000)**, les différentes méthodes de microencapsulation peuvent être classifiées selon différents critères (tableau 1 et 2) :

- _ L'emploi ou non de solvant organique, certaines techniques utilisent 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, ...).
- _ La famille à laquelle appartient le composé employé pour obtenir la capsule peut également permettre de classifier 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 nature du principe selon laquelle est réalisée la microencapsulation : on distingue des procédés chimiques, mécaniques et des procédés physico-chimiques.

Tableau 1. Quelques procédés de microencapsulation

Procédés chimiques	Procédés mécanique	Procédés physicochimique
<ul style="list-style-type: none"> • Polymérisation interfaciale • Polymérisation en milieu 	<ul style="list-style-type: none"> • Enrobage en lit fluidisé • Gélification ou congélation de gouttes • Atomisation • Extrusion 	<ul style="list-style-type: none"> • Gélification thermique • Evaporation-extraction de solvant • Coacervation (simple ou complexe)

2.1 Procédés chimiques

L'encapsulation par voie chimique consiste en la polymérisation autour de la matière active (pure ou en solution) d'un ou plusieurs monomère conduisant à la formation in situ d'une membrane de protection. Plusieurs types de polymérisation peuvent être envisagés polycondensation, polymérisation radicalaire ou anionique.

2.1.1 Polymérisation interfaciale

L'encapsulation par polymérisation interfaciale nécessite la formation d'une émulsion, et met en jeu deux monomères qui sont solubles respectivement dans chacune des phases de l'émulsion où la phase dispersée contient la matière active (**Janssen et Te Nijenhuis, 1992; Pitaksuteepong et al., 2002**) montrent que la formation de la paroi des microcapsules se fait par la réaction de polymérisation qui se déroule à l'interface des gouttelettes contenant la substance active (pure, en solution ou en dispersion) (fig.2).

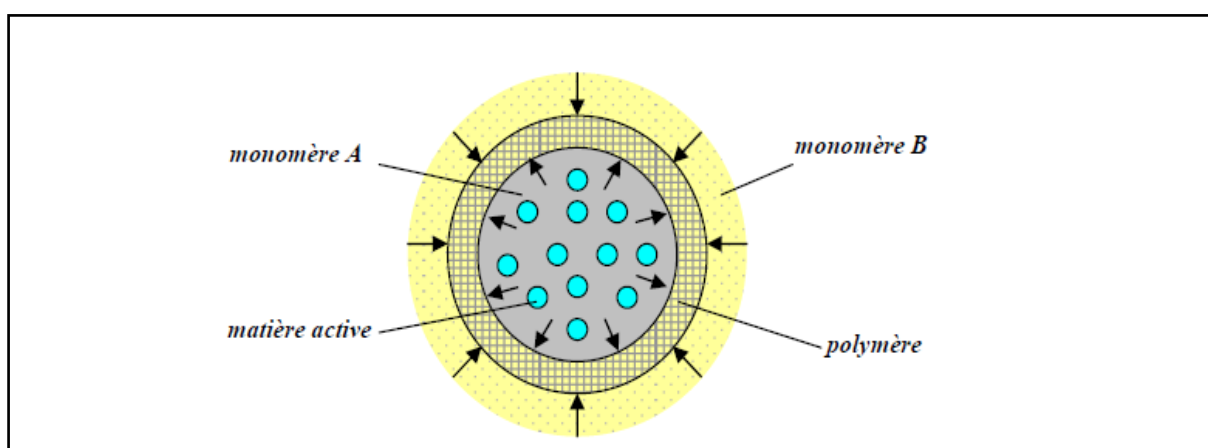


Figure 2. Microencapsulation par Polymérisation interfaciale (**Janssen et Te Nijenhuis, 1992**)

Dans cette technique, les solutions de matières actives liposolubles (**Bouchemal et al., 2006; Liang et al., 2009**) sont les plus utilisées qu'hydrosolubles (**Zydowicz et al., 2001**). Les microcapsules obtenues ont des tailles comprises entre quelques micromètres et quelques centaines de micromètres. Ensuite, le rendement et la qualité de cette technique dépendent de nombreux facteurs comme la nature des monomères réactifs, les conditions de réaction, les concentrations en monomères, la température, la qualité du mélange (**Yeo et al., 2001**), ainsi que la solubilité de substance active dans le solvant qui peut entraîner sa migration et limiter le taux d'encapsulation.

De plus, pour éliminer les solvants organiques, les monomères, produits secondaires et tensioactifs en excès il faut utiliser des lavages répétés. Ces derniers sont très coûteux et peuvent provoquer une perte en actifs hydrosolubles encapsulés. Les solvants organiques utilisés sont principalement le cyclohexane, le chloroforme, l'éthylènediamine ou encore le dichlorométhane (**Janssen et Te Nijenhuis, 1992; Zydowicz et al., 2001**). La méthode de polycondensation interfaciale est souvent utilisée pour l'encapsulation de molécules biologiques telles que les protéines (arginase, glucose oxydase, hémoglobine et anticorps) (**Richard et Benoit, 2000**).

2.1.2 Polymérisation en milieu

Dans ce cas de microencapsulation la voie de polymérisation peut être soit anionique soit radicalaire. L'obtention des microparticules se fait à partir d'une phase homogène initiale comprenant les monomères et les matières actives solubilisées. La formation d'oligomères en croissance dans la phase continue conduit à une précipitation autour du principe actif permet la formation d'une particule finale de type microcapsule et un tensioactif peut être utilisé pendant le procédé pour les stabiliser (fig.3).

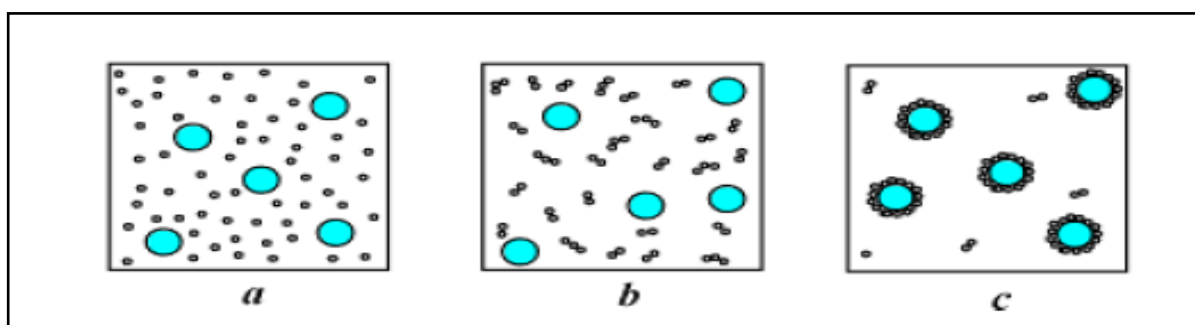


Figure 3. Principe du procédé de microencapsulation par polymérisation en milieu dispersé : (a) solution de polymères contienne une matière active dispersée, (b) formation des oligomères, (c) obtention de microcapsule (Nesterenko, 2012).

Les solvants utilisés dans la réaction de polymérisation peuvent être l'éthanol/eau, le méthanol et le cyclohexane. La taille des microsphères obtenues varie entre $1\mu\text{m}$ et $15\mu\text{m}$ et le taux d'encapsulation est inférieur à 50% (Benoit et Richard, 2013).

2.2. Procédés mécaniques

Dans ce type de procédé, le matériau carapace est déposé 'mécaniquement', sur le matériau cœur. Ces méthodes regroupent l'utilisation des techniques de pulvérisation, de formation de gouttes et d'extrusion (Benoit *et al.*, 2001; Boh et Šumiga, 2008). Elles produisent des capsules amorphes avec des propriétés physiques (la taille des particules, la structure, la surface, et la porosité (Aguilera *et al.*, 2003) et comportements thermiques différents (Madene *et al.*, 2006). Elles sont basées sur le séchage ou la solidification de gouttelettes contenant tous les constituants de la future particule.

2.2.1 Enrobage en lit fluidisé

Ce procédé d'encapsulation nécessite des particules solides de principe actif ayant une distribution granulométrique assez étroite. L'opération se déroule dans une chambre cylindrique

verticale d'un lit fluidisé (Madene *et al.*, 2006; Richard et Benoit, 2000) et comporte trois temps (fig.4) ;

- Fluidisation de la poudre de particules ;
- Pulvérisation du matériau d'enrobage sur les particules ;
- Séchage de l'enrobage. Ce dernier est réalisé par passages successifs et cycliques des particules dans les zones de pulvérisation et de séchage, permettant d'obtenir un enrobage continu et homogène des microparticules avec une épaisseur varie entre quelques μm à une vingtaine de μm .

Le taux d'encapsulation dans cette technique est généralement compris entre 60 et 90% (Jacquot et Perneti, 2004).

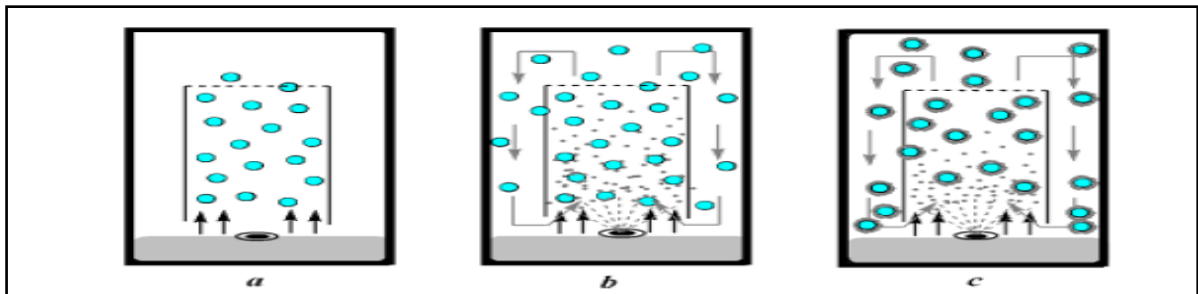


Figure 4.: Microencapsulation par méthode d'enrobage en lit fluidisé : (a) matière active fluidisée, (b) matière enrobante pulvérisée(c) formation des microparticules (Madene *et al.*, 2006; Nesterenko, 2012).

Cette technique a été utilisée souvent dans les domaines pharmaceutiques et agroalimentaires notamment pour l'utilisation d'ibuprofène, de paracétamol ou de vitamines dont le goût a été masqué de manière efficace en utilisant un enrobage avec la prolamine sans impact sur la biodisponibilité de la substance active. (Buffo *et al.*, 2002; Lee et Krochta, 2002; Sohi *et al.*, 2004) indiquent leur application dans l'industrie alimentaire, pour l'encapsulation des arômes.

2.2.2 Gélification ou congélation de gouttes (prilling ou spraycongealing/ cooling) :

A travers une buse vibrante, les gouttes sont formées et recueillies dans un milieu permettant la gélification ou la solidification du matériau enrobant. La gélification de gouttes est basée sur une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymère capable de former des gels sous une action extérieure physique (température) ou chimique (pH, présence d'un composé induisant la précipitation). Cette technique consiste en la

solubilisation ou la dispersion du principe actif dans un matériau enrobant à l'état fondu de type corps gras, glycéride ou cire à point de fusion relativement bas compris entre 50°C et 120°C (**Passerini et al., 2003**). La baisse de température entraîne l'encapsulation pendant la chute des gouttes sortant de l'orifice de la buse vibrante. Le principe actif peut être solide ou liquide, hydrophobe ou hydrophile et l'ajout d'un additif (d'antioxydant par exemple) permet d'améliorer la solidification et agir sur le mécanisme de libération du produit fini ou encore améliorer la stabilité de la matrice d'encapsulation (**Albertini et al., 2009; Ilić et al., 2009**). Les microsphères obtenues par cette méthode ont des diamètres compris entre 30µm et 800µm et le taux d'encapsulation se situe entre 10% et 50%. (**Albertini et al., 2008; Séquier, 2013**).

2.2.3 Atomisation (spray-drying)

C'est la technique la plus utilisée dans l'industrie alimentaire (**Dziezak, 1988**), essentiellement pour l'encapsulation d'arômes (**Deis, 1997**) grâce à ses nombreux avantages. Cette technique permet, par exemple, de protéger des actifs de l'oxydation et de transformer des liquides en poudres (**Gouin, 2004; Yeo et al., 2001**). Elle comporte la dispersion de la substance active dans un matériau d'enrobage, suivi de la pulvérisation du mélange dans une chambre de dessiccation (**Dziezak, 1988; Watanabe et al., 2002**). Les gouttelettes formées dans la chambre vont alors subir une rapide désolvatation, produisant des microparticules solides. En effet, quand la solution concentrée en matériau enrobant entre en contact avec le flux d'air chaud parcourant la chambre (entre 40 et 200 °C), le matériau carapace se solidifie autour du matériau cœur par évaporation de solvant. Les particules produites sont enfin récupérées dans un bac de récupération sous forme de poudre (**Dixit et Goel, 2007; Richard et Benoit, 2000**). Les propriétés des microparticules obtenues sont également influencées par la température d'entrée de l'air chaud, pulvérisé pendant l'atomisation. En effet, cette température est liée à la vitesse d'évaporation de la phase liquide et à l'humidité de la poudre produite. Quand cette température est très basse, la faible vitesse d'évaporation provoque la formation de microparticules avec une densité de membrane et une humidité élevée, et les microsphères ont tendance à s'agglomérer. Inversement, si la température d'entrée est trop importante, l'évaporation trop rapide favorise la formation de fissures dans la membrane d'enrobage et la libération non désirée de la matière active (**Nesterenko, 2012**) (fig.5).

La nature de la matière enrobante doit être choisie 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 et l'efficacité de microencapsulation. La taille des microparticules obtenue varie généralement entre 10 μm et 1000 μm . Le taux d'encapsulation en matière active varie généralement entre 40 et 60 % (Richard et Benoit, 2000).

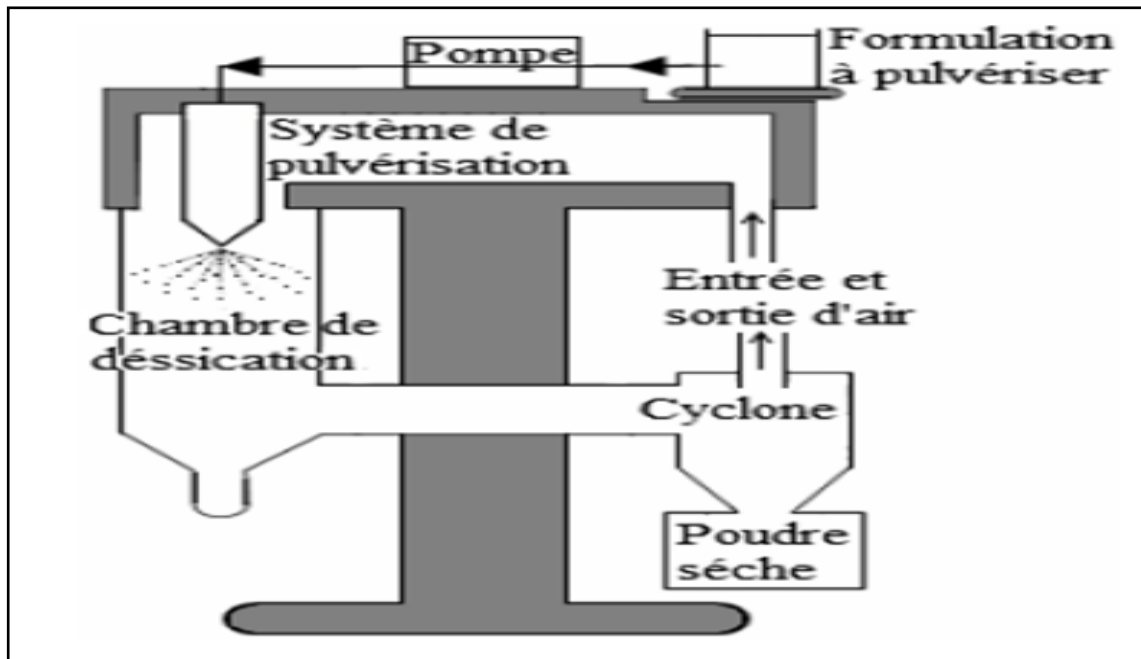


Figure 5. Schéma du procédé d'atomisation (spray-drying) (Robin, 2012)

2.2.4 Extrusion

La technique d'extrusion peut être utilisée pour l'encapsulation de la 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). Cette méthode consiste en la dispersion du matériel actif dans une matrice liquide pulvérisée, par l'intermédiaire d'une enceinte pressurisée, dans un système de collecte des microcapsules (Dziedzak, 1988). Essentiellement cette technique est utilisée dans le cas des matières actives et matières enrobantes résistantes à haute température (jusqu'à 200 °C). Il est également possible d'adapter la méthode à basse température afin d'encapsuler des microorganismes et des enzymes dans des matrices spécifiques. La taille des microsphères obtenues par la technique d'extrusion est plus importante (supérieure à 200 μm) que pour celles obtenues par les procédés chimiques et physico-chimiques ce qui limite leurs applications (Gouin, 2004).

Il est intéressant pour les aliments soumis à des conditions de processus très sévères (pâtisseries et biscuits cuits à haute température). Il est principalement employé à l'échelle de laboratoire (**Heinzen, 2002**). La proportion de la matière active dans les particules peut atteindre 50 % (**Nesterenko, 2012**).

2.3 Procédés physico-chimiques

2.3.1 Gélification thermique

Dans ce procédé la matière active est dissoute ou dispersée dans une solution de matière enrobante ou dans un matériau fondu. L'ensemble est émulsionné soit dans une phase dispersante où la température est maintenue supérieure à la température de fusion d'enrobage (gélification thermique), soit dans une solution contenant des ions qui provoquent la gélification. Les microparticules obtenues et ensuite récupérées par filtration et séchées. Plusieurs matières (polysaccharides, protéines, polymères synthétiques, lipides) en solution peuvent former des gels soit par refroidissement (**Heidebach et al., 2009**), soit par contact avec certains ions chélateurs (**Silva et al., 2006**). Les microsphères obtenues suivant ce procédé ont une taille de 30µm à 300µm et le chargement des microparticules en matière active est autour 20% (**Benoit et Richard, 2013**). Cette technique peut être utilisée avec des matières actives à encapsuler très fragiles comme les levures (**Raymond et al., 2004**).

2.3.2 Evaporation-extraction de solvant

Cette méthode repose sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation (**Freitas et al., 2005**). Initialement, le matériau d'enrobage est dissous dans le solvant organique volatil. Ensuite, la dispersion de la matière active à encapsuler dans une solution organique avec le polymère qui formera la matrice. La solution organique est dispersée dans le milieu aqueux contenant un agent tensioactif sous agitation. Dès que le solvant organique entre en contact avec la phase aqueuse externe, il migre à la surface de l'émulsion où il s'évapore par diffusion. La concentration du solvant organique dans la phase intermédiaire diminue au cours du temps et le polymère commence à précipiter encapsulant le principe actif. Les microparticules sont séparées par filtration et séchées. Parmi les polymères utilisés dans cette méthode on trouve le gluten du 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**), la taille des microsphères comprise entre 0,5 et 200µm. La teneur maximale en principe actif est inférieure à 25% (**Benoit et Richard, 2013; Freitas et al., 2005; Li et al., 2008**) (fig.6).

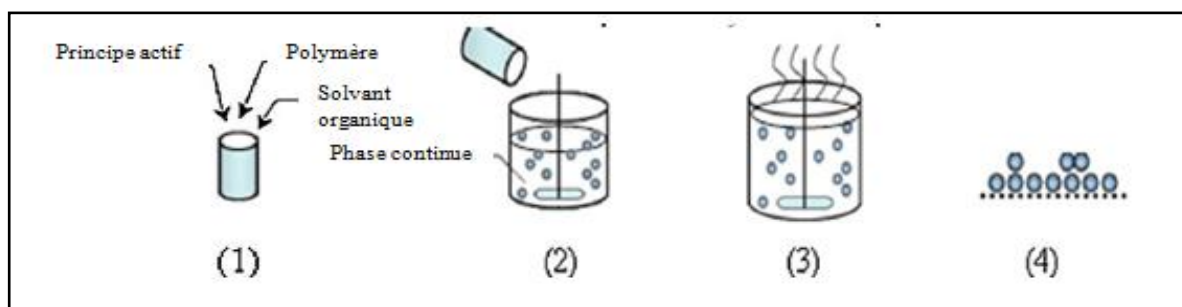


Figure 6. Microencapsulation par évaporation du solvant : (1) solution organique de polymère contient la matière active dispersée, (2) mise en de la phase organique émulsifiée dans la phase aqueuse, (3) évaporation du solvant organique de la phase dispersée, (4) formation d'enrobage de polymère et formation des microparticules (Singh *et al.*, 2014).

2.3.3 Coacervation

Le terme coacervation a été emprunté au domaine de la chimie des colloïdes et il réfère au processus de formation de la paroi d'une capsule. C'est une technique dans laquelle des solutions aqueuses colloïdales ont été séparées en deux phases liquides (Martins *et al.*, 2009). La coacervation faisant intervenir une ou plusieurs solutions hydrocolloïdales qui mènent à l'agglomération de particules colloïdales, dans une phase liquide séparée (Gouin, 2004; Madene *et al.*, 2006). Elle correspond donc à la création de deux phases au sein de la solution (Dixit et Goel, 2007; Richard et Benoit, 2000) :

- Une phase riche en polymère et pauvre en solvant : le coacervat.
- Une phase pauvre en polymère et riche en solvant : le surnageant.

Lorsque le coacervat est composé d'un seul polymère, la coacervation est dite simple tandis que si deux polymères coexistent dans le coacervat il s'agit d'une coacervation complexe. Une étape de réticulation de l'enveloppe des microcapsules est souvent nécessaire à la fin du procédé d'encapsulation afin de solidifier la membrane et éviter ainsi un éclatement non désiré (Lazko *et al.*, 2004; Manguet *et al.*, 2002). Ce procédé a l'avantage de s'effectuer en milieu aqueux, il est facilement industrialisable. Les rendements de production sont très élevés. Les taux d'encapsulation sont de l'ordre de 80 à 95 % (en masse) en matériau cœur. La taille des capsules varie de quelques micromètres à 1 mm (Richard et Benoit, 2000).

2.3.3.1 Coacervation simple

Une simple coacervation peut se former avec un seul type de biopolymère dans un solvant où le polymère n'est pas soluble ou par addition d'un composé (sels et alcools) ayant une affinité plus élevée pour l'eau. Ce phénomène peut se dérouler en milieu organique ou aqueux.

Dans le premier cas c'est un polymère hydrophile qui formera le coacervat, par exemple la gélatine ou du chitosane qui peut être désolvaté par addition de sulfate de sodium permettant la coacervation pour encapsuler une huile (Kaş, 1997). Les matériaux carapaces précipitent autour de l'huile pour former la membrane, il suffit alors de durcir cette carapace en ajoutant un agent réticulant de type formaldéhyde (Ofner *et al.*, 2001) ou glutaraldéhyde (Dai *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2007) pour obtenir des microcapsules plus solides. Le choix de l'agent réticulant n'affecte pas la taille finale des microcapsules (Jyothi *et al.*, 2010). Dans le deuxième cas, c'est un polymère hydrophobe qui sera désolvaté, par exemple l'éthylcellulose. Les particules obtenues sont généralement des microcapsules et parfois microsphères dans le cas où la proportion de substance active est faible par rapport au volume du coacervat (Richard et Benoit, 2000).

2.3.3.2 Coacervation complexe

La coacervation complexe est une séparation de phase liquide-liquide d'une solution aqueuse de deux polymères de charges opposées. La neutralisation des charges globalement positives d'un des deux polyélectrolytes par les charges négatives de l'autre va provoquer la désolvatation des macromolécules donc leur coacervation. (Dixit et Goel, 2007; Richard et Benoit, 2000). Tout d'abord, le produit à encapsuler est dispersé ou émulsifié dans une suspension colloïdale contenant les deux polyélectrolytes carapaces et le mélange doit être continuellement agité (Arshady, 1990). La coacervation se déclenche par variation des paramètres du milieu, telles que la variation du pH, la concentration, ou encore la température de la solution. Cette variation conduit à l'interaction des charges du premier polyélectrolyte avec les charges opposées du deuxième, créant ainsi une attraction, avec un équilibre global entre les charges opposées. L'attraction électrostatique des deux polymères entraîne la formation d'un coacervat mixte.

Ce procédé est limité par le choix du matériau d'enrobage car seul deux polyélectrolytes de charges opposées peuvent convenir. L'utilisation de gélatine comme polycation est devenue pratiquement incontournable, grâce à ses propriétés de gélification, favorisant la solidification de la membrane. Ainsi le choix du deuxième polyélectrolyte à utiliser est limité. Les principaux polymères anioniques associés avec la gélatine sont les suivants : Carboxyméthyl cellulose (Dai *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2009), Gomme arabique (De Kruif *et al.*, 2004; Thies, 1973; Arshady, 1990; Junyaprasert *et al.*, 2001; Lemetter *et al.*, 2009; Madan *et al.*, 1972).

Versic, (1988) décrit la formation de microcapsule à partir de ces deux polymères. Il soutient qu'il est possible de former un complexe de coacervation seulement lorsque le pH est en

dessous du point isoélectrique de la gélatine car à ce pH, la gélatine est chargée positivement tandis que la gomme arabique demeure chargée négativement. Par conséquent, des interactions électrostatiques peuvent se produire et entraîner la formation de coacervats. Les gouttelettes de coacervat formées s'adsorbent à la surface de la matière active pour l'enrober. Cet enrobage est ensuite consolidé par réticulation des molécules constituant le coacervat, à l'aide d'un agent réticulant comme le glutaraldéhyde ou le formaldéhyde (**Richard et Benoit, 2000**) (fig.7).

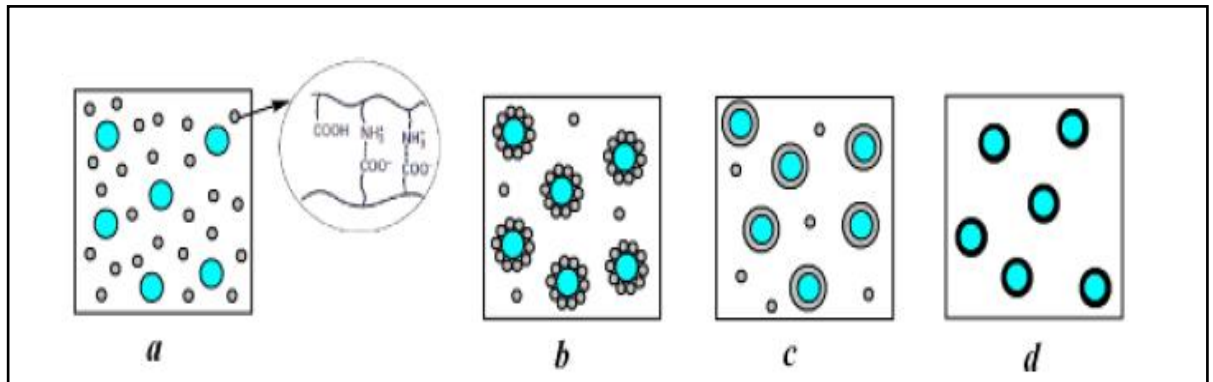


Figure 7. Schéma de principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe (a) La dispersion de la matière active dans la solution de polymère (protéine/polysaccharide), (b) et (c) formation d'enrobage et (d) réticulation (**Richard et Benoit, 2000**).

La taille des capsules pourra être ajustée en jouant sur la vitesse d'agitation de l'émulsion initiale (**Jegat et Taverdet, 2000**). Cette technique permet d'obtenir des microparticules de 5 à 200 μm en moyenne et un taux d'encapsulation élevé qui peut aller jusqu'à 90% (**Benoit et Richard, 2013; De Kruif et al., 2004; Mathieu, 2003**).

Tableau 2. Procédés d'encapsulation et leurs propriétés

Procédés	Technique	Avantages	Inconvénients	Rendements d'encapsulation	Nature des actifs Encapsulés	Références
Chimiques	Polymérisation/ polycondensation interfaciale	Contrôle de la porosité et de L'épaisseur de la paroi en fonction des polymères	-Utilisation de solvants organiques - Interaction de certains actifs dans la réaction de polymérisation - Nombreux lavages nécessaires	Variable (15-100 %)	Liquide, hydrophile ou hydrophobe	(Yeo <i>et al.</i> , 2001)
Mécaniques	Enrobage en lit d'air fluidisé	-Absence de réaction chimique - Coûts de procédé et de maintenance faibles	-Nécessite un équipement Spécifique -Granulométrie au niveau industriel élevée - Agglomération -Epaisseur de membrane souvent faible -Consommation d'énergie élevée	Variable	Solide	(Gouin, 2004;; Madene <i>et al.</i> , 2006; Panda <i>et al.</i> , 2001)
	Gélification/congélation de gouttes (spray cooling)	-Absence de solvant -Particules denses et non poreuses - Temps de procédés courts	-Nécessite un équipement spécifique -Température de procédés pouvant affecter les actifs -Agglomération	Jusque 40-60 %	Hydrophile ou hydrophobe, liquide ou solide	(Albertini <i>et al.</i> , 2009; de Vos <i>et al.</i> , 2010; Ilić <i>et al.</i> , 2009)
	Séchage par atomisation (spray drying)	-Aisément formulable avec des polymères naturels -Simple, rapide, économique, facilement transposable et sans réactions chimiques	-Nécessite un équipement spécifique : tour d'atomisation -Non applicable aux systèmes de viscosité trop élevée -Consommation d'énergie élevée à cause de l'évaporation de l'eau	Jusque 40-50 %	Hydrophile ou hydrophobe, liquide ou solide	(Giunchedi & Conte, 1995; Gouin, 2004; Yeo <i>et al.</i> , 2001)

	Extrusion	-Possibilité d'utiliser des polymères naturels (alginates) -Contrôle précis de la forme et de la taille des capsules -Haut degré de stabilité des capsules en milieu formulé	-Nécessite un équipement spécifique -Utilisation de solvants organiques -Non applicable aux actifs trop sensibles, notamment sensibles à l'oxydation.	Jusque 40 %	Hydrophobe essentiellement	(Gouin, 2004; Madene <i>et al.</i> , 2006)
Physicochimiques	Evaporation/extraction de solvant	-Encapsulation de petites molécules -Possibilité de contrôle de la cinétique de relargage -Utilisation de polymères biodégradables et biocompatibles	-Utilisation de solvants organiques	Variable	Hydrophiles ou hydrophobes, solides ou liquides	(Elkharraz <i>et al.</i> , 2011; Freitas <i>et al.</i> , 2005; Yeo <i>et al.</i> , 2001)
	Gélation ionotropique	-Mise à l'échelle du laboratoire aisée	-Porosité élevée d'ou' une fuite rapide des actifs	10-30 %	Hydrophiles ou hydrophobes, Solides, ou liquides	(Gouin, 2004; Yeo <i>et al.</i> , 2001)
	Coacervation simple ou complexe	-Hauts rendements d'encapsulation -Conditions douces (absence de solvants organiques) -Distribution de taille étroite	-Utilisation classique de polymère d'origine animale (gélatine) -Agents réticulant classiques toxiques: glutaraldéhyde ou formaldéhyde -conditions limitée(T, pH)	Environ 80 %	Majoritairement hydrophobes, possibilité hydrophiles	(Gouin, 2004; Richard et Benoit, 2000)

3. Composition des microparticules

Une particule obtenue par microencapsulation est composée d'une matière active et une matière enrobante (Tableau 3). Afin d'améliorer la stabilité du système et/ou lui apporter des fonctionnalités désirées, des additifs peuvent également être ajoutés. Les constituants de microparticules utilisés sont :

3.1 Matière active

La nature des substances actives utilisées dans la microencapsulation est très variable. Parmi les ingrédients que l'on peut protéger et isoler se trouvent :

Arômes, des huiles essentielles (**Dardelle et al., 2007; Given Jr, 2009; Marcuzzo et al., 2010**), vitamines, comme (vitamine C) (**Pierucci et al., 2006; Wilson et Shah, 2007**), additifs alimentaires (colorants, conservateurs) (**Rascón et al., 2011**); bactéries et des enzymes (**Anjani et al., 2007; Hammill et Crawford, 1997; Kailasapathy, 2002**); principes actifs pour l'industrie pharmaceutique (**Benita et al., 1985; Sefton et Broughton, 1982; Sugamori et Sefton, 1989**); principes actifs cosmétiques (**El-Zawahry et al., 2007; Ge et al., 2009**).

3.2 Matière enrobante

Le système enrobant 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'enrobage permet de modifier radicalement l'aspect du produit encapsulé : masquer le goût et l'odeur, changer l'état de surface, la solubilité... (**Lazko, 2004**).

3.2.1 Polymères synthétiques

Les polymères synthétiques sont largement utilisés comme matrice de microparticules, sont généralement utilisés dans la médecine et la pharmacie. Par exemple, le polyacrylate est utilisé pour encapsuler le paracétamol (**Benita et al., 1985**), des cellules vivantes (**Sefton et Broughton, 1982**), ou des cellules endocrines (**Sugamori et Sefton, 1989**).

3.2.2 Polysaccharides

Les hydrocolloïdes de type polysaccharide ont largement utilisés dans la microencapsulation et sont appliqués dans différent domaine (cosmétique, textile , agroalimentaire, pharmacie) (**Vandamme et al., 2007**). Ces matériaux ont une faible viscosité à une concentration élevée dans la solution, une bonne solubilité et un faible coût.

3.2.3 Protéines

Les protéines d'origine végétale (protéines de soja, protéines de blé) et animale (protéines de lait, protéines d'œuf, caséine, gélatine) peuvent être employées comme matériaux enrobants en microencapsulation grâce à leur nature amphiphile des chaînes protéiques qui permet d'encapsuler des matières actives hydrophobes ou hydrophiles.

Tableau 3 : Exemples d'utilisation des polymères, polysaccharides et protéines comme matière enrobante en microencapsulation.

Matière enrobante		Matière active	Technique d'encapsulation	Application	Référence
Polymère	<ul style="list-style-type: none"> Acide polylactique 	Principes actifs Hydrophobes	Atomisation Coacervation Gélification	Médicaments	(Wischke et Schwendeman, 2008)
	<ul style="list-style-type: none"> Polystyrène 	Matériau à changement de phase	Polymérisation en suspension	Textile	(Sánchez <i>et al.</i> , 2007; Supsakulchai <i>et al.</i> , 2003)
	<ul style="list-style-type: none"> Polyuréthane 	Catalyseur	Polymérisation Interfaciale	Catalyse	(Ley <i>et al.</i> , 2003)
	<ul style="list-style-type: none"> Polyacrylonitrile 	Hépatocytes	Co-extrusion	Biomédecine	(Honiger <i>et al.</i> , 2000)
Polysaccharide	<ul style="list-style-type: none"> Amidon 	Arômes	Gélification Atomisation	Alimentaire	(Jeon <i>et al.</i> , 2003) (Krishnan <i>et al.</i> , 2005; Murúa-Pagola <i>et al.</i> , 2009; Shaikh <i>et al.</i> , 2006)
	<ul style="list-style-type: none"> Maltodextrine 	Arômes Bétalaïne (colorant) Probiotiques	Atomisation Lyophilisation	Alimentaire	(Krishnan <i>et al.</i> , 2005) (Saénz <i>et al.</i> , 2009) (Semyonov <i>et al.</i> , 2010)
	<ul style="list-style-type: none"> Gomme arabique (gomme d'acacia) 	Arômes Fe ₂ O ₃ Endoglucanase (enzyme)	Atomisation Coacervation Séchage à l'air et Broyage	Alimentaire Biomédecine Détergents	(Krishnan <i>et al.</i> , 2005; Shaikh <i>et al.</i> , 2006) (Roque <i>et al.</i> , 2009) (Ramakrishnan <i>et al.</i> , 2007)

	<ul style="list-style-type: none"> Chitosane 	Astaxanthine (pigment) Ampicilline	Evaporation de solvant Atomisation	Alimentaire Pharmacie	(Higuera-Ciapara <i>et al.</i> , 2004) (Anal <i>et al.</i> , 2006)
	<ul style="list-style-type: none"> Cellulose/ Ethylcellulose 	Protéine Polyphénols	Evaporation de solvant Coacervation	Médecine Alimentaire	(Remuñán-López <i>et al.</i> , 1998) (Zheng <i>et al.</i> , 2011)
	<ul style="list-style-type: none"> Pectine 	Huile de poisson	Atomisation	Alimentaire	(Drusch, 2007)
Protéine	<ul style="list-style-type: none"> Gélatine 	Shikonine Lycopène (pigment)	Coacervation Atomisation	Pharmacie Alimentaire	(Huang <i>et al.</i> , 2007) (Shu <i>et al.</i> , 2006)
	<ul style="list-style-type: none"> Protéine de soja 	Hydrolysat de caséine Riboflavine Huile de poisson	Atomisation Gélification Coacervation	Alimentaire	(Favaro-trindade <i>et al.</i> , 2010; Molina Ortiz <i>et al.</i> , 2009) (Chen et Subirade, 2009) (Gan <i>et al.</i> , 2008)
	<ul style="list-style-type: none"> Caséine 	Pyrrolnitrine Huile de poisson	Coacervation Atomisation	Médecine Alimentaire	(Yu et Lee, 1997) (Drusch <i>et al.</i> , 2012)

3.3 Additifs

En plus du matériau enrobant et la matière active, certains additifs (tableau 4) peuvent également être ajoutés dans le système avant la microencapsulation : les agents tensioactifs qui sont des surfactants utilisés pour stabiliser la phase huileuse de l'émulsion, les agents antimicrobiens pour la multiplication des microorganismes dans le système et de le stabiliser efficacement, ou encore les agents réticulants pour consolider l'enrobage polymérique et lui apporter de meilleures propriétés mécaniques dans le but de protéger les particules formées contre la coalescence et la libération préalable de la matière active.

Tableau 4 : Quelque additif utilisé dans la microencapsulation

Additifs	Agents tensioactif	Oléates de sorbitane (Span)	(Gan <i>et al.</i> , 2008; Saihiet <i>et al.</i> , 2006)
		Les polysorbates (Tween)	(Krishnan <i>et al.</i> , 2005; Shaikh <i>et al.</i> , 2006; Theron <i>et al.</i> , 2012; Yoo <i>et al.</i> , 2006; Yu et Lee, 1997)
		Le polyricinoléate de polyglycérole	(Augustin et Hemar, 2009)
	Agents antimicrobiens	L'azoture de sodium	(Gharsallaoui <i>et al.</i> , 2012; R. Wang <i>et al.</i> , 2011)
	Agents de réticulation	Le glutaraldéhyde	(Ezpeleta <i>et al.</i> , 1996; Lazko <i>et al.</i> , 2004)

3 Les interactions protéines-polysaccharides

En milieu aqueux, lorsque les molécules de protéines entrent en contact avec des polysaccharides, différents phénomènes peuvent survenir selon les conditions du milieu. D'un point de vue thermodynamique, deux types d'interaction peuvent se produire (Ledward, 1993; Samant *et al.*, 1993; Weinbreck *et al.*, 2004), il s'agit de :

4.1 Incompatibilité thermodynamique

L'incompatibilité thermodynamique également appelée séparation de phase ségrégative est un système biphasique liquide – liquide se forme dans ce cas, où la protéine et le polysaccharide se trouvent séparés, chacun dans l'une des deux phases (Satchell *et al.*, 2002;

Tolstoguzov, 1985). En général, L'incompatibilité dans le système se produit à un pH supérieur au pH_i de la protéine et à une force ionique plus élevée (**Grinberg et Iolstoguzov-, 1997**). Cependant, à très haute concentration, les biopolymères chargés de manière similaire se repoussent et la répulsion nette rend le système instable (séparé en deux phases), ce que l'on appelle incompatibilité thermodynamique et si la différence de poids moléculaire entre eux augmente ceux-ci pourraient faire un déséquilibre dans le rapport des forces attractives ce qui conduisait en incompatibilité (**Doublier et al., 2000**).

4.2. Compatibilité thermodynamique

Connu sous le nom compatibilité thermodynamique ou séparation de phase associative, deux situations peuvent se produire dans ce cas (**Ledward, 1994; Samant et al., 1993; Tolstoguzov, 1991**).

4.2.1. Co-solubilité

Les deux polymères sont existés en équilibre résultant une solution homogène et stable. C'est-à-dire la génération d'une phase dans laquelle les deux biopolymères n'interagissent pas ou existent sous forme de complexes solubles dans le milieu aqueux (**Tolstoguzov, 2003; Ye, 2008**). Généralement, lorsque l'attraction intermoléculaire est inhibée ou absente, chaque macromolécule ignore la présence de l'autre. En conséquence, co-solubilité est rarement observée voir la grande diversité des groupements fonctionnels des polymères.

4.2.2. Séparation de phase associative

Les deux polymères interagissent de façon attractive pour former un système diphasique dans lequel les deux polymères se retrouvent associés et concentrés dans une même phase tandis que la deuxième phase est pauvre en polymères (**Tolstoguzov, 1991**). C'est le cas de coacervation complexe. Dans ce système, les interactions électrostatiques favorisent l'association des polymères de charges opposées par des forces attractives électrostatiques entre les groupements carboxyliques du polysaccharide et les résidus chargés positivement de la protéine (**Mattison et al., 1998; Samant et al., 1993; Sanchez et Paquin, 1997**). La zone de pH favorable à la formation de ces complexes se retrouve généralement entre le point isoélectrique de la protéine et le pK_a des groupements carboxyliques du polysaccharide. La stabilisation de Ces complexes se fait grâce à des liaisons hydrogènes, des forces de van der Waals et des interactions hydrophobes (**Dickinson, 1998; Ganz, 1974; Imeson et al., 1977; Ledward, 1994**). Si les deux biopolymères sont présents en proportions égales par poids à un pH tel qu'ils portent

des charges opposées égales nettes, le rendement du coacervat sera à son maximum (**Schmitt et al., 1998**).

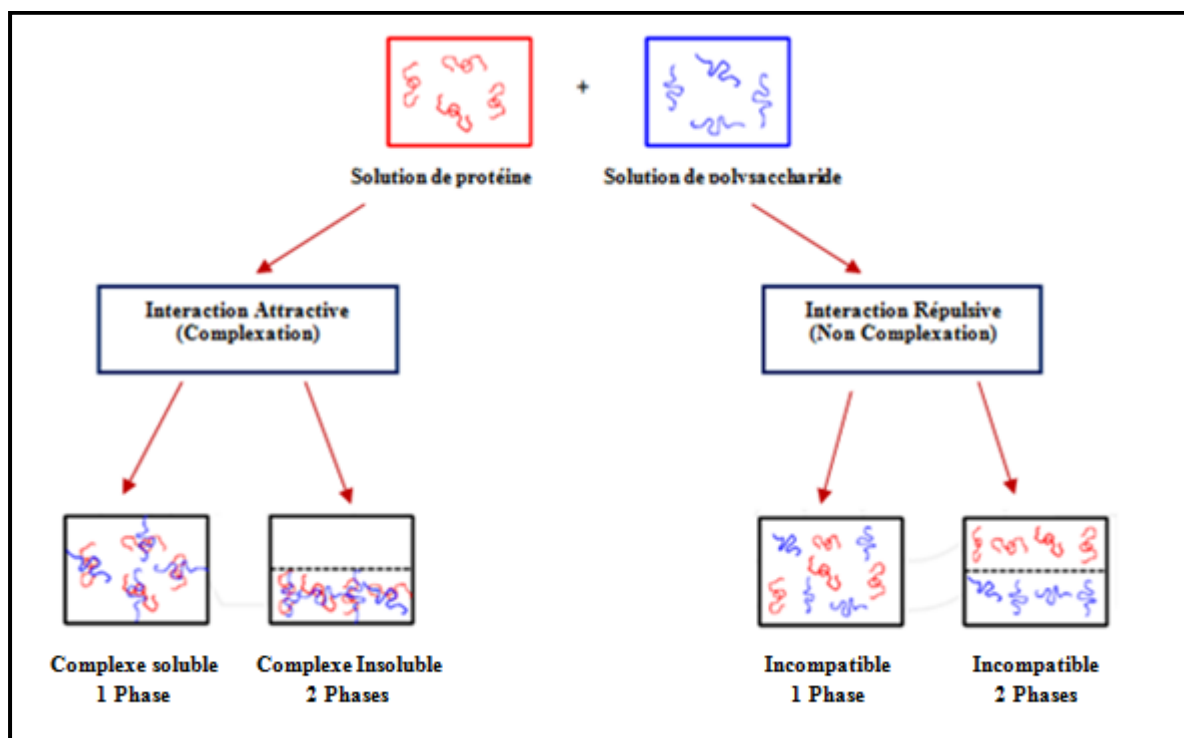


Figure 8. Schéma représente le mode d'interaction possible entre les polysaccharides et les protéines (**Ghosh et Bandyopadhyay, 2012**).

4 Facteurs influençant la formation de complexe

Les interactions moléculaires dans un système de coacervat sont principalement les forces d'attraction électrostatiques, tandis que les interactions non spécifiques, telles que van der Waals et les interactions de liaison hydrogène jouent également un rôle dans la formation de complexes insolubles (**Li et Huang, 2013**). Des paramètres physico-chimiques influençant ces interactions ont un effet important sur la séparation de phase, notamment de la vitesse d'agitation et le ratio de polymères. Ainsi que la stabilité du complexe, elle dépend de nombreux facteurs : les groupements ionisables à la surface des protéines et polysaccharides, la concentration des polymères, la température, le poids moléculaire et le pH du milieu (**Dickinson, 1998; Syrbe et al., 1998**).

5.1 pH

Dans le processus de formation de complexes entre les protéines et les polysaccharides, le pH joue un rôle très important. En effet, Le degré d'ionisation des groupes fonctionnels des protéines (groupe amine) et (groupe carboxyle) et des polysaccharides (groupe carboxyle)

dépend du pH du milieu dans lequel ils existent (**Weinbreck et al., 2003**). Les protéines portent une charge positive en dessous du point isoélectrique et possèdent une charge négative au-dessus de leur point isoélectrique. Outre les polysaccharides sont chargés négativement, cependant à un pH proche du pKa, les polysaccharides ont moins de charges négatives (**Kayitmazer, 2017**). Les complexes formés peuvent être solubles ou insolubles dépendamment du degré de neutralisation des charges opposées. Les termes «soluble» et «insoluble» sont des termes utilisés pour décrire la coacervation dans la littérature relative aux interactions biopolymères, et ne reflètent pas «solubilité» en terme de test de fonctionnalité (**Klassen et al., 2011; Liu et al., 2009; Stone et Nickerson, 2012**). Le maximum d'interactions apparaît à un point appelé point d'équivalence électrique (PEE) où la protéine et le polysaccharide possèdent des charges également opposées (**Singh et Burgess, 1989**), en prenant comme exemple le système β -lactoglobuline/ gomme d'Acacia, il a été montré que l' PEE se situait autour d'une valeur de pH de 4,2 (**Schmitt et al., 1999**). Des variations de l'ordre de 0,5 unité du pH est suffisante pour que la formation de complexes soit réduite de manière significative (**Schmitt et al., 1999**).

5.2 Force ionique

La force ionique peut être utilisée pour contrôler l'état de phase des systèmes avec des interactions électrostatiques, elle est considérée comme un facteur environnemental important qui affecte la formation et la dissociation des coacervats. La plage de phase observée peut être élargie en fonction de la teneur en sel. À de faibles concentrations, les interactions électrostatiques sont réglées par la force ionique qui pourrait faciliter la coacervation (**Wee et al., 2014**) car de légères modifications conformationnelles des biopolymères conduisent à une solubilité accrue ce qui donne plus d'accès aux sites chargés et prend en charge la complexation (**Niu et al., 2014; Weinbreck et al., 2003**). Plus loin, le salage permet à plus de sites d'être disponibles pour les interactions électrostatiques, et aide à éliminer les répulsions à courte portée entre les biopolymères. Par contre à de fortes concentrations en ions, peut être conduire à la suppression des complexes, qui se justifierait par l'entrée en compétition des ions, avec les macromolécules ce qui empêcherait leurs interactions électrostatiques (**Mattison et al., 1998; Schmitt et al., 1998**).

5.3 Charge des biopolymères

La formation de complexes est principalement influencée par la nature et la densité des charges présentes sur les macromolécules. La densité de charge des biopolymères peut être définie comme le nombre de charges (sites réactifs) par unité de longueur qui a un grand impact

sur les interactions électrostatiques pendant la coacervation (**Kizilay et al., 2011; Pak et al., 2016; Priftis et al., 2015; Schmitt et al., 1999; Schmitt et al., 1998**). La protéine porte une charge positive ou négative basée sur le pH du milieu (positive à pH inférieur à pHi et vice versa). Les polysaccharides se déprotonent (deviennent anioniques) à un pH supérieur à son pKa. Cette charge électrique sur la colonne vertébrale de la protéine ou de la chaîne polysaccharidique est responsable de l'attraction électrostatique ou de la répulsion entre eux. Les interactions électrostatiques n'interviennent pas et la formation de complexes est inhibée si la densité de charge est trop faible. De plus, la charge nette des complexes influence la solubilité de ceux-ci dans leur milieu. Par exemple, si un polymère possède un excès de charge par rapport à un deuxième polymère, les complexes formés auront tendance à interagir avec le solvant. Cependant si les charges des deux polymères se neutralisent complètement pendant la formation de complexe, ceux-ci seront insolubles (**Mattison et al., 1998; Xia et Dubin, 1994**).

5.4 Ratio protéine/polysaccharides

Le rapport molaire de mélange de biopolymères joue un rôle important dans le contrôle de la charge équilibre dans un mélange de protéines et de polysaccharides (**Sarika et al., 2015; Schmitt et al., 1999**), il en résulte une influence sur la solubilité des complexes. En effet, à un pH et à une force ionique donnés, le ratio massique (P:Ps) va conditionner la neutralisation des charges entre les deux macromolécules. Si la neutralisation des complexes se produit à un ratio P:Ps de 1, toute augmentation ou diminution de ce ratio entraînera un gain de solubilité accrue des complexes et par conséquent une diminution des complexes (**Kaibara et al., 2000**). Il existe toujours un rapport de mélange molaire spécifique pour obtenir un rendement de coacervat maximal. Cela se produit généralement lorsque des conditions électriquement équivalentes sont atteintes. Par exemple, les rapports de mélange optimaux pour les isolats de protéines de lentilles: gomme arabique (**Aryee et Nickerson, 2012; Elmer et al., 2011**), et isolat de protéines de graines de chia: gomme de graines de chia (**Timilsena et al., 2015**), l'isolat de protéines de soja: chitosane (**Huang et al., 2012**) étaient 1: 1, et 6: 1, 4: 1 respectivement. Lorsque tous les facteurs sont pris en considération, il a été démontré que le pH optimal et la force ionique dépendent du rapport de mélange des biopolymères, de la nature du noyau et autres conditions expérimentales.

5.5 Température

Les interactions hydrophobes et liaisons covalentes sont favorisées par l'augmentation de la température alors que les liaisons hydrogènes sont favorisées par une diminution de la température. La séparation de phase associative dans un système protéine/polysaccharide est donc favorisée par une diminution de la température permettant l'établissement de liaisons hydrogènes. L'augmentation de la température peut aussi être indirectement bénéfique à la séparation de phase associative (**Schmitt *et al.*, 1998**) dû à l'exposition de sites réactifs lors de la dénaturation des protéines ou au changement de conformation du polysaccharide. Ces changements peuvent favoriser les interactions électrostatiques associatives entre protéines et polysaccharides. Selon **Harding *et al.*, (1993)** il n'y a pas de formation de complexe sérum albumine bovine-alginate à pH 6,8 entre la température 35 et 70°C. Cependant quand ce mélange est chauffé au-dessus de 70°C, la formation de complexes à lieu. Cela expliquée par la dénaturation du sérum albumine bovine à 55°C et une fois cette température dépassée, le chauffage permettrait à la protéine d'exposer plus de groupements réactifs favorables à la formation des complexes. La zone de température entre 35 et 70°C correspondrait au processus de modification de la conformation du sérum albumine bovine pendant lequel les interactions avec l'alginate ne sont pas favorisées.

5.6 Agitation (mode d'agitation, vitesse, temps)

L'effet de l'agitation a pu être mis en évidence dans plusieurs études. Par exemple, le diamètre des complexes obtenus entre l'albumine et la gomme acacia était de 2,2µm après augmentation de la vitesse d'agitation à 420 rpm alors qu'il était de 3,1µm à 200 rpm (**Tirkkonen *et al.*, 1994**). Par contre dans une étude de (**Burgess et Singh, 1993**) aucun effet de l'agitation à 450 et 900 rpm pendant une heure n'est obtenu avec le même système albumine/gomme acacia. Bien que ces deux études donnent des résultats différents (**Schmitt *et al.*, 1998**), d'autres effectuées sur le complexe de bêta-lactoglobuline/gomme acacia avec un ratio de 4 : 1 à pH 4.0 et une concentration totale en polymères de 0,1% p/p a montrée que la taille des coacervats était dépendante du temps d'agitation. Après une courte durée (15s) d'agitation, des coacervats de petite taille (1 µm) étaient obtenus alors que de longue durée (60s) d'agitation permettaient une coalescence des particules (10-25µm) (**Vandamme *et al.*, 2007**).

5.7 Agent réticulant

Les agents réticulants (sa nature et la concentration dans le milieu) jouent un rôle important pour la stabilisation des microparticules. La recherche montre que les microparticules préparées en présence d'un agent réticulant présentent un taux d'encapsulation élevé et une libération prolongée (Schmitt et Turgeon, 2011).

6. Caractérisation des microparticules

6.1 Taille

Le terme de microparticules est utilisé pour des tailles comprises entre $1\mu\text{m}$ et $1000\mu\text{m}$ d'après (Benoit et Richard, 2013). La production de microparticules s'accompagne fréquemment d'une certaine polydispersité en taille : apparition de deux ou plusieurs populations.

6.2 Structure interne

Deux types de structures internes de microparticules polymériques peuvent être observés : sont la structure réservoir (microcapsule) et la structure matricielle (microsphère) (Richard et Benoit, 2000) (figure 9) :

- les microsphères qui sont des réseaux matriciels de matériau enrobant dans lequel le principe actif se trouve dispersé ou dissout (A).
- les microcapsules qui sont des systèmes dits « réservoirs » constitués d'un cœur de principe actif entouré d'une membrane de matériau enrobant (B).

Cela dépend des propriétés physicochimiques de la matière active et de la matière enrobante, de leur composition et de la technique utilisée.

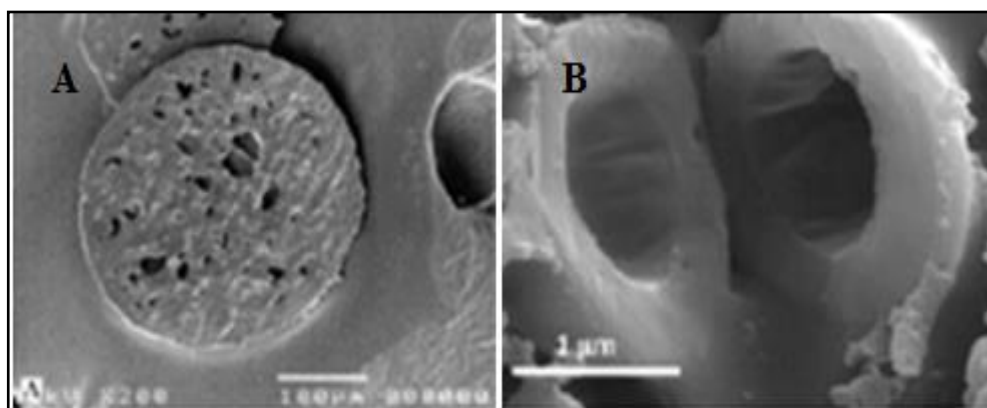


Figure 9. Photographies obtenues par microscopie électronique à balayage représentant : A. microsphère dans laquelle le principe actif est dispersé dans le matériau enrobant (Yang *et al.*, 2001) ; B. microcapsule (Sanna *et al.*, 2015).

6.3 Quantification de l'actif encapsulé

Le principe actif présent au sein des microparticules est caractérisé par plusieurs grandeurs. La plus commune est le rendement d'encapsulation et leur efficacité (Gupta et Ravi Kumar, 2001; Shu *et al.*, 2006) qui a pour les formules suivantes:

$$\text{Rendement d'encapsulation \%} = \frac{m(\text{microcapsules obtenues})(g)}{m(\text{polymère+principe actif introduits})(g)} \times 100$$

$$\text{Efficacité d'encapsulation \%} = \frac{\text{masse d'actif encapsulé}(g)}{\text{masse d'actif introduit}(g)} \times 100$$

6.4 Modes de libération des principes actifs

Les substances actives sont maintenues et protégées dans le cœur des microcapsules durant une période de temps définie, deux systèmes sont distingués pour leur libération (figure 10) :

- **Les systèmes à libération déclenchée** : sont constitués d'une membrane imperméable qui va libérer **brutalement** leur contenu par une rupture sous l'effet d'une modification de pH ou de température (Bartkowiak et Hunkeler, 1999)
- **les systèmes à libération prolongée** dans lesquels le principe actif peut être libéré par diffusion passive à travers la membrane polymérique ou par dégradation/dissolution **progressive** du matériau enrobant. La libération dépendra donc de la structure des systèmes étudiés (microcapsules ou microsphères) qui va directement influencer la cinétique de libération résultante. Ce système est largement utilisé dans les domaines alimentaires et pharmaceutiques.

La cinétique de libération dépend principalement de l'épaisseur de la membrane, de sa porosité, de sa composition chimique et des propriétés de la substance active (Dapkevicius *et al.*, 2002; De Roos, 2000).

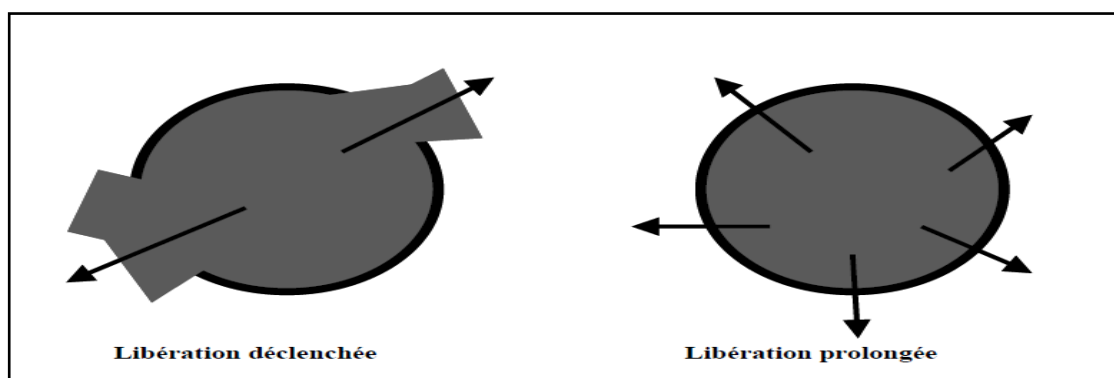


Figure 10. Modes de libération d'un principe actif

7. Les applications de l'encapsulation

On trouve désormais des applications de la microencapsulation dans de nombreux domaines industriels, listés dans le tableau 5 suivant, dans lequel sont également précisés des exemples de composés encapsulés (*Madene et al., 2006; Vandamme et al., 2007*).

Tableau 5. Domaine d'application d'encapsulation

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, detoxifiants, déchets liquides (solidification), déchets industriels a risques, déchets radioactifs...

Chapitre 3

Activités Biologiques

1. Activité antioxydante des huiles essentielles pures et encapsulées

Généralement dans un organisme, les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement et lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponible cela intervient l'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » (**Rahman et al., 2003**). Les radicaux libres sont caractérisés par un pouvoir oxydant instable et /ou fort. La différence est qu'il y a un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe (**André, 1998**). Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être affectés : lipides, protéines, glucides et ADN (**Aurousseau, 2002; Valko et al., 2007**). Toutes ces altérations augmentent le risque de provoquer plusieurs maladies (**Aruoma, 1998**), parmi lesquelles les maladies d'Alzheimer, de Parkinson, de méningo-céphalites, les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque (**Jha et al., 1995**), le cancer (**Ali et al., 2008**) et les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau (**Georgetti et al., 2003**).

Nombreuses méthodes font apparaître pour la détermination de l'activité antioxydante : la méthode **TEAC** (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), **FRAP** (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), **TRAP** (*Total Radical Trapping Antioxidant Parameter*), **ORAC** (*Oxygen Radical Absorbance Assay*) et la plus utilisée: la méthode au **DPPH** (Diphényl Picrylhydrazyle).

➤ La méthode de DPPH

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (capteur de proton) de couleur violet en solution, il est souvent utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé quelconque. C'est un radical libre, stable au cours du temps (**Cotelle et al., 1996; Trouillas et al., 2003**). Le radical DPPH est réduit en formant une liaison moléculaire stable en présence d'un antioxydant (donneur de proton). On mesure à l'aide d'un spectromètre UV à 517 nm et le produit réduit présente une coloration qui tire vers le jaune, cette coloration est proportionnelle à la quantité d'antioxydant avec l'utilisation d'un antioxydant de référence pour la comparaison.

Edris, (2007) a décrit que l'activité antioxydante est attribuée à la présence de puissants composés dans les huiles essentielles extraites de : cannelle, clou de girofle, muscade, persil, basilic, origan et thym, tel que : éthers, alcools, cétones et aldéhydes monoterpéniques: le 1,8-cinéole, le linalool le géraniol/nérol, la menthone, l'isomenthone, le citronellal, et certains monoterpènes non oxygénés par exemple l' α -terpinène, l' α -terpinolène et le γ -terpinène.

Braga et al., (2006) indiquent que le thymol et le carvacrol sont les composés les plus actifs, leur activité est liée à leur structure phénolique car ces composés ont des propriétés

oxydo-réductrices en neutralisant les radicaux libres. Plusieurs études ont montré l'activité antioxydante des huiles essentielles brutes et encapsulées sont citées dans le tableau 6.

Tableau 6. Activité antioxydante des huiles essentielles brutes et encapsulées

Activité Antioxydante			
Huile essentielle brute	Référence	Huile essentielle encapsulée	Référence
<i>Thymus vulgaris</i>	(Radünz <i>et al.</i> , 2020)	<i>Thymus vulgaris</i>	(Radünz <i>et al.</i> , 2020)
<i>Oregano</i>	(Arana-Sanchez <i>et al.</i> , 2010)	<i>Oregano</i>	(Arana-Sanchez <i>et al.</i> , 2010)
<i>Thymus numidicus</i>	(Zeghib <i>et al.</i> , 2013)	<i>Cordiandium salivum</i>	(Das <i>et al.</i> , 2019)

2. Activité antibactérienne des huiles essentielles pures et encapsulées

Plusieurs techniques sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et cette activité varie d'une souche bactérienne à l'autre et d'une huile essentielle à l'autre. Le mode d'action des huiles essentielles se fait, soit en bloquant la multiplication des cellules bactériennes (bactériostatique), soit en les tuant (bactéricide). Cependant, le caractère hydrophobe des HE permet aux molécules d'affecter la membrane cytoplasmique de la bactérie et déstabiliser sa structure. Ceci engendre une augmentation de la perméabilité membranaire et une fuite d'ions et des constituants intracellulaires indispensables à la vie de la bactérie conduisant finalement à la mort de la cellule (Burt, 2004).

2.1 Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne

Les techniques utilisées pour évaluer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles sont nombreuses (Suhr et Nielsen, 2003). Ces tests se basent principalement sur la diffusion et la dilution. Ils permettent soit de déterminer le pouvoir antimicrobien, soit de le quantifier en terme de concentration minimale inhibitrice ou bactéricide.

2.1.1 Méthode de diffusion

2.1.1.1 Méthode de diffusion par disque

Il s'agit d'une méthode fiable et reproductible couramment utilisée *in vitro*, pour évaluer l'activité antibactérienne. Elle consiste à utiliser des disques de papier imbibés d'huile

essentielle, puis de les placer à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension bactérienne. Après 24h d'incubation, développement des colonies à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelées zones d'inhibition. On peut exprimer l'activité antimicrobienne en indiquant directement la zone d'inhibition en millimètres. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand plus la souche est sensible, et plus le diamètre est petit, plus la souche est résistante (**Gachkar *et al.*, 2007**).

2.1.1.2 Méthode de puits

C'est une méthode qui mesure une diffusion radiale de l'huile essentielle à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable. Cette technique consiste à découper un trou circulaire vertical dans la gélose et à y verser une solution d'huile essentielle de concentration connue. Celle-ci diffuse radialement et crée une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne (**Dorman *et al.*, 2000**).

Ces deux méthodes (des disques et des puits) sont largement employées pour l'indication qualitative de la sensibilité ou la résistance des micro-organismes. Des études plus approfondies seront nécessaires afin de pouvoir quantifier en termes de concentration par les méthodes de dilution.

2.1.2 Méthode de dilution

Cette méthode consiste à faire une série de dilution d'une gamme de concentrations en huile essentielle à laquelle une suspension bactérienne est inoculée. Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (habituellement exprimée en mg/mL ou mg/L). Cette technique est utilisée pour les bactéries qui ont présenté une sensibilité aux HE par les méthodes de diffusion.

2.1.2.1 Dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 mL (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution).

2.1.2.2 Dilution en gélose

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, suivie d'un ensemencement d'un *inoculum* bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte.

2.2 Activité antimicrobienne liée à la composition chimique des huiles essentielles

Dorman et al., (2000) montrent que l'importance de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle dépend de sa composition chimique et des groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques).

Les composés phénoliques sont principalement responsables des propriétés antibactériennes des huiles essentielles. Ces composés provoquent des dégâts irréversibles au niveau de la membrane et des parois cellulaires des bactéries. C'est le cas du thymol qui est considéré comme un bactéricide (**Alijiannis et al., 2001; Friedman et al., 2002**), ainsi que le carvacrol qui est fréquemment présent dans différentes plantes de la famille des Lamiacées. Leurs actions se font par l'inhibition des processus de transport des électrons, le transport intracellulaire des protéines, et dans d'autres réactions enzymatiques (**Burt, 2004; Ultee et Kets, 1999**). **Tabanca et al., (2001)** indiquent que le bornéol a une grande solubilité dans l'eau qui lui confère une haute capacité à traverser les membranes des cellules bactériennes.

Concernant Les composants minoritaires ont un rôle important dans l'activité antimicrobienne des huiles essentielles en agissant avec les composés majoritaires. L'interaction entre eux peut produire différents types d'effets (tableau 7) (**Burt, 2004; Delgado et al., 2004; Pei et al., 2009**) :

- Un effet additif : l'effet combiné est égal à la somme des effets individuels.
- Un effet antagoniste : l'effet des deux composés est moindre lorsqu'ils sont appliqués ensemble qu'individuellement.
- La synergie : l'effet de substances combinées est supérieur à la somme des effets individuels

Tableau 7. Différents effets des composants des HEs

Effets	Composants	Souche	Référence
Synergie	<i>p</i> -cymène/ carvacrol	<i>Listeria monocytogenes</i>	(Bassolé <i>et al.</i> , 2010)
Additive	Eucalyptol/ Aromadendrène	<i>S. aureus</i> et <i>Enterococcus faecalis</i>	(Mulyaningsih <i>et al.</i> , 2010)
Antagoniste	Carvacrol/myrcène	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	(Gallucci <i>et al.</i> , 2009)

- Quelques exemples des huiles essentielles brutes et encapsulées qui ont des activités antimicrobiennes sont montrés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 8. Activité antimicrobienne des HEs brutes et encapsulées

Activité antimicrobienne					
Huile essentielle brute	Micro-organisme	Référence	Huile essentielle encapsulée	Micro-organisme	Référence
<i>Mentha rotundifolia</i> (L.) Huds	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> ; Fumigant and contact toxicity properties against <i>Rhizopertha dominica</i> (F.).	(Brahmi et al., 2016)	<i>Summer savory</i>	High in vitro antimicrobial activity against <i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> and <i>E. coli</i> .	(Feyzioglu et Tornuk, 2016)
<i>Thymus vulgaris</i> L.	<i>Pantoea</i> sp. and <i>Escherichia coli</i> .	(Imelouane et al., 2009)	<i>Cardamom</i>	<i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> .	(Jamil et al., 2016)
<i>Mentha rotundifolia</i> L.	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Aspergillus niger</i> and <i>C. albicans</i> .	(Riahi et al., 2013)	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>S.typhimurium</i> <i>L.monocytogene</i> <i>S.aureus</i> <i>E.coli</i>	(Radünz et al., 2020)
<i>Ocimum basilicum</i> L.	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> ,	(Hussain et al., 2008)	<i>Thym</i>	<i>V.Parahaemolyticus</i> <i>V. Alginolyticus</i>	(Tomazelli Júnior et al., 2018).
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> ; <i>Citrus aurantium</i> ; <i>Pelargonium graveolens</i> ; <i>Rosmarinus officinalis</i> ; <i>Citrus sinensis</i> ;	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>S. aureus</i> and <i>B. subtilis</i>	(Prabuseeni vasan et al., 2006)	<i>Oregano</i>	<i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> . <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(Arana-Sanchez et al., 2010)

Généralement l'utilisation des ressources naturelles en particulier les plantes médicinales, cela devient une des façons les plus importantes et intéressantes à explorer, d'une part, il s'agit de trouver de nouveaux produits antibactériens plus efficaces que les drogues synthétisées, en revanche, ils sont acceptés par l'organisme (**Wright et Sutherland, 2007**).

3. Autre Activités biologiques

Siani et al., (1999) indiquent que les HEs de *Protium strumosum*, *Protium lewellyni*, *Protium grandifolium* ont un effet anti-inflammatoire, ainsi que les racines de *Carlinaacanthifolia* sont capables d'inhiber l'inflammation induite par une injection de carraghénane chez le rat. Nombreuses activités antifongiques des HEs, notamment le thym, la citronnelle, La cannelle, ont été décrites par **Burt, (2004)**, ainsi que les huiles essentielles des achillées : *Achillea fragrantissima* (**Barel et al., 1991**) *A. setacea*, *A. teretifolia* (**Ünlü et al., 2002**) et *A. millefolium* (**Candan et al., 2003**), sont très efficace contre la levure pathogène *Candida albicans*. De plus Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers, comme exemple **De Sousa et al., (2010)** ont montré que l'huile essentielle de *Melissa officinalis* à un effet efficace contre les cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant les cellules leucémiques HL-60 et K562, ainsi que (**Mbarek et al., 2007**) prouvent que l'huile essentielle de *Nigella sativa* L, à une activité cytotoxique, elle limite la prolifération de métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur P815.

Matériel et Méthodes

1. Plante utilisée

La plante étudiée « *Thymus vulgaris* » (fig. 11) a été récoltée de la région de Jijel située à l'Est de l'Algérie (latitude: 36° 49'13 " nord, longitude: 5 ° 46'00 " est, élévation au-dessus du niveau de la mer: 9 m). La plante a été collectée pendant la floraison (juin à juillet 2018). La partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) a été séchée à température ambiante, à l'ombre et broyée en particules calibrées avec un broyeur électrique. L'identification de la plante a été réalisée par le professeur REBBAS Khellaf de l'université de M'Sila et confirmée par le docteur MALKI Samira de l'université d'Oum El Bouaghi (herbier annexe).



Figure 11: La plante de *Thymus vulgaris*

2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (fig. 12). 100g de la matière végétale sèche sont introduits dans un ballon en verre et imprégné avec une quantité d'eau distillée suffisante, et portée à ébullition pendant 4h. Les huiles essentielles sont récupérées et stockées dans des flacons en verre opaque à 4°C. Le rendement d'huile essentielle est exprimé par rapport à sa matière sèche et calculé par la formule suivante:

$$\text{Rendement d'HE (Rdt) \%} = \frac{m}{ms} \times 100$$



Figure 12 : Montage de clevenger

3. Préparation des microparticules

3.1 Produits chimiques

Gélatine type **B** (**Merck Darmstadt**), et la gomme arabique (**Sigma-Aldrich**) ont été utilisés comme matériaux de paroi dans la formation de microcapsules, la matière de base utilisée est l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* ainsi l'utilisation de formaldéhyde (**Sigma-Aldrich**) pour la solidification des capsules.

- **Gélatine**

La gélatine (GE) est une protéine abondante et préparée par l'hydrolyse du collagène dans des conditions acides ou alcaline (fig. 13). Il existe deux types de gélatines différentes par l'origine de la matière première et par le procédé de fabrication utilisé :

- les gélatines du type A obtenues par un traitement acide de peaux de porcs et d'os,
- les gélatines du type B obtenues par un traitement alcalin de peaux de bovins et d'os.

Les gélatines du type A et B se distinguent par leur point isoélectrique (supérieur à 6,5 pour le type A et voisin de 5 pour le type B) et une viscosité plus faible. La gélatine que nous avons utilisée dans cette étude est du type B. Elle fait partie de la famille des hydrocolloïdes dont les fonctions principales sont d'épaissir, de gélifier et de stabiliser. La propriété « gélifiante » de la gélatine est la plus connue et la plus utile (**Yeo et al., 2005**). Les enchaînements Glycine – Proline – Hydroxyproline sont les plus fréquents. Ces séquences apolaires sont séparées par des séquences polaires composées principalement de résidus

d'acide glutamique, arginine, acide aspartique, lysine ou sérine. La gélatine est donc composée de certains acides aminés hydrophobes (proline, leucine) et d'acides aminés hydrophiles (sérine, arginine,...). C'est donc une protéine globalement hydrophile présentant un caractère hydrophile – hydrophobe (amphiphile) (Shen *et al.*, 2006).

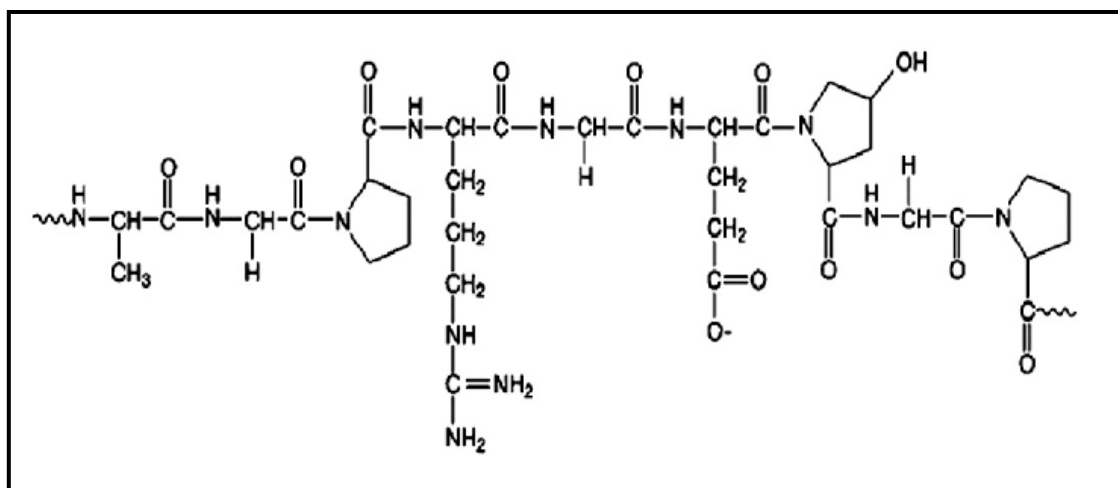


Figure 13. Représentation chimique de la structure de gélatine (Elzoghby, 2013).

- **La gomme arabique**

La gomme arabique (GA), également appelée gomme d'Acacia, est un polysaccharide complexe chargée négativement de type arabinogalactane. Elle est produite par l'exsudation des arbres du genre *Acacia* localisés dans les pays du Nord-Nord/Est de l'Afrique : *Acacia Sénégal*.

Elle est considérée comme la meilleure gomme à utiliser dans des systèmes émulsionnés de type huile dans l'eau (Garti, 1999). C'est aussi un agent d'encapsulation efficace en raison de ses propriétés physiques (non-toxique, hautement soluble, pH stable) (Espinosa-Andrews *et al.*, 2007). Le pKa de la gomme arabique est inférieur à 3,6 (Kravtchenko, 1997) avec un caractère anionique marqué.

La gomme arabique est un hydrocolloïde fortement ramifié, Trois fractions ont été identifiées par chromatographie d'exclusion, dans la gomme arabique (fig. 14):

La fraction arabinogalactane (AG), représente près de 80% de la masse totale de la gomme, mais ne possède qu'une faible teneur en protéines : 0,35% ; la fraction arabinogalactane protéine (AGP), représente moins de 10% de la masse totale de la gomme, et contient près de 12% de protéines ; et enfin la fraction glycoprotéique (GP).

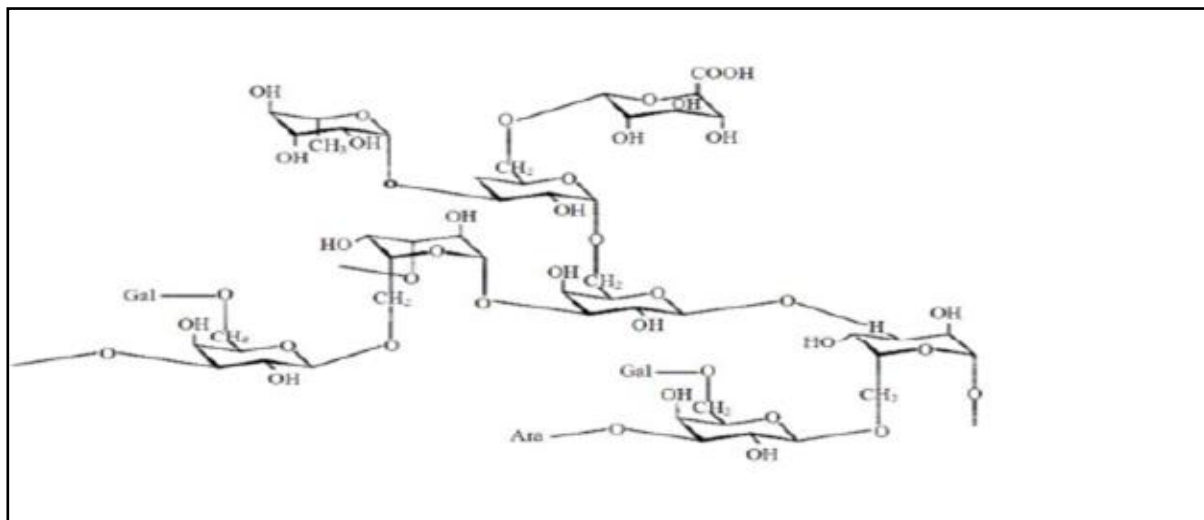


Figure 14. La structure de la gomme arabique (Dauqan et Abdullah, 2013).

3.2 Processus d'encapsulation

L'encapsulation est réalisée conjointement au laboratoire de génie chimique LA009 ISET. GAFSA et l'université Larbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi.

3.2.1 Microencapsulation par coacervation complexe

Cette méthode est basée essentiellement sur la procédure décrite par (Bezerra *et al.*, 2016) avec quelques modifications. La dissolution simultanée de deux polymères du type polyélectrolytes hydrosolubles de charges opposées (GE et GAR) à différentes concentrations est provoquée (tableau 9), suite à une modification du pH du milieu réactionnel, l'attraction électrostatique des deux polymères est induite. Une fois le coacervat formé, la température est abaissée afin d'obtenir une gélification de l'enrobage. La réticulation des microcapsules obtenues se fait par l'ajout de formaldéhyde, ce qui permet de solidifier les particules. La méthode comprend les étapes suivantes (fig. 15 et 16) :

- Préparation de trois émulsions dans l'eau distillée à la température 50°C, sous agitation :
 - 1) Dissolution de gélatine a différentes concentrations dans l'eau.
 - 2) Dissolution de gomme arabique a différentes concentrations dans l'eau.
 - 3) Emulsion d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a différentes quantités dans l'eau.

- Mélanger la solution de gélatine et de gomme arabique, et laisser sous agitation jusqu'à la dissolution complète ;
- L'ajout de la solution d'huile essentielle ;
- Ajustement du pH à 4, par addition de l'acide acétique (10%) pour enclencher la coacervation ; et laisser sous agitation pendant 90 min à 50°C ;
- Refroidissement du mélange à 8 °C pendant 2 heures ;
- Puis ajustement du pH à 8 par ajout d'une solution d'hydroxyde de sodium à 10 % ;
- Addition de l'agent de réticulation (formaldéhyde) ; et laisser pendant 12 heures sous agitation à la température ambiante ;
- filtration de la solution, on utilisant des filtres Whatman (papiers filtres grade 41) ;
- séchage des microcapsules à la température ambiante.



Figure 15. Procédé d'encapsulation par coacervation complexe

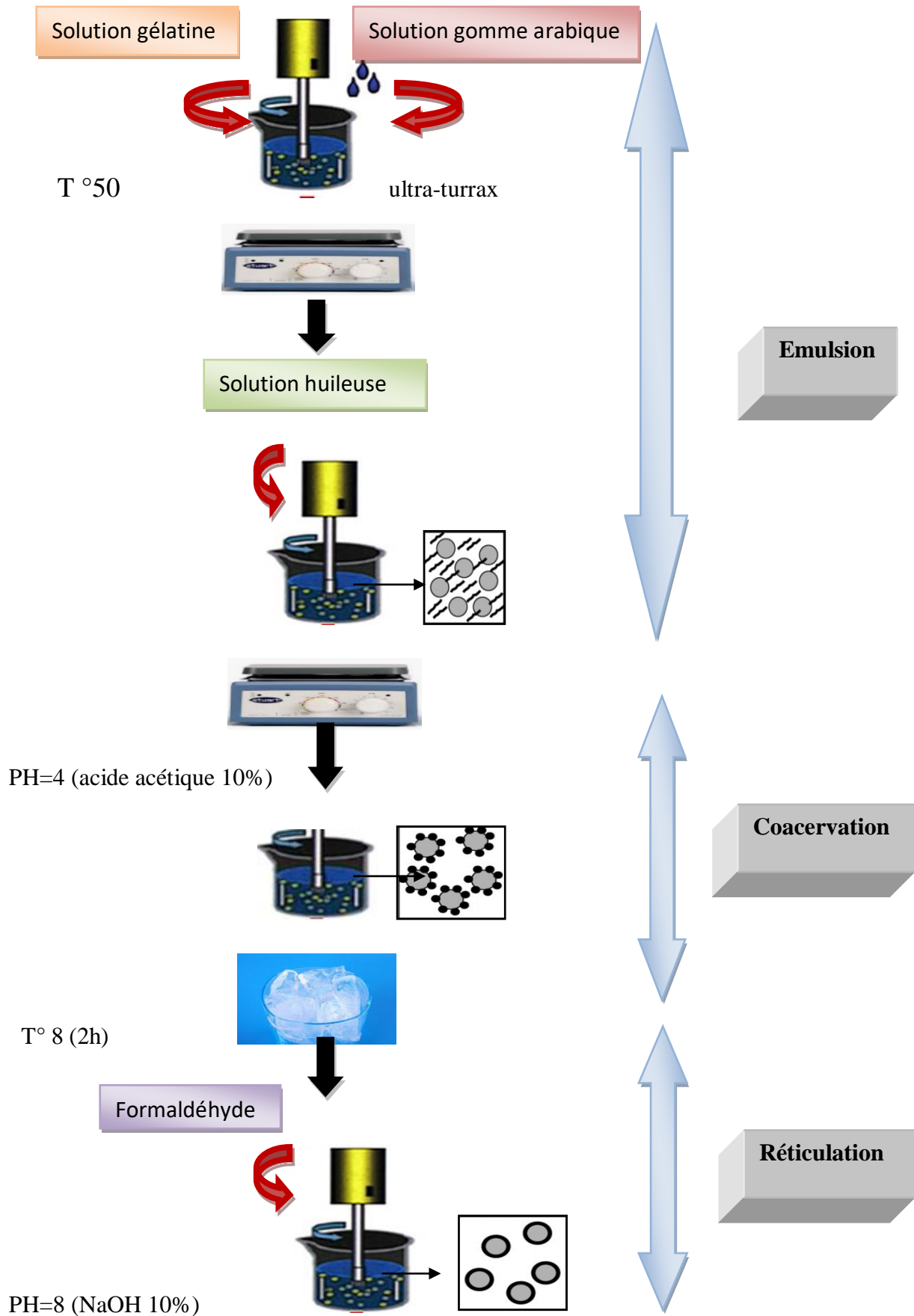


Figure 16. Différentes étapes d'encapsulation d'HET par coacervation complexe

Tableau 9. Coacervation complexe par gélatine (GE)/gomme Arabique (GAr) avec différentes concentrations

Polymères	Concentration	Conditions	Type Agitation	HE	Réticulation Formaldehyde
A GE/GAr	1% /1%	T°50 / pH =4	Magnétique	5 ml	2 ml
B GE/GAr	2,5% /2,5%	T°50 / pH =4	Magnétique	8 ml	2ml
C GE/GAr	3% /3%	T°50/ pH= 4	Magnétique	1.5 ml	2ml
D GE/GAr	7% /8%	T°50 / pH =4	Magnétique	10 ml	2 ml
E GE/GAr	7% /8%	T°50 / pH =4	Mécanique	10 ml	2 ml
F GE/GAr	10% /10%	T°50/ pH = 4	Magnétique	14 ml	2 ml

3.2.2 Microencapsulation par émulsion directe

L'émulsion directe de HET avec des hydrocolloïdes a également été étudiée dans ce travail pour développer de nouvelles techniques d'encapsulation d'huiles essentielles. Cette préparation consiste en un mélange direct du HET avec un matériel de paroi, suivi d'une agitation magnétique à température ambiante jusqu'à dissolution complète du matériau du noyau. Dans cette étude, HET a été ajouté à une solution aqueuse de gélatine comme indiqué dans le tableau 10. Une fois le processus terminé, la solution a été filtrée et lavée avec de l'éthanol pour éliminer l'huile de thym liée à la surface des microcapsules, puis décantée pendant 24h.

La technique se fait comme suit (fig. 17) ;

- dissolution d'une quantité de gélatine dans l'eau distillée sous agitation ;
- Addition d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* de différentes concentrations ;
- Laisser le système sous agitation magnétique pendant différent temps à température ambiante ;
- Filtration.

Tableau 10. Emulsion directe avec différentes concentrations de gélatine

Polymère	Concentration	Condition	Agitation	HE	Réticulation
g GE	3%	T° ambiante	Magnétique (2h)	1,5 ml	/
h GE	2,5%	T° ambiante	Magnétique (12h)	3 ml	/

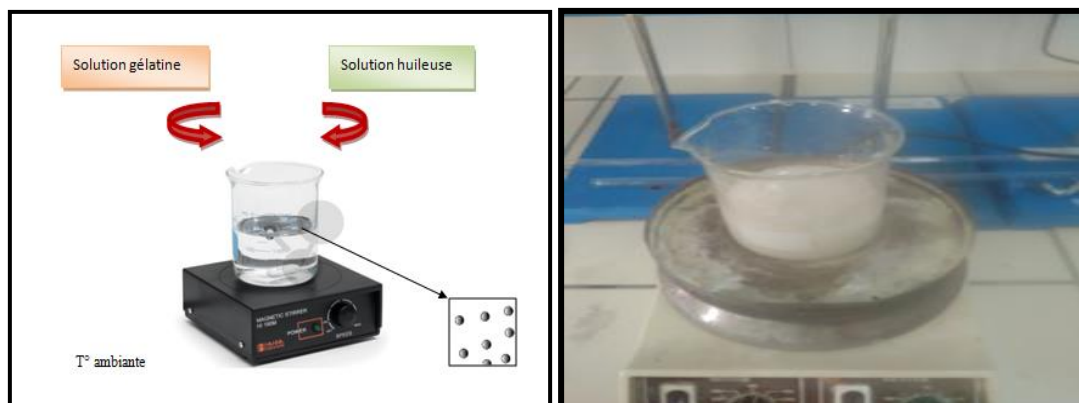


Figure 17. Procédé d'encapsulation par émulsion directe

4. Chromatographie phase gazeuse couplé de spectrométrie de masse

(GC / MS)

L'identification des composés aromatique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pure, et les composés encapsulés ainsi que les composés restants dans la phase aqueuse (composés non encapsulés) est réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (GC/MS). Un varian GC-3400Cx à été utilisé, équipé d'un détecteur de masse préférentiel Saturn 2100T (Varian,Mexique) et d'une colonne capillaire DB-5(30mX0,25mm, épaisseur de film0,25 μ m). Pour mesurer les composés volatiles. La température de la colonne à été augmentée de 55 à 65°C à une vitesse de 1 °C /min, et maintenue pendant 3 minutes, puis augmentée de 65 à290° C à une vitesse de 10 °C /min, et maintenue pendant 10 minutes. L'hélium à été utilisé comme gaz porteur à un débit de 1 ml /min. Pour la détection, une énergie d'ionisation de 70 e V à été utilisée pour l'ionisation électronique .Les températures de l'injection et de la ligne de transfert MS ont été fixées à 100 et 290° C, respectivement. Les spectres de masse des composés aromatiques à ceux de la bibliothèque Saturn et aux données de la bibliothèque NIST 98 du système GC/MS pour identifier les composés aromatiques.

Un chromatographe Varain Star3400-Vx équipé d'un détecteur FID (Varian Mexico) et d'une colonne capillaire DB-5 à été utilisé pour la quantification. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été respectivement à 220 et 290° C. Le système pour la température et de la colonne était le même que celui utilisé pour l'analyse GC/MS. Le gaz porteur était de l'azote avec un débit de 1ml/min, un volume de 1 ml d'extrait a été injecté manuellement. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* à été dilué à une concentration de 100

µg/ml en utilisant du dichlorométhane. Pour tous les composants, les indices de rétention linéaires ont été déterminés à l'aide de standards de n-alcanes analysés dans les mêmes conditions précédentes et l'identification de chacun d'eux à été basée sur la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux de la bibliothèque Wiley (Garcia-Sotelo *et al.*, 2019; Ortega-Ramirez *et al.*, 2017) et ceux décrits par (Adams, 2007) ainsi que sur la comparaison de leurs indices de rétention avec les données de la littérature (Davies, 1990).

5. Caractérisation des microparticules

5.1 Rendement d'encapsulation

Le rendement d'encapsulation de la méthode de coacervation complexe et de méthode de l'émulsion directe à été défini comme le rapport entre la masse finale du produit (coacervat) obtenu (m_2) et la masse initiale des matériaux de la paroi et du noyau (m_1). Le rendement à été calculé selon l'équation (Wang *et al.*, 2014) :

$$\text{Rendement d'encapsulation (Rdt)\%} = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

5.2 Efficacité d'encapsulation et libération d'huile

La teneur totale en huile des microcapsules à été déterminée en distillant 6g de poudre (capsule), dissous dans une quantité d'eau distillée. La solution à été bouillie et distillée en utilisant un appareil de type clevenger. La capacité d'encapsulation d'huile (%) à été comme suit (De Barros Fernandes *et al.*, 2014) :

$$\text{Efficacité Encapsulation (EE)\%} = \frac{\text{masse HE encapsulée}}{\text{masse HE totale}} \times 100$$

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été extraite de la phase aqueuse par hydrodistillation, puis analysé par GC/MS. Cette étape à été envisagée pour la quantification des composés non encapsulés.

5.3 Analyse thermogravimétrique

Les propriétés thermiques de la gélatine, gomme arabique, HET pure et les microcapsules ont été évaluées selon la procédure décrite par (Stott *et al.*, 1996). Un analyseur thermogravimétrique (TG-DTA 92 SETRAM) a été utilisé avec un flux d'argon ; 5 mg d'échantillon de microcapsules ont été pesés et chauffés à 10° C/min de 25 à 500C° sous un débit d'argon constant (20ml /min).

5.4 Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR) a été utilisée pour identifier les groupes fonctionnels présentés dans les microcapsules (fig. 18). Les spectres infrarouges des microcapsules, HET, les polymères ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de fourier JASCO (FT/IR-4700 type A). L'analyse a été réalisée comme décrit par (Devi *et al.*, 2012; Hosseini *et al.*, 2013) en utilisant une cellule à réflectance totale atténuée (ATR), dans une plage spectrale de 4000 à 400cm⁻¹ à une résolution de 4 cm⁻¹.



Figure 18. La spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FTIR)

5.5 Microscopie optique et microscopie électronique à balayage (MEB)

La morphologie des microcapsules à été analysée par microscope optique (Euromex, Hollande Equipée du logiciel Leica Application Suite Interactive en mode mesure et en mode lumière transmise) et par microscope électronique à balayage à l'aide de deux types d'appareils (JEOL JSM-IT100 et TESCAN-VEGA3) (fig. 19). Des images numériques ont été obtenues à une tension d'accélération de 10 kV, 15 kV, 20 kV(Martins *et al.*, 2009).

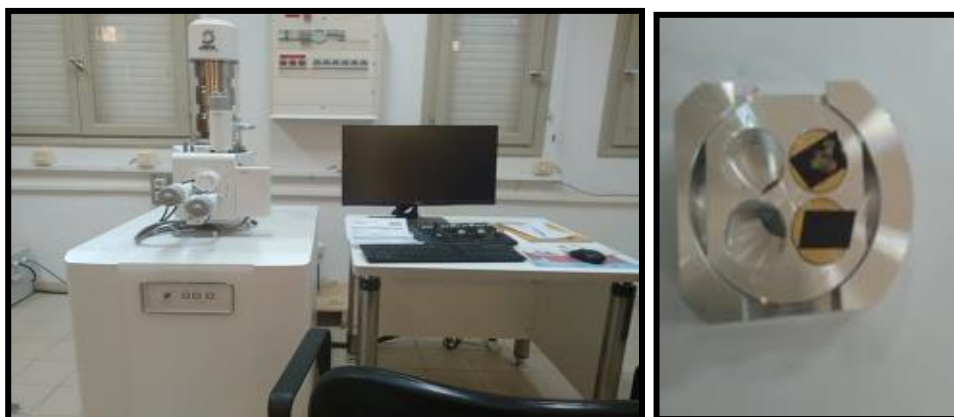


Figure 19. Microscopie électronique à balayage (MEB)

5.6 Cinétique de libération des huiles essentielles

Après avoir placé une quantité spécifiée de particules encapsulées séchées (w_1) dans un thermostat à 25°C, les microcapsules ont été pesées à des intervalles de temps appropriés pour obtenir (w_2). Le pourcentage de rejet a été déterminé comme indiqué par (Shukla *et al.*, 1993) sur la base de l'équation :

$$\text{Release (\%)} = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100$$

6. Activités biologiques

6.1 Activité antioxydante

La méthode de DPPH reste largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante. Elle vise à mesurer la capacité de l'huile essentielle à piéger le radical relativement stable, 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). Le piégeage des radicaux libres de DPPH provoque un changement de couleur de la solution initiale du violet foncé au jaune suite à la réduction du DPPH en DPPH-H (diphényl-picrylhydrazine).

Selon la méthode décrite par (Burits et Bucar, 2000). 50 µl d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* ou 100 mg des capsules ont été mélangés avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%). Après une période d'incubation à l'obscurité de 30 minutes à la température de laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type UV-VIS de marque BioMérieux (fig. 20).

La vitamine C (1,4 mg/mL) qui est utilisée comme référence a été préparée dans les mêmes conditions. L'activité antioxydante est estimée selon l'équation suivante (Wang *et al.*, 2002) :

$$I (\%) = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

I : pourcentage d'inhibition des radicaux libre ;

Abs test : absorbance de la solution de DPPH• en présence de l'huile essentielle ou de la vitamine C ;

Abs contrôle : absorbance de la solution de DPPH• en absence de l'huile essentielle et de la vitamine C.



Figure 20. Spectrophotomètre

6.2 Activité antibactérienne des huiles essentielles

6.2.1 Souches bactériennes

Les germes qui ont été testées pour déceler l'activité antimicrobienne des HE de *Thymus vulgaris* sont les suivantes :

- *Staphylococcus aureus* (Gram positif) ATCC 25923 ;
- *Escherichia coli* (Gram négatif) ATCC 25922 ;
- *Bacillus subtilis* (Gram positif) ATCC 6633 ;
- *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif) ATCC 27853.

Ces souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) ont toutes été fournies par le laboratoire de microbiologie. L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HET et leurs capsules sont réalisées par la méthode de diffusion sur disque, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité ou la résistance des bactéries. Le principe de la méthode repose sur le pouvoir migratoire du composé testé en milieu solide (MH) dans une boîte de pétrie, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible, ensuite l'activité antibactérienne est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition (Ouis, 2015; Ryma, 2016).

6.2.2 Préparation des suspensions bactériennes

A partir d'une culture pure et jeune des bactéries à tester sur le milieu d'isolement ;

- Racler à l'aide d'une pipette pasteur scellée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger la pipette pasteur dans 5 ml d'eau physiologique stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, sa densité a été ajustée à 0,5 Mc Farland.

6.2.3 L'Ensemencement

Le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton (MH), qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens ;

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse).
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

6.2.4 Technique d'aromatogramme

La technique utilisée est celle décrite par **Rios *et al.*, (1988)** avec des modifications. La réalisation de cette méthode repose sur le principe de l'antibiogramme, des disques stériles de papier Whatman de 6 mm de diamètre, contenant 10 µl d'huile essentielle ou 10 mg de capsules à tester, sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface du milieu solide (MH), préalablement ensemencé avec de suspension microbienne dont la turbidité a été ajustée à 10⁸ UFC/ml. Des témoins ont été utilisés comme contrôle négatif. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 1 heure avant d'être incubées à 37°C pendant 24 heures. Les essais sont effectués en triple. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque. L'importance des diamètres des zones reflète l'impact de l'HET sur les souches testées (fig. 21).



Figure 21. Réalisation d'antibiogramme et incubation des boîtes de pétrie dans l'étuve

La sensibilité des souches aux agents antimicrobiens a été classifiée en fonction des diamètres d'inhibition, des zones d'inhibition selon (Djeddi *et al.*, 2007; Ponce *et al.*, 2003) comme suite :

- (-) souche résistante ($D < 8$ mm) ;
- (+) souche sensible ($9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$) ;
- (++) souche très sensible ($15\text{mm} \leq D \leq 19$ mm) ;
- (+++) extrêmement sensible ($D > 20$ mm).

7. Analyse statistique

Les valeurs sont des moyennes \pm écart type (SD). L'analyse statistique concernant le rendement et efficacité d'encapsulation des deux méthodes a été réalisée par le test non paramétrique de Mann-Whitney. L'analyse statistique de l'activité antioxydante et antimicrobienne des HEs ont été réalisées par le test non paramétrique de Kruskal Wallis, tandis que l'analyse statistique de l'activité antioxydante et antimicrobienne des capsules ont été réalisées par le test non paramétrique de Mann-Whitney en utilisant SPSS (IBM SPSS Statistics version 25.0). Des essais en triple ont été réalisés et les résultats ont été considérés comme significativement différents à ($P < 0,05$).

Résultats et discussion

1. Etude chimique des huiles essentielles

1.1 Rendement d'extraction

L'extraction par hydrodistillation de la partie aérienne de la plante étudiée a fourni une huile essentielle ayant une coloration jaune avec de forte et persistante odeur. Le rendement moyen en HET a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la plante étudiée; cette dernière a fourni un taux d'environ $1,64 \pm 0,02\%$. **Bouguerra et al., (2017)** ont rapporté un rendement similaire 1,51% pour la même espèce récoltée du Blida (nord de l'Algérie) et 1,75% a été mentionné par **Özcan et Chalchat, (2004)** en Turquie, **Fani et Kohanteb, (2017)** ont noté un rendement de 1,60% en Iran. Le rendement obtenu dans ce travail est supérieur à celui rapporté en Brésil 0,25% par **Atti-Santos et al., (2004)** et en Roumanie 1,25% par **Borugã et al., (2014)**, cependant, notre rendement est plus faible que celui noté par **Zantar et al., (2015)** pour la même espèce récoltée en Tunisie 3,6%.

D'autres études pour d'autre espèces ont été obtenues en Algérie, *T.pallescens* 1,9% a été noté par **Benchabane et al., (2015)**; *T.numidicus* a été estimé à 1,83% par **Adrar et al., (2016)**; *T.algeriensis* 1,13% a été signalé par **Dob et al., (2006)**.

Les différences observées dans le rendement en huile essentielle peuvent être due aux effets de divers facteurs tels que la période de la récolte, l'origine géographique, la période de séchage et le lieu, température et technique d'extraction (**Król et al., 2019; Perry et al., 1999; Smallfield et al., 2001**).

1.2 Composition chimique de l'huile essentielle de thym

Le tableau 11 résume les résultats de l'analyse chimique par CPG.SM d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pure (HET), encapsulée (HETE) et non encapsulée (HETN) obtenus par coacervation complexe et l'émulsion directe. Les résultats indiquent que 18 composés ont été identifiés, qui représentent 99,99% de l'hydrodistillat total. On peut noter que le pourcentage le plus élevé de composés comprend trois classes : les monoterpènes oxygénés 80,79 %, les hydrocarbures monoterpéniques 15% et les hydrocarbures sesquiterpéniques 2,7% (fig. 22).

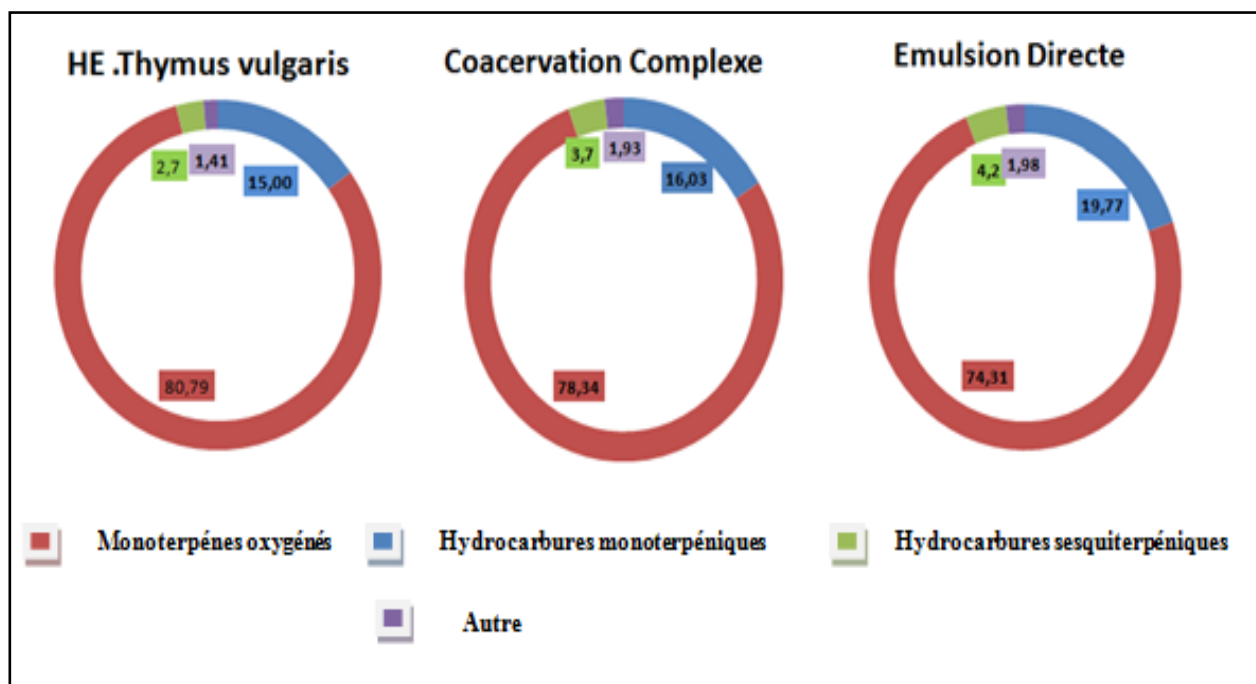


Figure 22. Les différentes classes terpéniques d'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Le thymol est le composant dominant 56,38% de la teneur en monoterpènes oxygénés. Les hydrocarbures monoterpéniques sont principalement présentés α -cymène 13,18%. Les hydrocarbures sesquiterpéniques sont représentés par le β -sesquiphellandréne 1,22% et la caryophyllène 1,13%. Les autres groupes de composés sont présent à moins de 1%.

Le chémotype de HET est cohérent avec ceux obtenus dans d'autres rapports qui ont identifié le thymol comme le composant majeur (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2013) en Iran, cependant, les résultats de cette étude sont différents de ceux obtenus par Zantar *et al.*, (2015) en Maroc, qui ont rapporté que le carvacrol est le principal composé. D'autre part, le camphre et le camphène ont été identifiés comme les principaux composants par Jordán *et al.*, (2006) en Espagne. D'autres études ont montré que les principaux composés d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sont le p-cymène, le γ -terpinène et le thymol (Kowalski et Wawrzykowski, 2009; Lisi *et al.*, 2011; Rota *et al.*, 2008) en Espagne, en Italie et en Pologne respectivement. Ces différences dans la composition de l'HET peuvent être attribuées à divers facteurs tels que les espèces, les facteurs environnementaux, les conditions de culture telles que le climat, l'origine géographique, le moment de la récolte, l'utilisation d'engrais et les normes utilisées pour l'analyse.

Résultats et Discussion

Tableau 11 : La composition Chimique d'HET pure, HES des microparticules et des composés non encapsulés (phase liquide)

N°	Composants	RT (min)	HE pure		Procédure de coacervation Complexe			Procédure d'émulsion Directe				
			Teneur (%w)	Masse tot. (g)	Teneur (%w)	HETE (g)	HETN(g)	EE (%)	Teneur (%w)	HETE (g)	HETN(g)	EE (%)
1	α -pinene	5,473	0,08	0,003	0,04	0,003	0,001	82,558	0,04	0,003	0,001	81,395
2	3-octanone	6,686	0,06	0,003	0,028	0,002	0,000	83,721	0,06	0,002	0,001	62,791
3	α -terpinene	7,544	0,18	0,008	0,06	0,007	0,001	88,372	0,2	0,005	0,003	58,656
4	α -cymene	7,796	13,18	0,567	12,6	0,378	0,189	66,651	6,54	0,462	0,105	81,537
5	γ -terpinene	8,757	0,31	0,013	0,05	0,013	0,001	94,374	0,02	0,013	0,000	97,599
6	α - terpinolene	10,056	0,79	0,034	0,05	0,033	0,001	97,792	0,05	0,033	0,001	97,645
7	β -linalool	12,602	0,57	0,025	0,32	0,020	0,005	80,416	0,03	0,024	0,000	98,042
8	β -terpinolene	13,083	0,46	0,020	0,05	0,019	0,001	96,208	0,05	0,019	0,001	95,956
10	Anisole	14,708	0,22	0,009	0,19	0,007	0,003	69,873	0,2	0,006	0,003	66,173
12	Thymol	16,722	56,38	2,424	47,03	1,719	0,705	70,901	42,05	1,752	0,673	72,248
13	Carvacrol	16,997	23,84	1,025	36,91	0,471	0,554	45,992	49,95	0,226	0,799	22,038
14	Caryophyllene	20,402	1,13	0,049	0,74	0,037	0,011	77,156	0,05	0,048	0,001	98,354
15	β -bisabolene	23,091	0,35	0,015	0,01	0,015	0,000	99,003	0,01	0,015	0,000	98,937
16	Sesquiphellandrene	23,566	1,22	0,052	0,06	0,052	0,001	98,284	0,06	0,052	0,001	98,170
17	β -caryophyllene epoxide	25,391	1,1	0,047	0,09	0,046	0,001	97,146	0,09	0,046	0,001	96,956
18	n.d.	36,246	0,03	0,006								
Totale			99,99	4,3	98,228	2,821	1,473		99,4	2,704	1,590	

La masse HETN est obtenue par la différence entre la masse totale et la masse HETE (pour complexe coacervation) ;

La masse HETE est obtenue par la différence entre la masse totale et la masse HETN (pour émulsion directe).

2. La microencapsulation d'HET

2.1 La technique de coacervation complexe

2.1.1 Interaction entre la gélatine et la gomme arabique et formation du coacervat

Le pH joue un rôle clé dans la force de l'interaction électrostatique car elle détermine la densité de charge de gélatine et la gomme arabique. La formation de complexes électrostatiques est largement rapportée dans la littérature pour systèmes de protéines / polyélectrolytes (Dubin *et al.*, 1994; Kaibara *et al.*, 2000; Mattison *et al.*, 1998; Park *et al.*, 1992). Ces études ont révélé que la complexation apparaissait et une séparation de phase visuelle s'est produite. Cette étude sur la coacervation complexe a été réalisée sur la gélatine / gomme arabique (fig. 23).

En substance, ce procédé comprend deux opérations successives :

- l'obtention de gouttelettes stabilisées (de type huile dans l'eau (H/E), est formée par émulsification d'HET dans une solution aqueuse.
- les deux polyélectrolytes hydrosolubles gélatine et gomme arabique sont aptes à générer une microencapsulation par coacervation complexe.

2.1.2 Association des deux biopolymères

Le phénomène de microencapsulation par coacervation complexe est obtenu du fait des charges opposées entre les polyélectrolytes hydrosolubles (GE :GAR). De manière générale, les solutions de gélatine, gomme arabique, et l'émulsion d'HET sont incorporées sous agitation à une température de 50°C dont il est nécessaire de chauffer les biopolymères pour être solubilisés.

Une modification du pH consiste en une acidification par l'acide acétique (pH=4) inférieur au pHi=5 de la gélatine (Elzoghby, 2013) et donc cette dernière est positivement chargée. Alors que la gomme arabique se déprotone (devient anionique) à un pH supérieur à son pKa (3,6). Cette charge électrique sur la colonne vertébrale de la protéine ou de la chaîne polysaccharidique est responsable de l'attraction électrostatique (entre charge protéique positive NH₃⁺ et les charges négatives des polysaccharides COO⁻) ou de la répulsion entre eux. Les interactions électrostatiques n'interviennent pas et la formation de complexes est inhibée si la densité de charge est trop faible. De plus, la charge nette des complexes influence la solubilité de ceux-ci dans leur milieu. Roy *et al.*, (2018) ont démontré que l'augmentation de vitesse d'agitation de 5000-15.000 tr/min pendant 30 minutes ont réduit la taille de particule.

Typiquement, L'association de gélatine et gomme arabique conduit à la formation de complexes insolubles qui forment alors le coacervat. Une séparation de phase est ensuite observée si le pH est suffisamment abaissé par rapport au pHi de la protéine, tout en veillant à contrôler cette baisse pour éviter une neutralisation du polysaccharide.

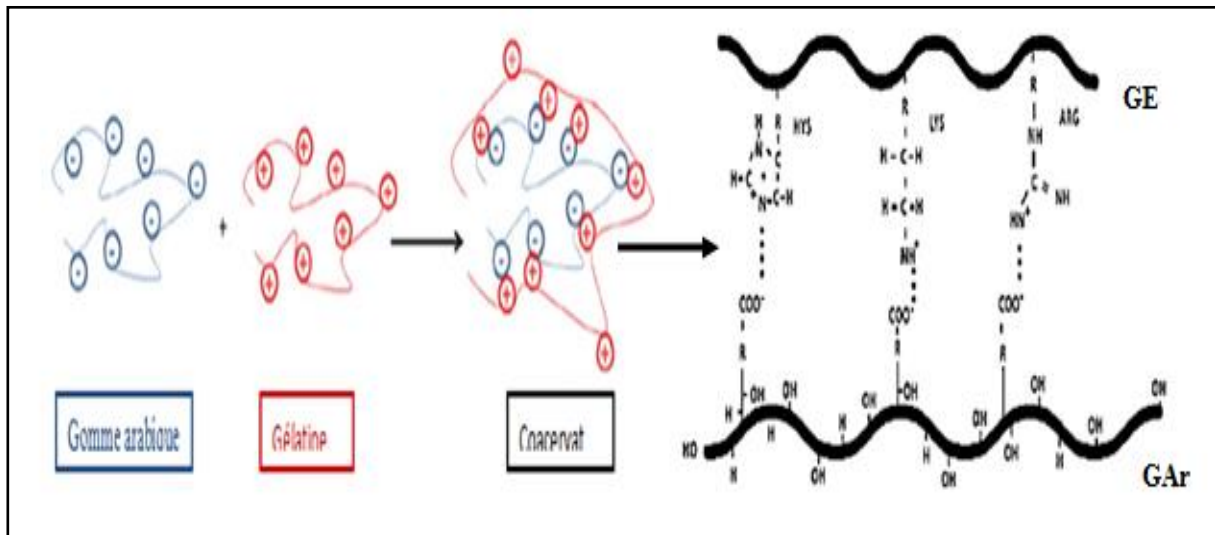


Figure 23. coacervat complexe formé par gélatine (cation) et gomme arabique (anion) (De Oliveira *et al.*, 2019)

2.1.3 Refroidissement

La coacervation complexe est suivie d'une étape de refroidissement, ce dernier permet la solidification de la membrane formée par gélatine et gomme arabique de la microparticule. La gélatine a des propriétés gélifiantes, ce qui facilite la rigidification et solidification du système d'enveloppe, cette étape a été réalisée à une température de 8°C.

2.1.4 Réticulation

Cette étape a été réalisée par l'ajout d'un agent réticulant, une polymérisation efficace peut être obtenue par un traitement avec un formaldéhyde pour augmenter la stabilité des coacervats et que la capsule à obtenir devra être plus solide et moins soluble ainsi que donnent d'excellentes propriétés de libération contrôlée (fig. 24).

Ce durcissement peut se faire au pH de coacervation mais, particulièrement lorsque l'on utilise le formaldéhyde, on préfère l'effectuer à un pH basique, de 8-9 (Migneault *et al.*, 2004 ; Muhoza *et al.*, 2020). Généralement, l'alcalinisation de la solution de microcapsules est obtenue par l'ajout d'un agent alcalin comme l'hydroxyde de sodium (NaOH). La durée

d'agitation est en fonction de l'agent de réticulation, de sa concentration, de la taille des particules. Après la fin de la réticulation, on arrête l'agitation et sépare les microcapsules de la solution par un moyen classique tel qu'une décantation puis une filtration.

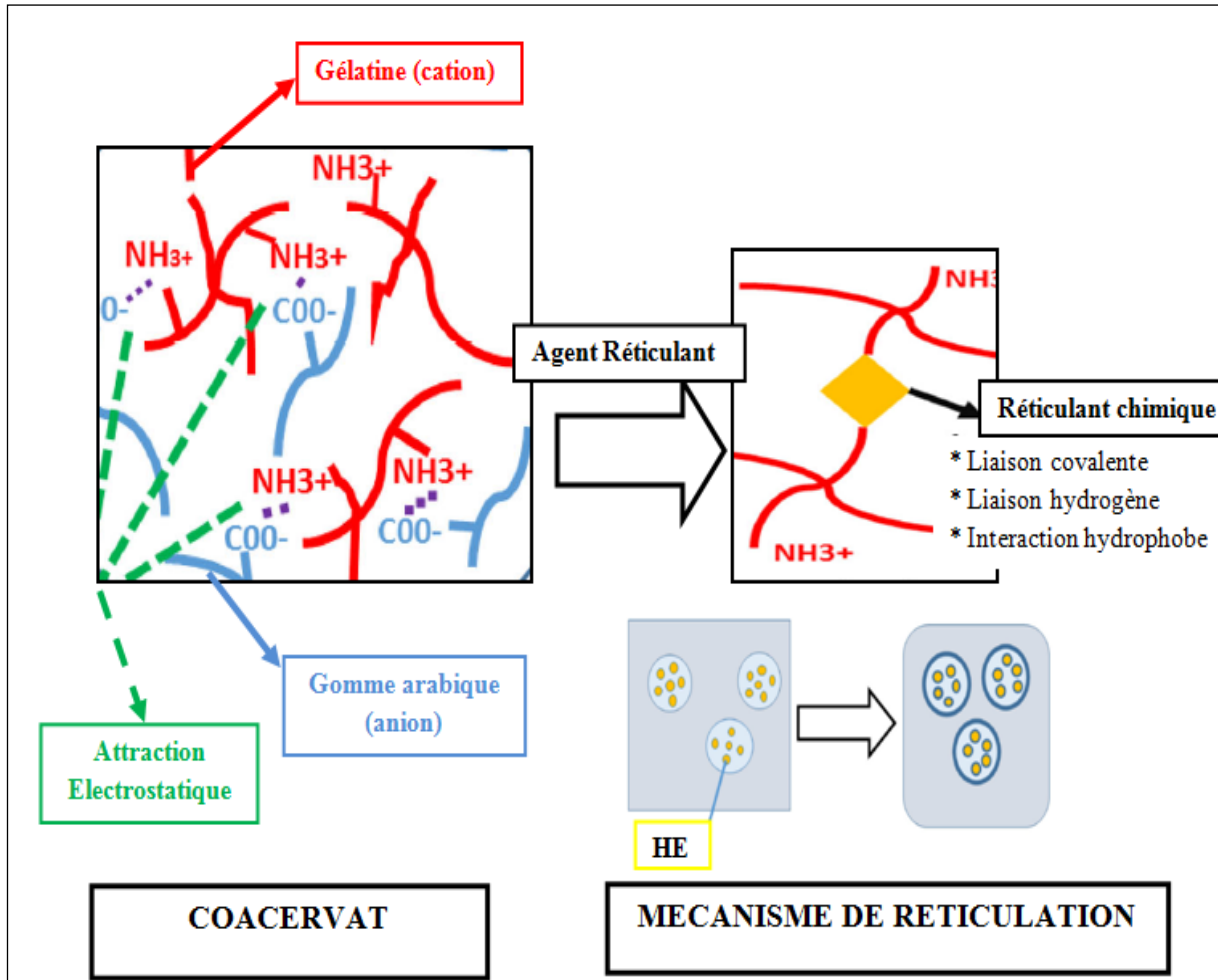


Figure 24. Mécanisme de réticulation/durcissement du coacervat encapsulant une huile essentielle en utilisant un agent réticulant (Muhoza *et al.*, 2020).

2.2 La technique d'émulsion directe

La méthode d'émulsion directe est une nouvelle méthode mise en place dans ce travail, elle consiste à mélanger la solution huileuse avec seulement la solution protéique (la gélatine), cette dernière à des propriétés gélifiante qui permet à emprisonner l'HET parmi ses molécules.

3. Caractérisation des particules

3.1 Morphologie des microcapsules

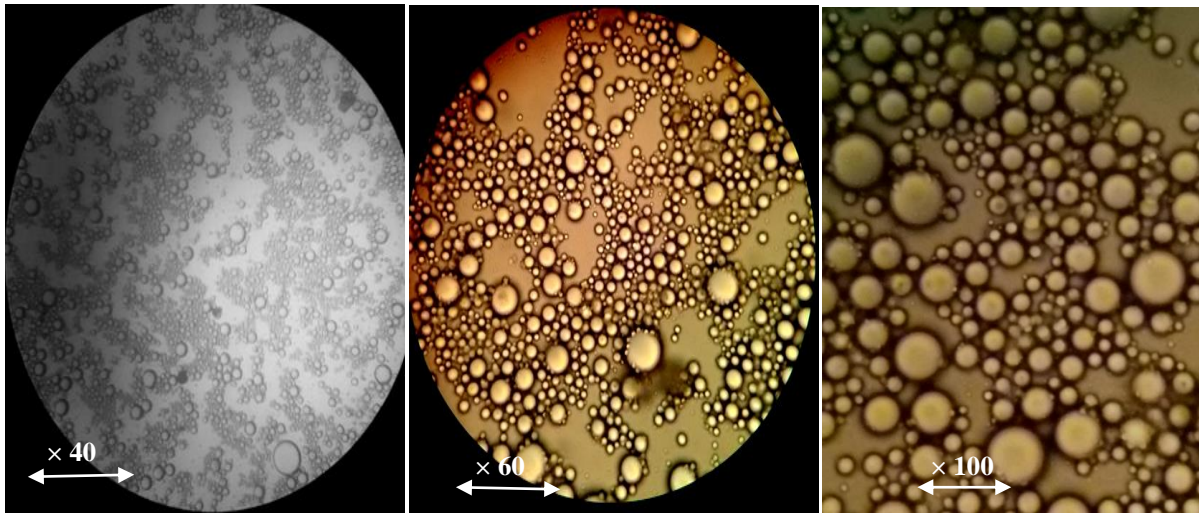
La structure et la forme des microcapsules d'HET ont été observées par microscope optique et microscope électronique à balayage (MEB). Les capsules obtenues dans une solution colloïdale forment un complexe polysaccharide-proteine par la technique de coacervation complexe et seulement un coacervat protéique par l'émulsion directe.

3.1.1 Microscope optique

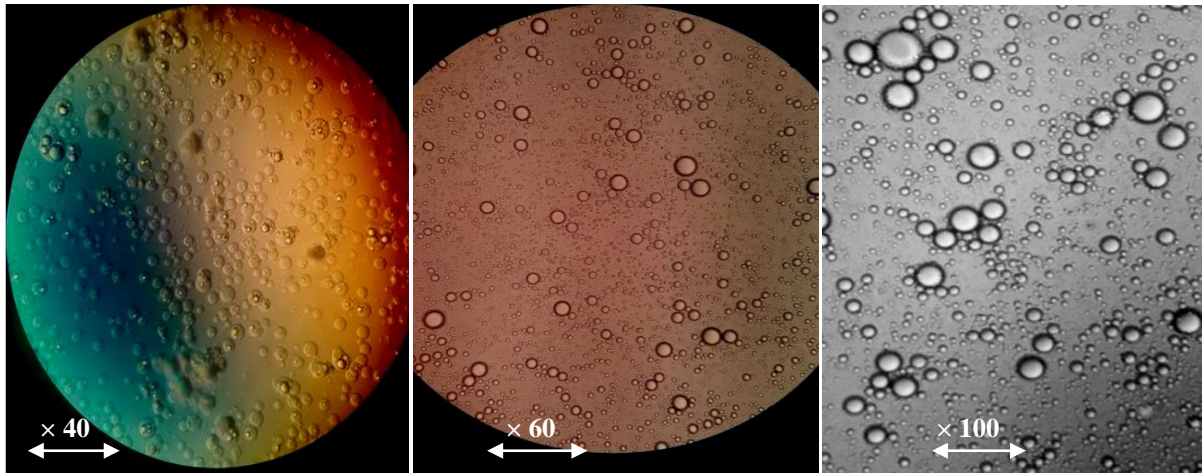
Les images de microscope optique des microcapsules ont été prises à différents grossissements après leur production (fig. 25 et 26). Ces images montrent également les gouttelettes d'HET qui ont été individuellement encapsulées sous forme de particules sphériques de différents diamètres allant de 5 à 50 μm et l'absence d'agglomérat peut également être notée. La différence entre les micrographies est représentée par le nombre de capsules, leur forme et leur taille. Cela prouve que la morphologie des capsules est affectée par la concentration d'HET, des matériaux de paroi et également de l'agent de réticulation.

Les tableaux 9 et 10 résument les conditions d'obtention des capsules par coacervation complexe et émulsion directe. Les microparticules ont une forme ronde et des tailles variées. Les micrographies des figures **25a**, **25b**, **26d** et **25e** montrent différentes tailles avec un grand nombre, au contraire, les micrographies des figures **25c**, **25f**, **26g** et **26h** montrent des capsules rondes plus dispersées de divers diamètres avec moins de nombres que celles obtenues dans les autres tests.

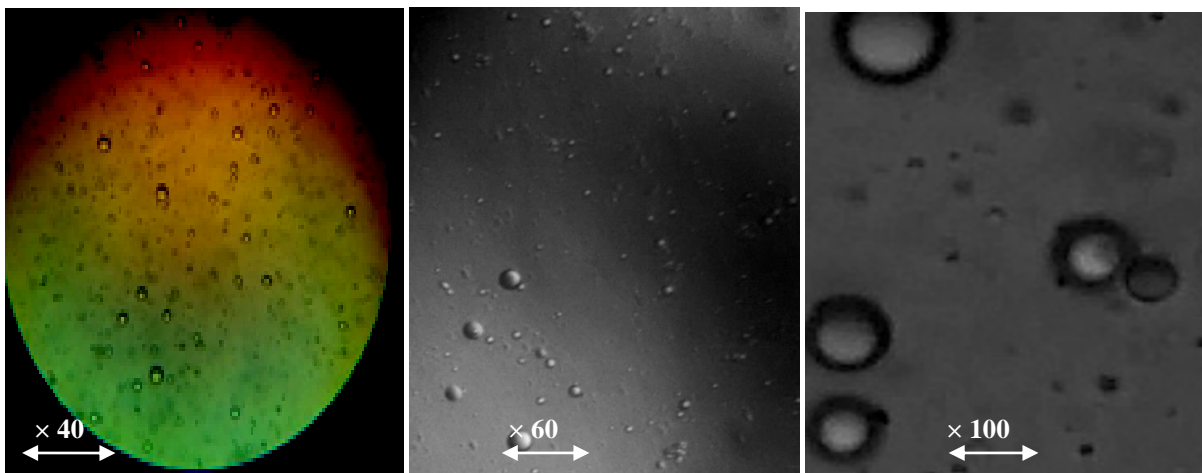
Sur la base de ces résultats, on peut conclure que les conditions opératoires (concentration en polymères, HE et type d'agitation) ont un effet significatif sur la formation des capsules en termes de nombre, de forme et de taille.



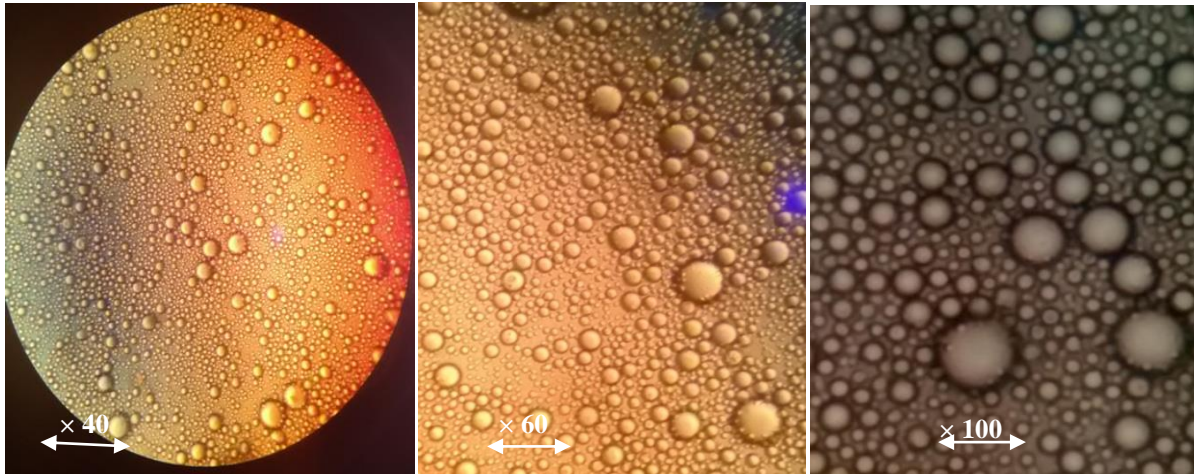
a/ (GE :GAR)=(1% :1%), Agitation magnétique , 5 ml HET , 2 ml Formaldehyde



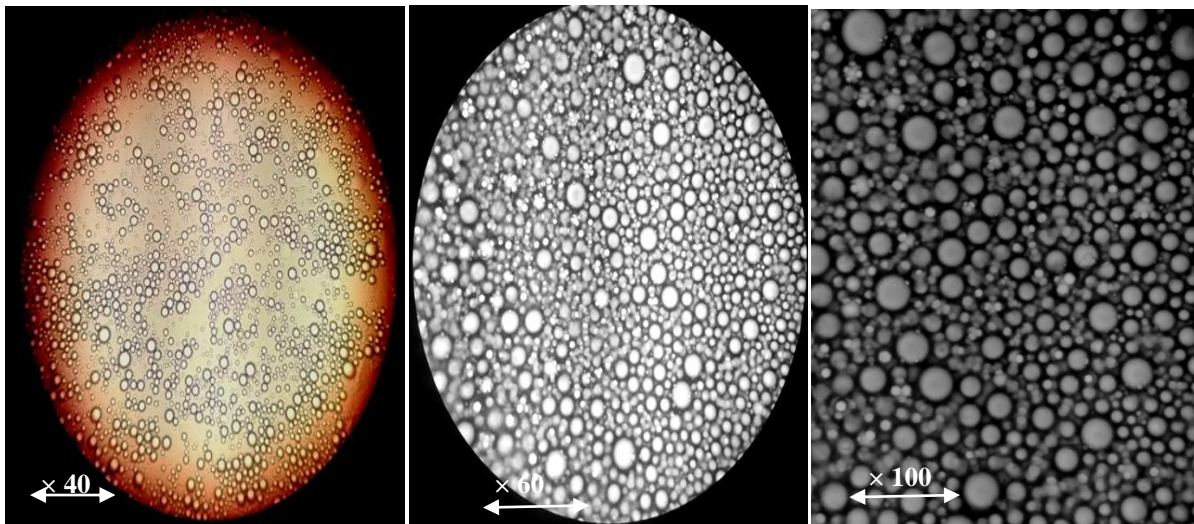
b/ (GE :GAR)=(2,5% :2,5%),Agitation magnétique, 8 ml HET , 2 ml Formaldehyde



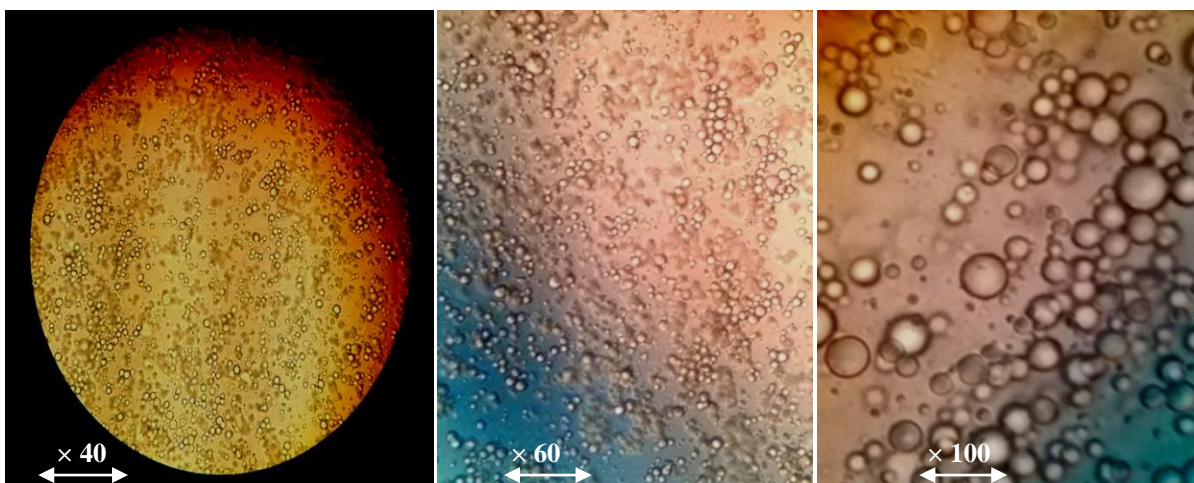
c/ (GE :GAR)=(3% :3%),Agitation magnétique, 1.5 ml HET , 2 ml Formaldehyde



d/ (GE :GAr)=(7% :8%),Agitation magnétique, 10 ml HET , 2 ml Formaldehyde

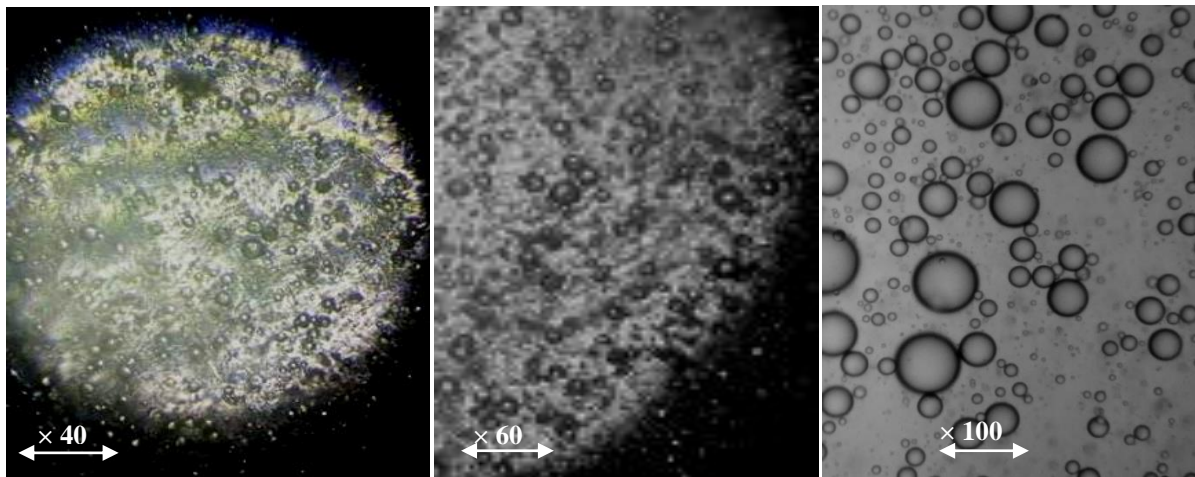


e/ (GE :GAr)=(7% :8%),Agitation mécanique, 10 ml HET , 2 ml Formaldehyde

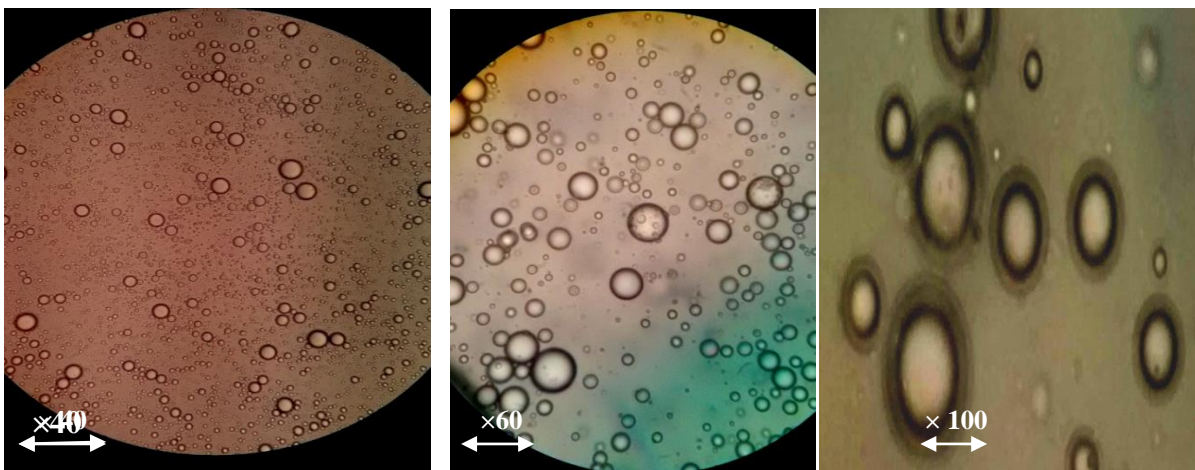


f/ (GE: GAr)= (10% :10%),Agitation magnétique, 14 ml HET, 2 ml Formaldehyde

Figure 25. Photographies de microscope optique des microcapsules obtenues par coacervation complexe



g/ GE (3%), Agitation magnétique, 1.5 ml HET



h/ GE (2,5%), Agitation magnétique, 3 ml HET

Figure 26. Photographies de microscope optique des microcapsules obtenues par émulsion directe

3.1.2 Analyse MEB des microparticules

Les photos du MEB montrent que les microcapsules ont une forme sphérique avec toutes les formulations (fig. 27 et 28), cette forme a été obtenue par d'autres auteurs (**Devi et al., 2012; Martins et al., 2009; Peng et al., 2014**). Le rapport de quantité des polymères, huile essentielle de *Thymus vulgaris*, agent de réticulation et le type d'agitation utilisé dans le processus d'encapsulation affecteront la production des microparticules. Par conséquent, le rapport entre les deux biopolymères est évidemment important dans la formation du complexe électrostatique.

A un certain pH, il existe un rapport spécifique entre les biopolymères, auquel l'électro-neutralité du complexe apporte un maximum de charges opposées portées par la gélatine et la gomme arabique, pour optimiser le nombre de liaisons ioniques et équilibrer les charges électrostatiques de système.

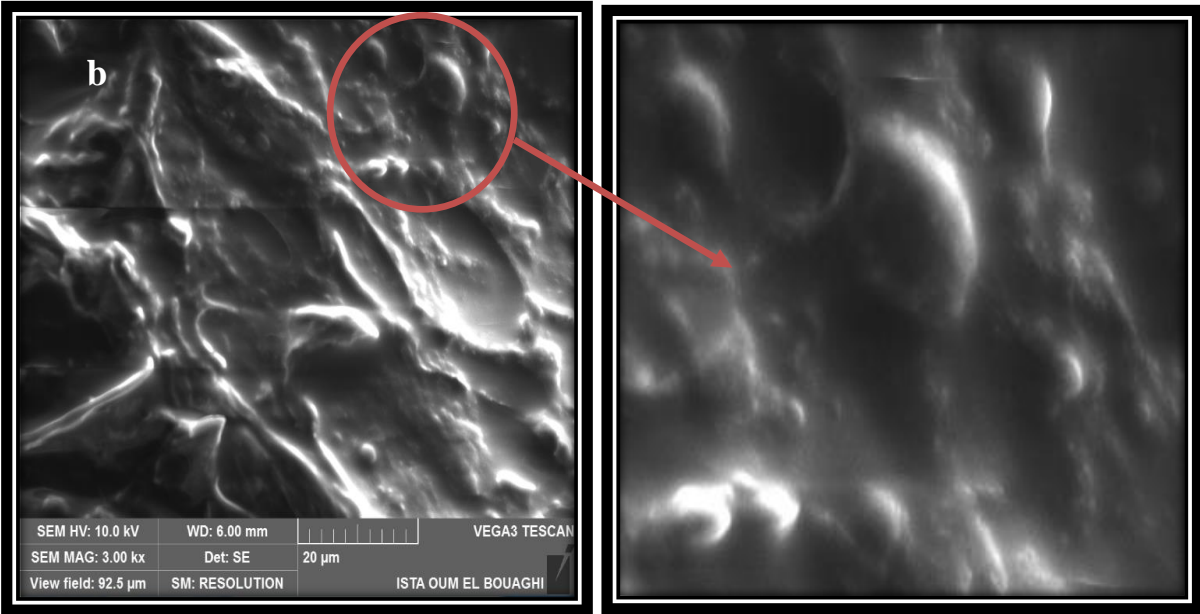
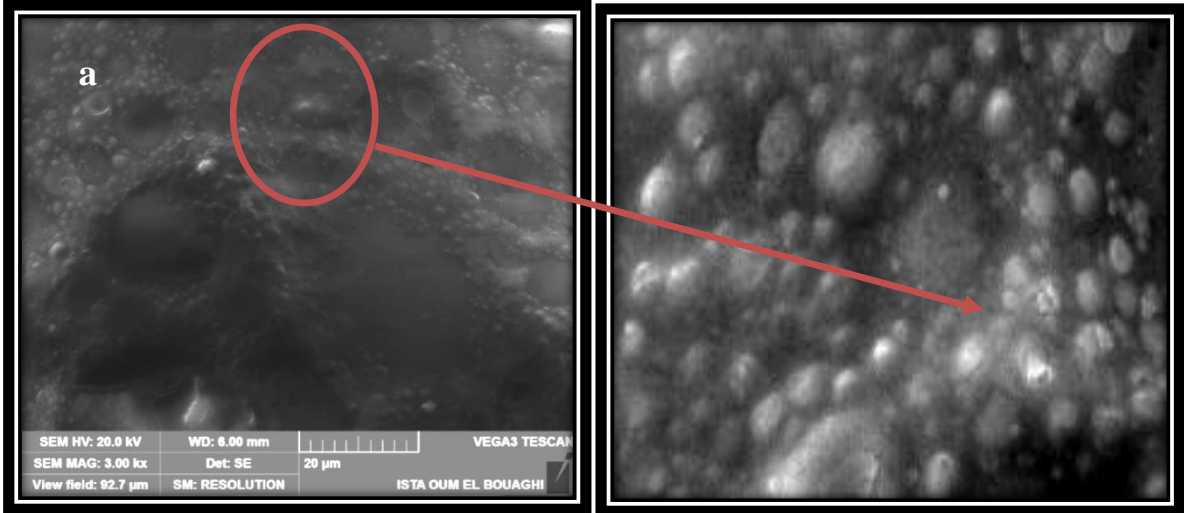
Les micrographies MEB des microcapsules produites en mélangeant des solutions de gélatine et de gomme arabique à différents rapports indiquent des tailles différentes des microcapsules (fig. 27). Petits nombres de microcapsules ont été détectés et il ya un matériau de coquille résiduel tel qu'une matrice (fig. 27c). La porosité des microparticules augmentait lorsque la dilution de la solution de polymère était augmentée ou la concentration de polymère était réduite. Cela pourrait être du à l'évaporation de l'eau de la surface mince de polymère des microparticules produites par une solution de polymère diluée avec un rapport de 1%:1% (fig. 27a). De plus, une augmentation du rapport des polymères, conduit à une production d'une matrice adhérente et immergente (fig. 27b). Ainsi on peut noter que le type d'agitation devient moins efficace en présence d'une plus grande quantité de polymères et par conséquent, des microparticules plus grosses peuvent être obtenues avec une agitation magnétique (fig. 27d).

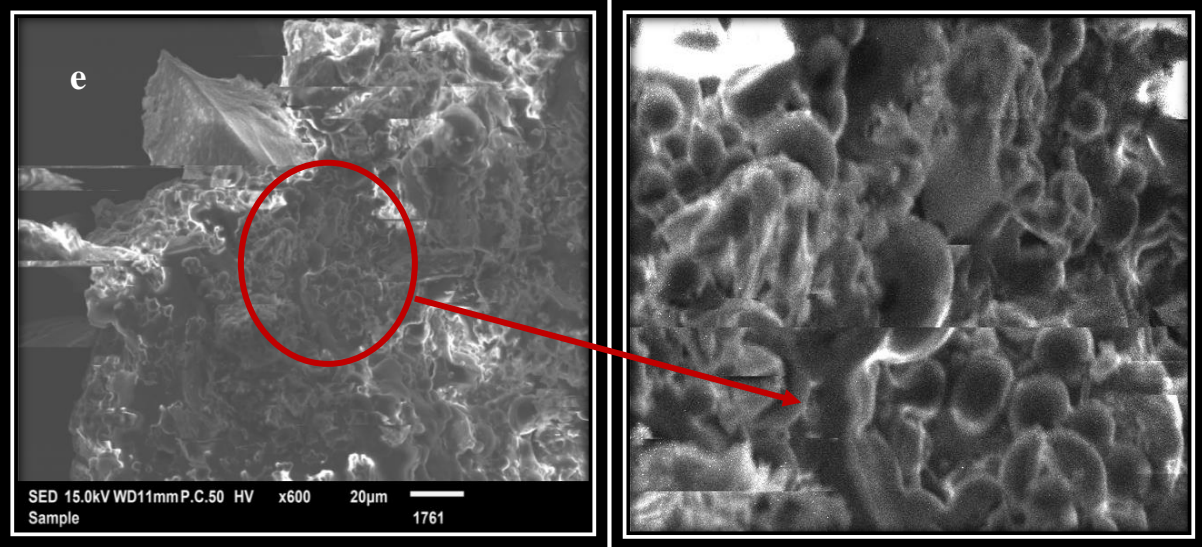
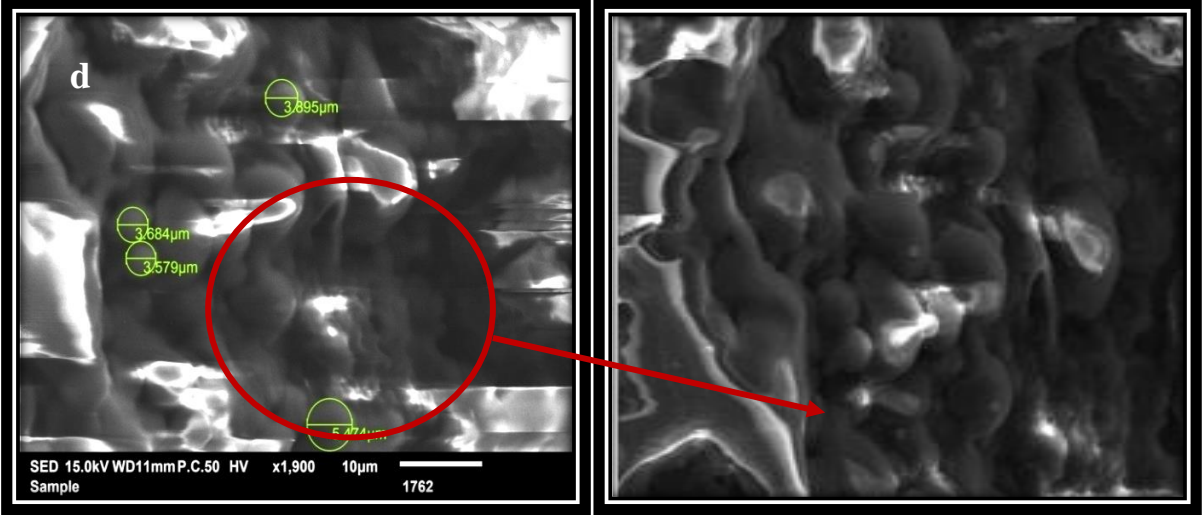
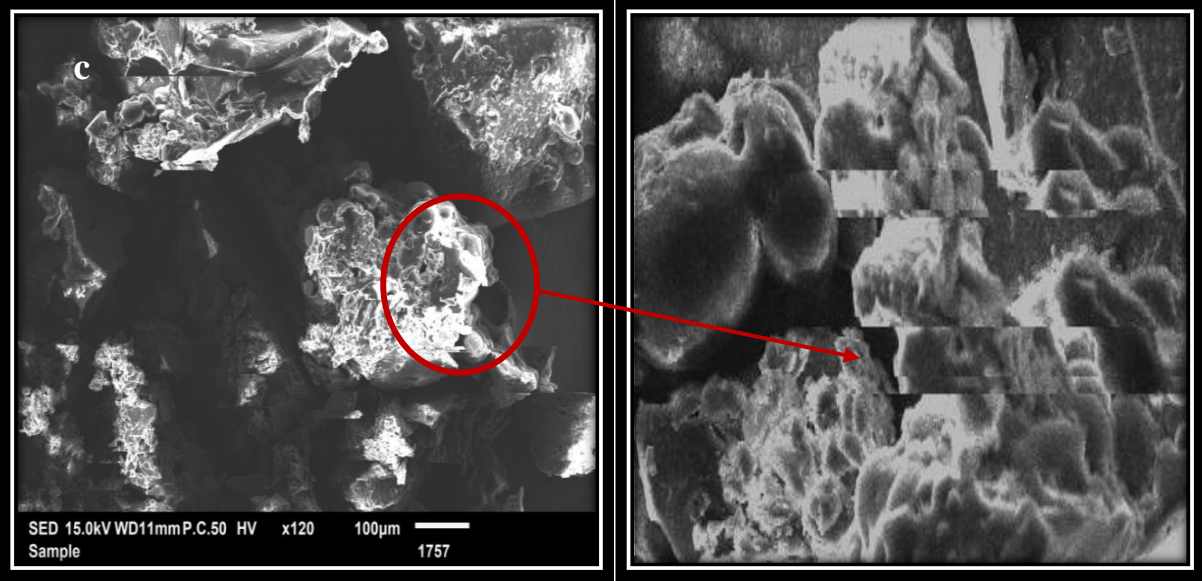
La morphologie homogène non poreuse observée sur la (fig. 27e) sous agitation mécanique a également été mentionnée par **Crotts et Park, (1995)**. En augmentant la quantité de polymère, la quantité de tensioactif utilisée pourrait ne pas pouvoir couvrir complètement toutes les surfaces des microparticules. Cela conduit à la coalescence de certaines microcapsules et à la formation de grosses particules. De plus, on peut s'attendre à ce que la solution de polymère hautement concentrée augmente non seulement la viscosité initiale de la phase polymère, mais également la solidification du polymère (fig. 27f).

La (fig. 28) montre les capsules du MEB produites par émulsion directe. Les particules ont un diamètre plus grand, mais elles sont plus agglomérées. Ce résultat peut s'expliquer par la présence d'une seule phase composée de la gélatine. La solution de polymère forme une matrice continue autour des gouttelettes d'huile et leur image du MEB ne montre que quelque particule à la surface de la matrice (fig. 28h).

Sur la base de l'analyse réalisée, il est possible de noter que les formulations **d** et **e** ont donné les meilleurs résultats avec un ratio de polymère de 7%: 8% et le formaldéhyde comme

agent de réticulation pour la coacervation complexe et la formulation **h** pour l'émulsion directe. A cette fin, les prochains sous section abordent l'amélioration de ces formulations.





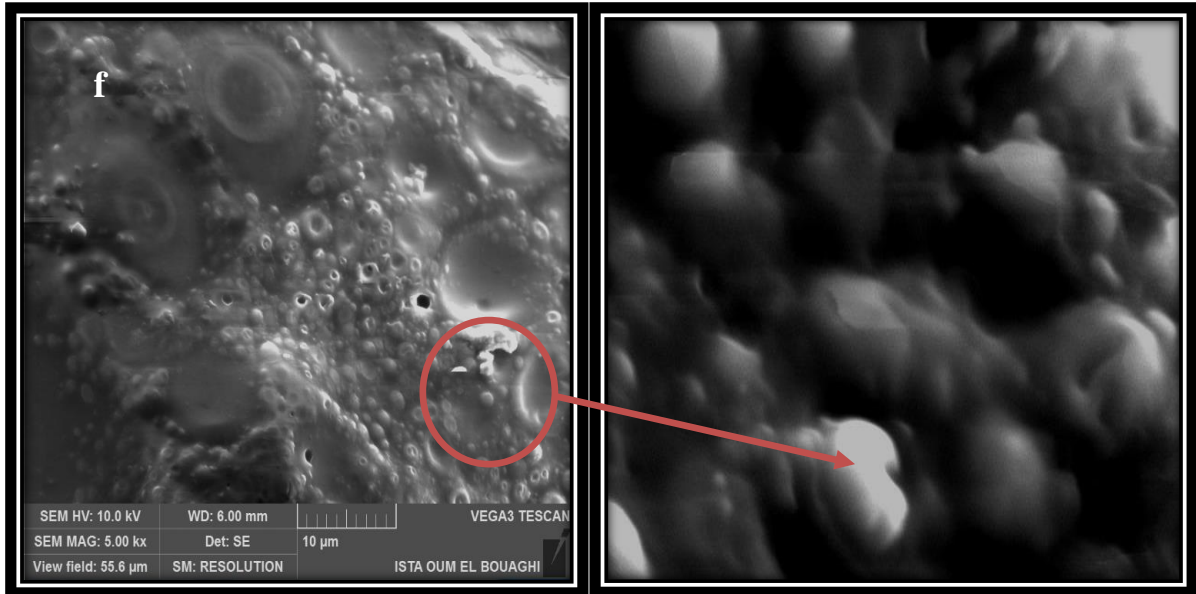


Figure 27. Photos du MEB des particules obtenues par coacervation complexe

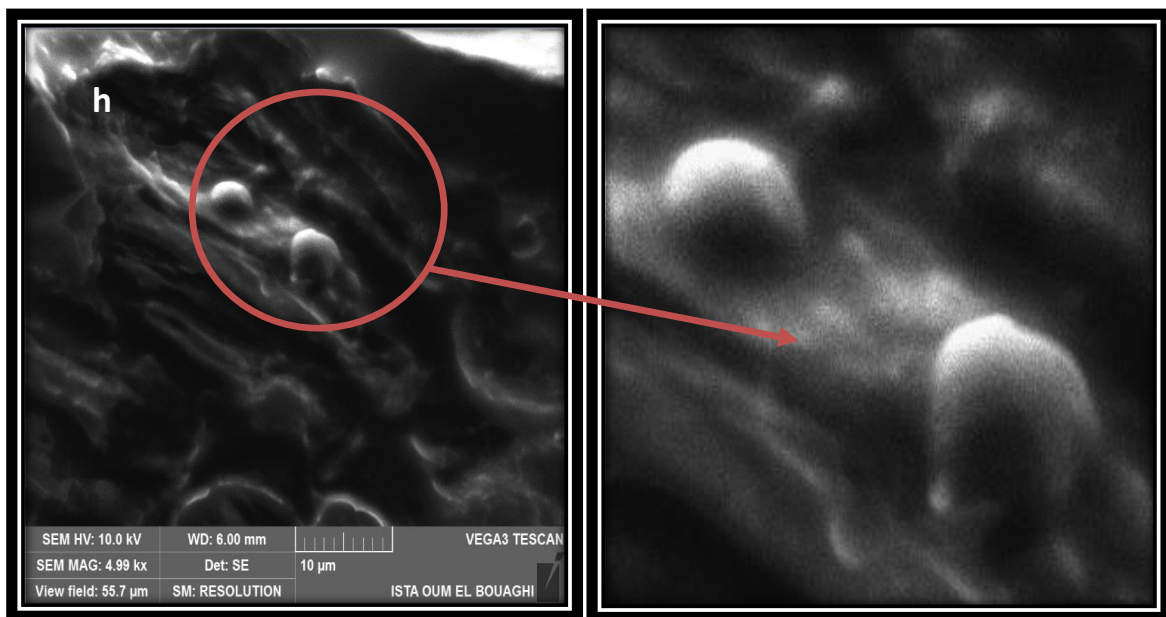


Figure 28. Photos du MEB des particules obtenues par émulsion directe

4. Rendement et efficacité d'encapsulation

4.1 Rendement du processus d'encapsulation

Les résultats montrent que le rendement d'encapsulation est de $65,67 \pm 4,04$ et $98 \pm 1\%$ pour la coacervation complexe et l'émulsion directe, respectivement. L'analyse statistique indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux méthodes, où sa valeur $p >$

0,05 comme le montre dans le tableau 12. Pour une coacervation complexe, nos résultats sont cohérents avec ceux de plusieurs auteurs tels que (**Banerjee et al., 2013; Ribeiro et al., 1999**) qui ont obtenu des rendements compris entre 60 et 80%. Les faibles rendements peuvent être justifiés par la perte d'huile essentielle par évaporation au cours du processus d'encapsulation.

Le rendement plus élevé du processus d'émulsion directe peut être expliqué par la capacité de la gélatine à former une matrice compacte qui peut retenir totalement les gouttelettes d'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, ce protocole conduit à la formation d'une matrice du polymère dans laquelle l'huile est dispersée.

4.2 Efficacité d'encapsulation

L'efficacité d'encapsulation (EE%) obtenue dans ce travail est de $98,22 \pm 0,22$ et $99,4 \pm 0,3$ % pour la coacervation complexe et l'émulsion directe, respectivement. Cependant, ces résultats n'indiquent pas une différence significative dont p valeur $> 0,05$ comme elle est présentée dans le tableau 12. **Lertsutthiwong et al., (2008)** ont rapporté un pourcentage de récupération d'huile de curcuma dans des nanocapsules d'alginate de 52%, alors que **Enascuta et al., (2018)** ont noté que l'efficacité d'encapsulation de l'huile de thym est de 88,37 à 96,23 %.

Concernant le pourcentage d'efficacité, il est possible d'établir une relation inverse entre la teneur en huile essentielle et ce pourcentage. Ainsi, une augmentation de la teneur en huile essentielle de *Thymus vulgaris* diminue significativement le pourcentage de l'efficacité d'encapsulation (tableau 11). Cette constatation corrobore le résultat rapporté par (**Hosseini et al., 2013**) qui ont remarqué qu'une augmentation de la teneur en huile essentielle d'origan de 1% à 3% conduit à une diminution de 21% de l'efficacité d'encapsulation des microcapsules.

Tableau 12. Efficacités et rendements d'encapsulation par les deux méthodes

	Coacervation Complexe %	Emulsion Directe %
Rendement Encapsulation (Rdt)	$65,67 \pm 4,04$	98 ± 1
Efficacité Encapsulation (EE)	$98,22 \pm 0,22$	$99,4 \pm 0,3$

Les valeurs sont des moyennes \pm (SD) de trois répétitions. Il n'y a pas de différence significative entre les deux méthodes d'encapsulation p valeur est $> 0,05$

La diminution d'EE% due à l'augmentation de la teneur en HET peut être expliquée par la capacité limitée de la capsule à contenir de l'huile. Lorsque la teneur en huile est augmentée, une quantité importante d'huile se trouve à proximité de la surface des microcapsules et lors du séchage, cette huile est perdue par volatilisation, ce qui réduit probablement de EE%.

De plus, le degré de dispersion de HET dans la microcapsule pendant l'encapsulation est déterminant pour le pourcentage d'EE. Des rendements significatifs sont obtenus pour une vitesse d'agitation de 18.000 rpm. En fait, un degré plus élevé de dispersion de HET peut permettre la génération de petits amas de HET dans les microcapsules. Ces derniers sont finement répartis entre les chaînes des polymères. **Banerjee et al., (2013)** ont rapporté que le meilleur pourcentage d'EE est obtenu à 18.000 rpm à une concentration de 2% d'huile essentielle (v/v).

Les résultats présentés dans le tableau 11 indiquent que tous les composants du HET sont partiellement encapsulés. La variation d'efficacité d'encapsulation des composés aromatiques peut être expliquée par les différences d'affinité présentées par les composants d'huile essentielle pour le matériau de la coque. Ce dernier est représenté par le système gélatine /gomme arabique ou uniquement la gélatine, l'agent de réticulation et la phase aqueuse. L'affinité des composés est liée à leurs propriétés physiques et chimiques telles que la polarité de la molécule (**El Miz et al., 2014; Nguemtchouin et al., 2009**).

La quantité de monoterpènes oxygénés encapsulés représente 78,34 et 74,31% de la quantité totale enrobée, tandis que la quantité d'hydrocarbures monoterpènes est d'environ 16,03 et 19,77%, les hydrocarbures sesquiterpènes représentent 3,7 et 4,2 % de l'huile totale encapsulée en coacervation complexe et en émulsion directe, respectivement (figure 20). Comme les monoterpènes oxygénés sont plus polaires que les autres composés, ils sont plus attirés par les parties apolaires des composés tensioactifs et du matériau de la coque. Les résultats indiquent que les autres composants apolaires de HET sont attirés par la chaîne hydrocarbonée du tensioactif plutôt que par l'eau. Par conséquent, certaines fractions massiques dans les microcapsules augmentent par rapport à celle de HET (**Martins et al., 2009, 2011**). Ce résultat confirme que l'efficacité totale d'encapsulation dépend de l'encapsulation individuelle des composants polaires et apolaires de HET qui contribuent avec des quantités différentes à la valeur globale (**Mayya et al., 2003; Mohamed, 2006**). Le thymol et le carvacrol sont les principaux constituants du HET (56,8 et 23,84 %)

respectivement. La variation de l'efficacité d'encapsulation de chaque composé d'huile essentielle montre des capacités de rétention variable. Pour les méthodes de coacervation complexe et l'émulsion directe, les capacités de rétention diminuent respectivement dans l'ordre suivant : thymol (47,03-42,05 %), α -cymène (12,6-6,54%), caryophyllène (0,74-0,05%). Les fractions massiques des autres composés augmentent par rapport à celles de l'huile essentielle brute comme le carvacrol (49,95%) en coacervation complexe et l' α -terpinène (0,2%) en émulsion directe, cela peut être dû à la quantité d'huile essentielle liée à la surface des capsules.

5. Evaluation FTIR des microcapsules produites

La (fig. 29) montre les spectres FTIR d'HET pure, microcapsules et matériaux de paroi, ainsi que la comparaison entre les nombres d'onde entre eux. Dans ce travail, l'analyse FTIR a été utilisée pour confirmer le succès d'encapsulation par l'inclusion de HET, de gélatine et de gomme arabique dans les microcapsules. Les résultats de l'analyse spectrale indiquent que les échantillons sont similaires, les seules différences observées étant dans l'intensité des pics.

Selon les spectres FTIR de la (fig. 29a), l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* présente une vibration O – H à 3373 et 3511 cm^{-1} pour le thymol et le carvacrol, une forte bande de vibration C – O à 1195 cm^{-1} , des liaisons, C – H à 2873 et 2963 cm^{-1} , une vibration d'étirement N – H à 1554 cm^{-1} , des vibrations d'étirement C – H à 1485 et 2954 cm^{-1} et un large pic d'absorption d'étirement O– H à 3200 à 3400 cm^{-1} . Les pics caractéristiques dans le spectre du contrôle (polymères sans huile essentielle) (fig. 29b) peuvent être visualisés à 1635 cm^{-1} une vibration d'étirement C=O qui se trouve dans la gélatine, ainsi qu'une vibration d'étirement O – H à 3273 cm^{-1} qui se trouve dans la gomme arabique. Cela confirme les interactions entre les deux polymères.

Les spectres ont montré des signaux à 2925-2966 cm^{-1} correspondant aux groupes aliphatiques CH, CH₂, CH₃. Au cours du processus de coacervation complexe, les interactions électrostatiques entre les groupes amine de GE en tant que groupe positif et les groupes carboxyliques libres de GAR en tant que groupe négatif pourraient être confirmées par la génération de la bande amide qui observée environ 1655 cm^{-1} , une vibration d'étirement N – H à 1566 cm^{-1} , une vibration d'étirement CH₃ à 1378 cm^{-1} et une vibration d'étirement O – H à 3458 cm^{-1} dans le spectre de microcapsules (fig. 29c). De plus, des pics sont observés à

1645, 1541 cm^{-1} , indiquant qu'une liaison C = O et N – H respectivement sont générées dans la microcapsule obtenue par émulsion directe (fig. 29 d), d'autres pics peuvent être observés à une fréquence variée, une vibration d'étirement O – H à 3291 cm^{-1} du fait de l'incorporation d'HET dans un seul polymère qui est la gélatine.

Il est important de souligner que les changements les plus courants représentant la formation d'une molécule complexe sont les décalages des signaux, indiquant l'occurrence des liaisons entre les constitutions des huiles et les polymères. **Park et al., (2001)** ont rapporté que des vibrations spécifiques ou des bandes d'huile de citron ne sont pas clairement observées dans les spectres FTIR des microcapsules. Ces résultats sont également décrit l'incorporation réussie d'HE dans la microcapsule et la stabilité chimique après encapsulation.

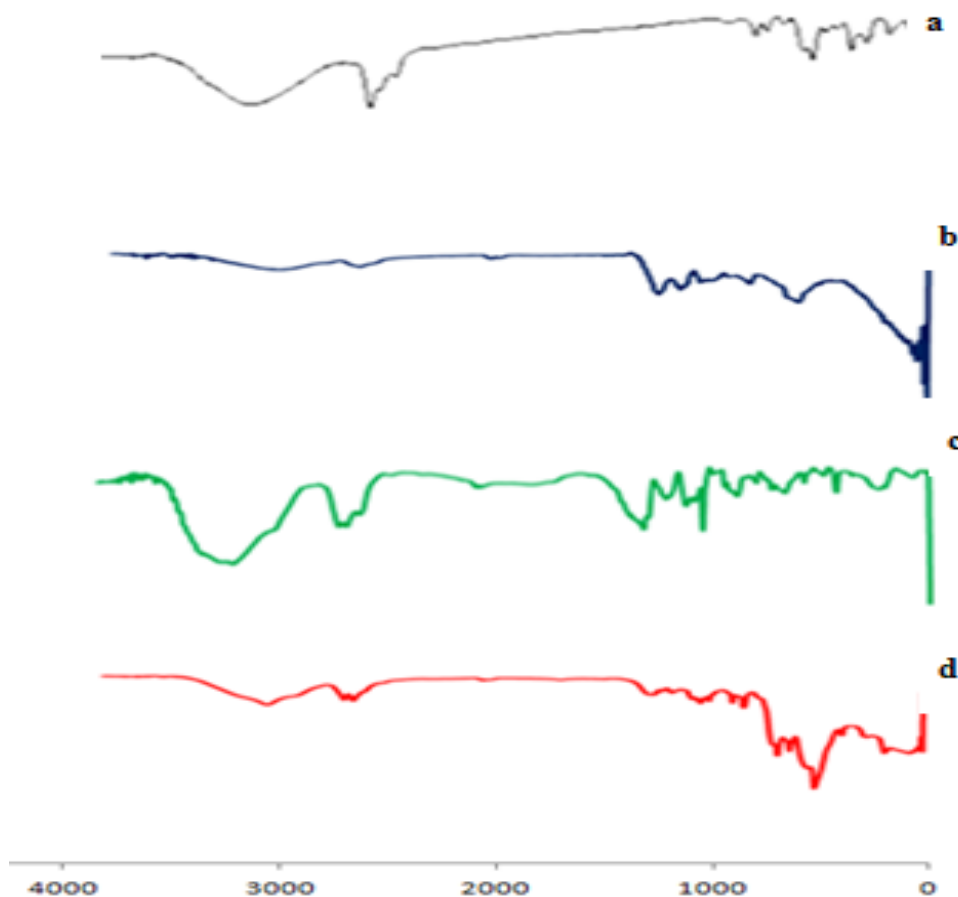


Figure 29. Spectres FTIR de (a) HET, (b) contrôle (polymères GE : GAr), (c) microcapsules de coacervation complexes et (d) microcapsules à émulsion directe

6. Analyse thermogravimétrique (TGA)

L'analyse thermogravimétrique (TGA) de l'huile essentielle pure, du matériau de paroi et des microcapsules est illustrée dans la (fig. 30). Les courbes thermographiques décrivent les différentes pertes de masse pour chaque composant, indiquant la décomposition thermique à différentes étapes.

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a un profil TG typique avec deux étapes d'évaporation. La première étape commençant à 100°C et se terminant à 160°C, avec une perte de poids maximale de 58%, correspond à la décomposition de nombreux composés aromatiques en HET à bas point d'ébullition. La deuxième perte de poids s'est produite de 160 à 275 °C, ce qui a été en raison de ceux à point d'ébullition élevé. La TGA de gélatine et gomme arabique a été réalisée, permettant d'observer le comportement thermique de la matrice, elle comporte deux étapes, ainsi que les microcapsules présentent trois étapes.

Les résultats de cette étude indiquent que la perte de masse maximale d'HET est de 98,74% autour de 275°C, l'huile étant complètement évaporée. Ces événements thermiques sont rapportés par (**Bezerra et al., 2016**) qui mentionnent que la plage de température pour l'évaporation totale de l'huile essentielle de citronnelle est comprise entre 201 et 207°C. Considérant, les matériaux de paroi, une dégradation thermique a été observée, dans la première étape une perte de masse, s'étendant jusqu'à 150°C est de 2,8 % pour la gélatine et la gomme arabique indique l'évaporation de toute l'eau résiduelle présente dans ces composés (**Torini et al., 2005**). Dans la deuxième étape, un comportement similaire est également observé pour la zone de décomposition dans un même intervalle de 200 à 500°C en termes de perte de poids (77,93 et 63,55 % respectivement) et finie avec la masse résiduelle (23,83 et 22,62% respectivement).

Pour les microcapsules, plusieurs événements thermiques sont observés. Une première étape avant 110°C, une perte de masse environ 2 % et 8% enregistrée pour les capsules obtenues par coacervation complexe et émulsion directe, respectivement, cela est due à l'évaporation d'une petite quantité d'eau adsorbée à la surface des microcapsules. La deuxième étape de perte de masse se produit dans la plage de température supérieure de 230 à 280°C ; la perte de poids observée environ 48% par les deux méthodes est due à la détérioration initiale de la paroi de la coque. La troisième étape, une dégradation des microcapsules dans un intervalle de température de 280 à 470°C, et ce dernier est en accord

avec celle de dégradation de gélatine et gomme arabique, ou ces derniers sont totalement décomposés.

La décomposition des microcapsules obtenues par émulsion directe sont plus rapide que celle obtenus par coacervation complexe. Cette différence peut s'expliquer par la fragilité du matériau de la paroi et la porosité de la matrice gélatineuse qui permet à l'huile essentielle de se diffuser plus rapidement.

Cette gamme de résultat est en bon accord avec les résultats obtenus par (Al-Shannaq *et al.*, 2015; Enascuta *et al.*, 2018). Autre résultats similaires ont été obtenus par (Fei *et al.*, 2015) pour la microencapsulation d'huile essentielle de rose. Yang *et al.*, (2014) ont rapporté que la plage de température de décomposition des matériaux de noyau et d'enveloppe est de 280 à 429°C dans la préparation de microcapsules utilisant du chitosane et de la gomme arabique.

De plus, l'analyse thermique confirme que le procédé de microencapsulation donne une stabilité thermique élevée à la microcapsule par rapport à l'huile libre et confirme également que la microencapsulation protège l'huile, la rendre plus résistante à l'évaporation.

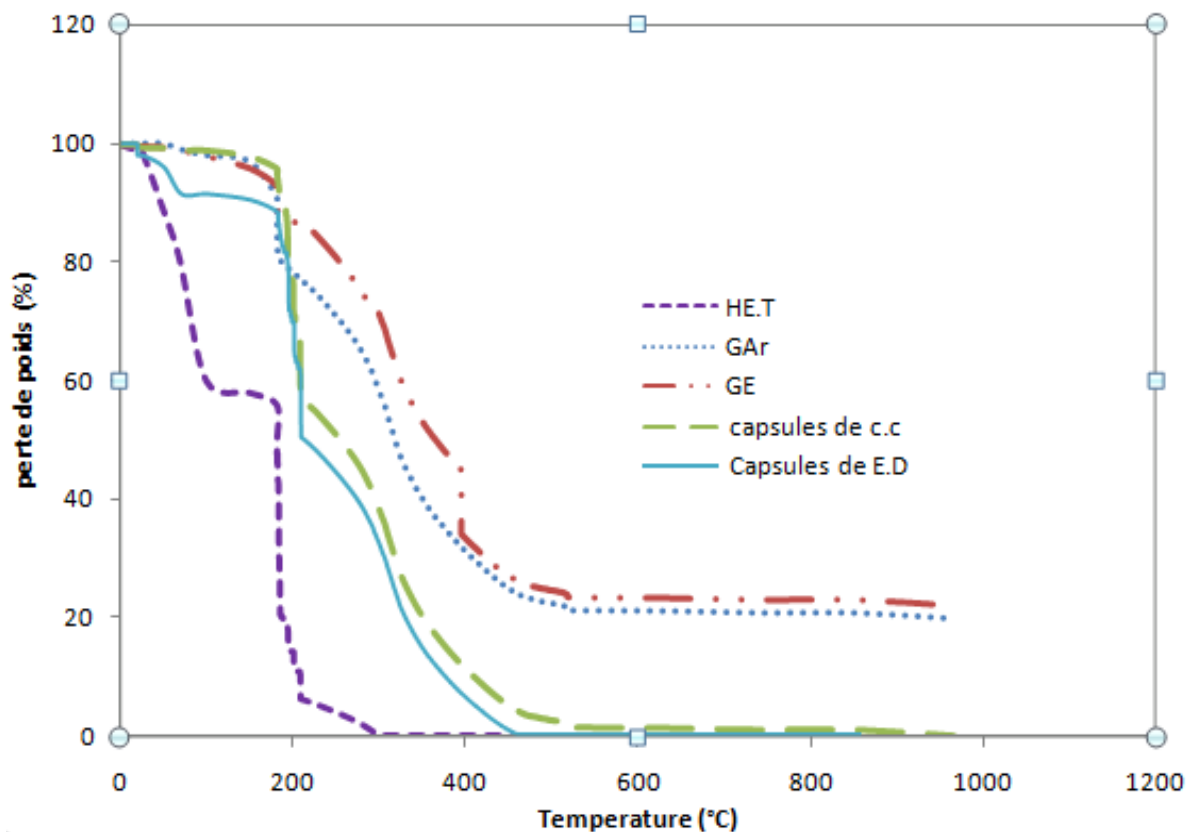


Figure 30. Thermogrammes comparatifs pour d'HET, les microcapsules, polymères

7. Cinétique de libération

Les expériences de cinétique de libération montrées sur la (fig. 31) ont été menées pour mesurer la vitesse de libération de HET encapsulé à température ambiante en fonction de sa volatilité.

La substance bioactive est incorporée à l'intérieure de la microcapsule ; par conséquent, la libération est contrôlée par la diffusion d'huile à partir du noyau à travers le revêtement de membrane. Les résultats montrent que la microcapsule a un taux de libération d'eau très faible dans la première étape, après elle donne peut être un taux de libération de HET liée à la surface des microcapsules. Ainsi la cinétique de libération est plus rapide pour les capsules obtenues par émulsion directe.

Cette étude confirme l'impact de la structure du revêtement sur la cinétique de libération des composés aromatiques. En effet, la couche d'enrobage de l'émulsion directe est formée d'une matrice gélatineuse, plus fragile que celle obtenue par association de deux polymères en coacervation complexe.

Ces résultats prouvent le succès de l'encapsulation des composés actifs en termes de stockage, de protection et de libération. De plus, une différence entre les deux techniques d'encapsulation est observée. La méthode de l'émulsion directe a un revêtement poreux et plus fragile, moins stable thermiquement et permet à l'huile essentielle d'être délivrée plus rapidement. Il en résulte en contraste avec les résultats obtenus par coacervation complexe qui offre un profil de libération plus lent et une meilleure stabilité thermique.

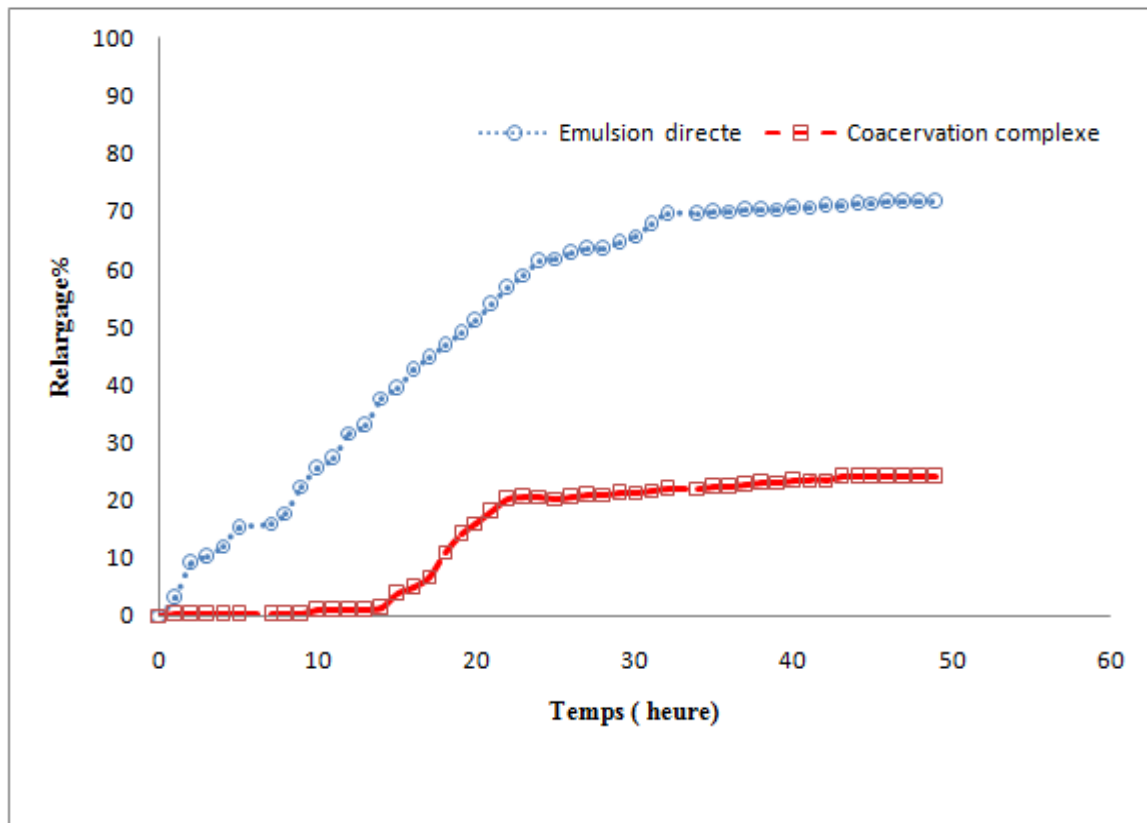


Figure 31. Cinétique de libération à partir de microcapsules préparées par coacervation complexe et émulsion directe

8. Evaluation des activités biologiques

8.1 Activité antioxydante

8.1.1 Détermination de l'activité antioxydante des huiles essentielles

Les résultats de l'analyse de l'activité antioxydante par la méthode de (DPPH) des huiles essentielles, pure et extraite des capsules sont décrits dans le tableau 13 :

Tableau 13. Activité antioxydante d'HET pure et extraite des capsules obtenues par les deux méthodes

Activité antioxydante	Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH (%)
HET	95,88±1,70
HE.CC	90,81±3,28
HE.ED	90,93±3,95

Les valeurs sont des moyennes \pm (SD) de trois répétitions. Les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes pour $P < 0,05$

Pour l'huile de thym pure le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est de 95,88 %, ce résultat est similaire à celui rapporté dans la littérature (62,9 à 93,4%) (**Radünz et al., 2020**), et peut être principalement attribué aux phénols monoterpéniques, (thymol 56,38% et carvacrol 23,84%) qui représentent les principaux constituants d'huile essentielle de *Thymus vulgaris*. En effet, différentes études ont montré la forte activité antioxydante de ces composés (**Esmaeili et Khodadadi, 2011**), ce qui est en accord avec nos résultats.

L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH, l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène.

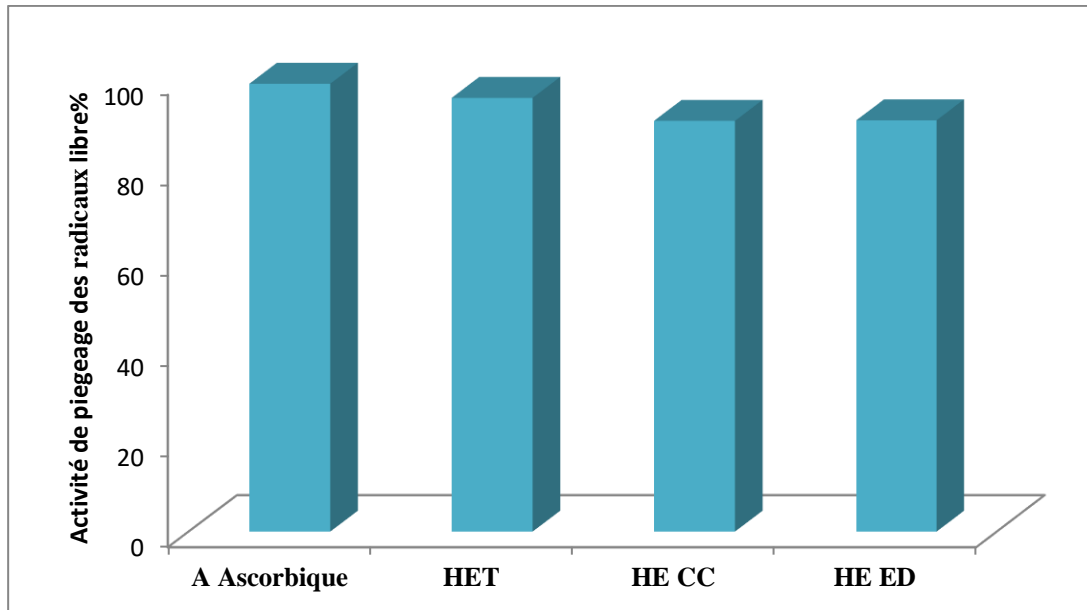


Figure 32. Pourcentage de piégeage des radicaux libre par l'HET pure et extraite des capsules

Le pourcentage d'inhibition pour l'huile essentielle extraite des capsules est 90,81 et 90,93 % pour la coacervation complexe et l'émulsion directe, respectivement. L'analyse statistique montre qu'il n'y a pas une différence significative entre ces huiles et l'HET pure. Cela indique que l'huile essentielle a été vraiment protégée par la coque (polymères) et ces dernières n'affectent pas les propriétés d'huile essentielle ainsi que leur efficacité. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle avec une concentration de 1,4 mg/ml (fig. 32).

8.1.2 Détermination de l'activité antioxydante des microcapsules

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres en utilisant les capsules se fait par 3 tests est 70,51 ; 65,59 ; 75,51 et 96,06 ; 95,40 ; 84,25 % pour la coacervation complexe et l'émulsion directe, respectivement, comme indiqué dans le tableau 14 :

Tableau 14. Activité antioxydante des capsules d’HET obtenues par les deux méthodes

Activité antioxydante	Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH (%)			
	Contrôle (C.C)		Contrôle (ED)	
	3.15		2.02	
	Capsules (C.C)		Capsules (ED)	
	30 min	2h	30min	2h
Test 1	70.31	70.30	96.06	96.05
Test 2	65.59	75.13	95.41	95.40
Test 3	75.51	80.01	84.25	84

Les valeurs sont des moyennes ± (SD) de trois répétitions. Il n’y a pas de différence significative entre les deux capsules $p < 0.05$ pour les deux temps d’incubations.

Ces résultats prouvent que l’HET se diffuse de l’intérieur vers l’extérieur de la capsule à travers la paroi (polymères). La diffusion d’HET des capsules formées par la méthode de coacervation complexe est lente de 65,59 à 75,13 % et de 75,51 à 80,01 % après 2 heures en comparaison avec leur contrôle 3,15%; tandis que celles obtenues par l’émulsion directe sont rapide et presque complète, reste 96.05% après 2 heures, en comparaison avec leur contrôle 2.02 % (tableau 14) et (fig. 33), cela peut être dû à l’interaction des composés d’HET avec le matériau de la paroi qui ne permettant pas leur libération complète (Dandlen *et al.*, 2008; Viuda-Martos *et al.*, 2008).

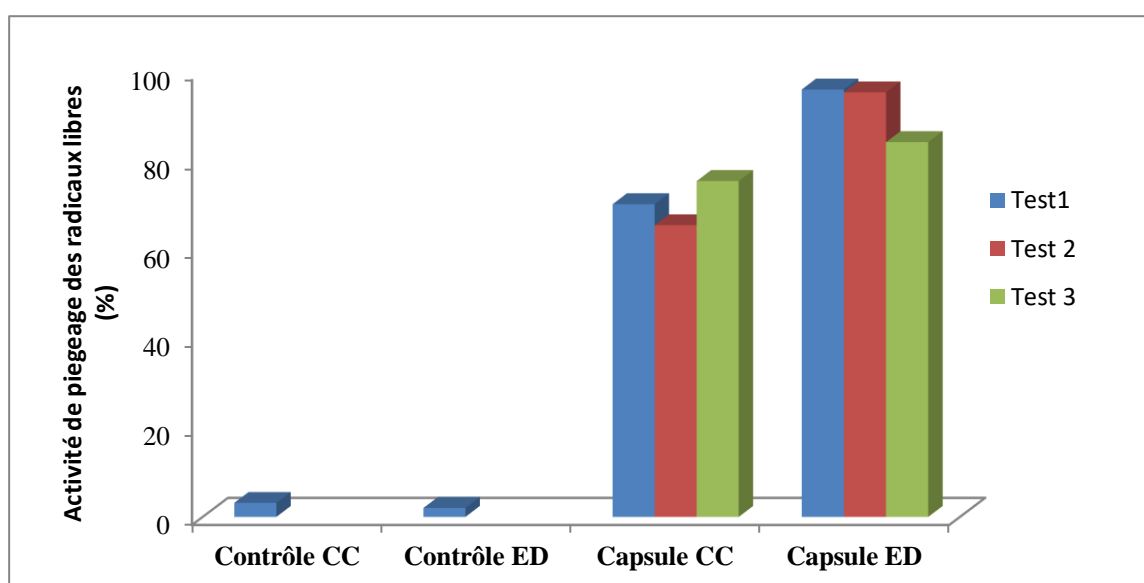


Figure 33. Pourcentage de piégeage des radicaux libre par des capsules d’HET

8.2. Activités antibactériennes

8.2.1 Détermination de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

La méthode de diffusion sur disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir Antibactérien des l'huiles essentielles vis-à-vis de quatre bactéries. Les zones d'inhibition sont indiquées dans le tableau 15.

D'après la classification de (Djeddi *et al.*, 2007; Ponce *et al.*, 2003) les zones d'inhibition, variant entre 9 et 14 mm, indiquent que les souches sont sensibles à l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* , ainsi que >20 mm est extrêmement sensible.

Le tableau 15 et la (fig.34 et 35) présentent l'activité antibactérienne d'HET pure et extraite des capsules formées par la méthode coacervation complexe et l'émulsion directe.

Tableau 15. Activité antibactérienne d'HET pure et d'huile essentielle extraite des capsules obtenues par les deux méthodes :

Souche bactérienne	HE brute (mm)	HE.CC (mm)	HE.ED (mm)	Résultats
<i>S. aureus</i>	62±4.35	64±3	60±2	Extrêmement sensible
<i>E. coli</i> ,	44±4,35	41±1,73	41±1	Extrêmement sensible
<i>B. subtilis</i>	68±1,73	66±2	61±1	Extrêmement sensible
<i>P. aeruginosa</i>	12±1	12	12±1,52	Souche sensible

Les valeurs sont des moyennes ± (SD) de trois répétitions. Il n'ya pas de différence significative entre les trois HEs pour P < 0,05

Une très extrême sensibilité a été observée vis-à-vis des 3 souches étudiées avec une zone d'inhibition : *S. aureus* (62 mm), *E. coli* (44 mm), *B. subtilis* (68 mm), avec une souche de *P. aeruginosa* qui a été sensible avec (12 mm) (Fig. 34 et 35).

L'activité antibactérienne de HET a été démontrée dans plusieurs recherches (Cosentino *et al.*, 1999; Cruz *et al.*, 1989; Karaman *et al.*, 2001; Kulevanova et Panovska, 2002; Marino *et al.*, 1999; Reddy *et al.*, 1998). Par comparaison entre les souches, la bactérie la moins sensible aux huiles de thym semble être *Pseudomonas aeruginosa*. Cela n'est pas surprenant concernant cette souche étant donné que celle-ci est connue pour sa très forte résistance à l'action de la plupart des huiles essentielles (Burt, 2004; Dorman *et al.*, 2000).

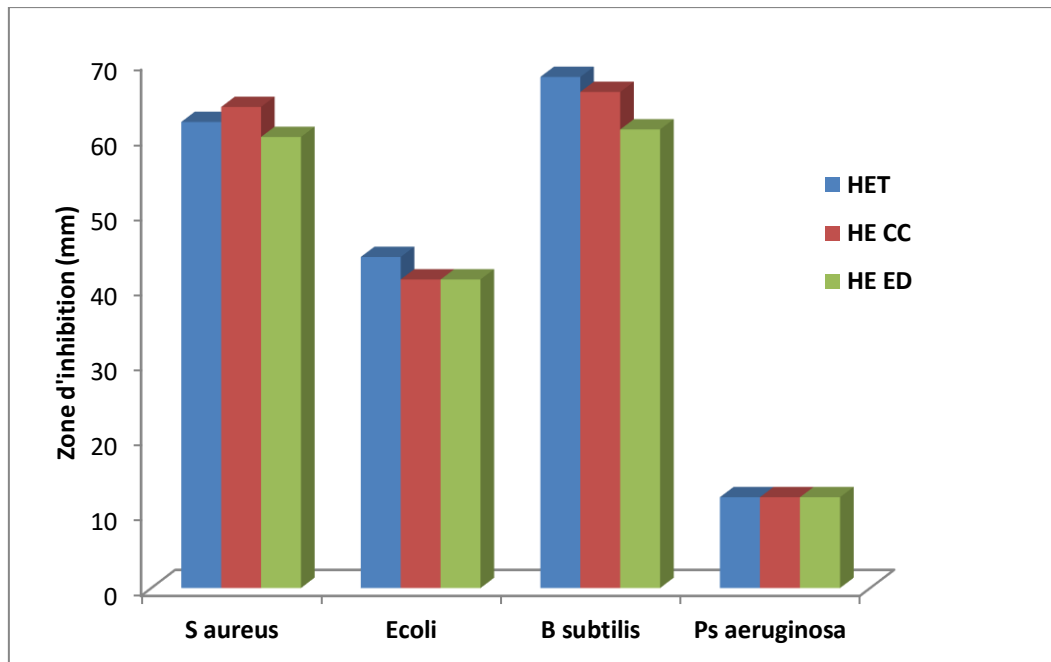


Figure 34. zone d'inhibition d'HET pure et extraite des capsules sur les bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*

L'importante bioactivité de cette essence est en relation avec sa teneur en thymol (56,38%) et carvacrol (23,84 %). En effet, plusieurs auteurs (**Gergis *et al.*, 1990**; **Panizzi *et al.*, 1993**; **Satrani *et al.*, 2007**; **Sivropoulou *et al.*, 1996**), ont montré que les HEs riches en dérivés phénoliques (carvacrol et thymol) possèdent une forte activité antimicrobienne.

Dorman *et al.*, (2000) ont montré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne ainsi que **Lambert *et al.*, (2001)** ont expliqué ce phénomène par le fait que le thymol se lie aux protéines membranaires et fait augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire bactérienne. D'autres travaux ont suggéré aussi que ce composé volatile est responsable de l'inactivation d'enzymes, y compris ceux impliqués dans la production d'énergie et la synthèse des constituants de structure (**Juven *et al.*, 1994**).

Des travaux antérieurs confirment nos résultats et que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* possède un effet antimicrobien puissant contre un large éventail de microorganismes (**Azaz *et al.*, 2004**; **Van Vuuren *et al.*, 2009**). Selon (**Borugă *et al.*, 2014**), la période de la récolte des plantes peut avoir un effet sur l'activité antimicrobienne, dans l'étude approfondie de **Bounatirou *et al.*, (2007)** sur l'effet inhibiteur des huiles essentielles du *Thymus* durant la période de la floraison ont indiqué que la plante exerce un effet inhibiteur plus important.

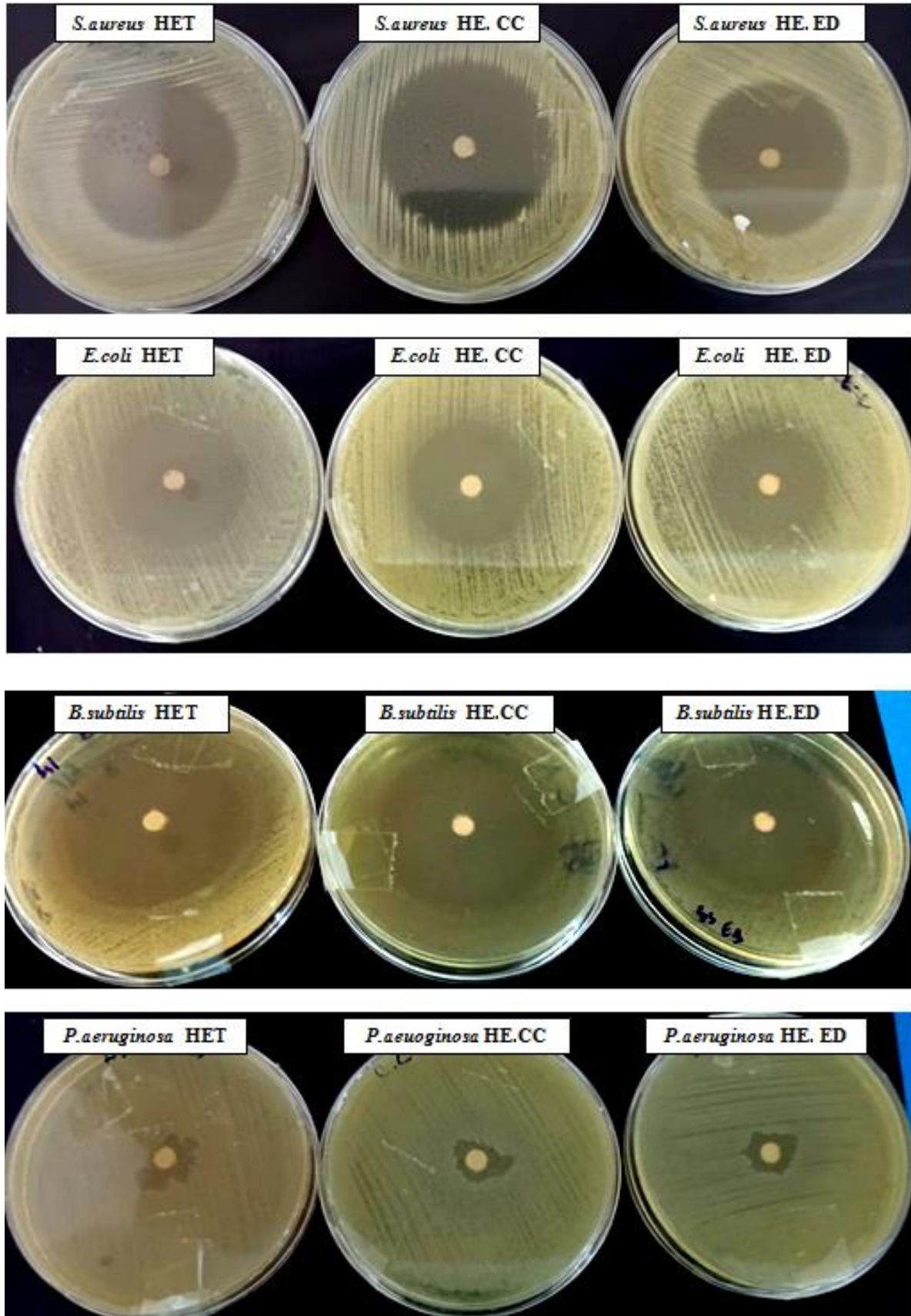


Figure 35. Activité antibacterienne d'HET pure et extraite des capsules sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*

L'huile essentielle encapsulée de *Thymus vulgaris* a été retirée par hydrodistillation afin de comparer ses propriétés avec l'HET pure, Les valeurs d'inhibition sont mentionnées dans le tableau 15 et la (fig. 34), une zone de (64 et 60 mm) pour la souche *S.aureus* ; (41 et 41 mm) pour *E.coli*; (66 et 61 mm) pour *B.subtilis* et enfin (12 et 12 mm) pour *Ps.aeruginosa* pour les HET extraites des capsules formées par coacervation complexe et émulsion directe, respectivement.

Par comparaison, les huiles essentielles extraites des capsules ne présentent pas un effet significatif, elles ont un effet inhibiteur important et identique à celle d'HET pure contre toutes les bactéries évaluées, il convient de noter que les composés d'huiles essentielles n'ont pas été dégradés, ce qui signifie que le processus d'encapsulation n'a causé aucune détérioration d'HET. **Da Silva Barbosa et al., (2021)** indiquent que l'huile essentielle de rose et de cannelle n'a pas été altérée par le processus d'encapsulation.

8.2.2 Détermination de l'activité antibactérienne des microcapsules

Le test de diffusion sur disque a été réalisé pour évaluer l'efficacité des capsules chargées d'HET et leur contrôle contre les microorganismes sélectionnés, les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 16 et 17 :

Tableau 16. Activité antibactérienne des capsules obtenues par les deux méthodes

Souche bactérienne	Capsules CC		Capsules ED		
	24h	48h	24h	48h	
<i>S. aureus</i>	Test 1	22	24	52	57
	Test 2	18	18	54	54
	Test 3	22	23	54	54
<i>E. coli</i>	Test1	12	14	46	48
	Test 2	10	13	45	46
	Test 3	8	8	45	45
<i>B. subtilis</i>	Test 1	18	20	25	26
	Test2	24	24	23	23
	Test 3	16	18	24	24
<i>P. aeruginosa</i>	Test 1	10	13	8	8
	Test 2	8	10	7	11
	Test 3	8	8	6	7

Il y a une différence significative entre les deux capsules des souches *S. aureus* et *E. coli* p valeur est <0.05 , alors qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux capsules des souches *B. subtilis* et *P. aeruginosa* p valeur est >0.05.

Tableau 17 : Activité antibactérienne des contrôles des capsules obtenues par les deux méthodes

Souches bactérienne	Contrôle CC (mm)	Contrôle ED (mm)
<i>S. aureus</i>	6	6
<i>E.coli</i>	6	6
<i>B.subtilis</i>	6	6
<i>Ps. aeruginosa</i>	6	6

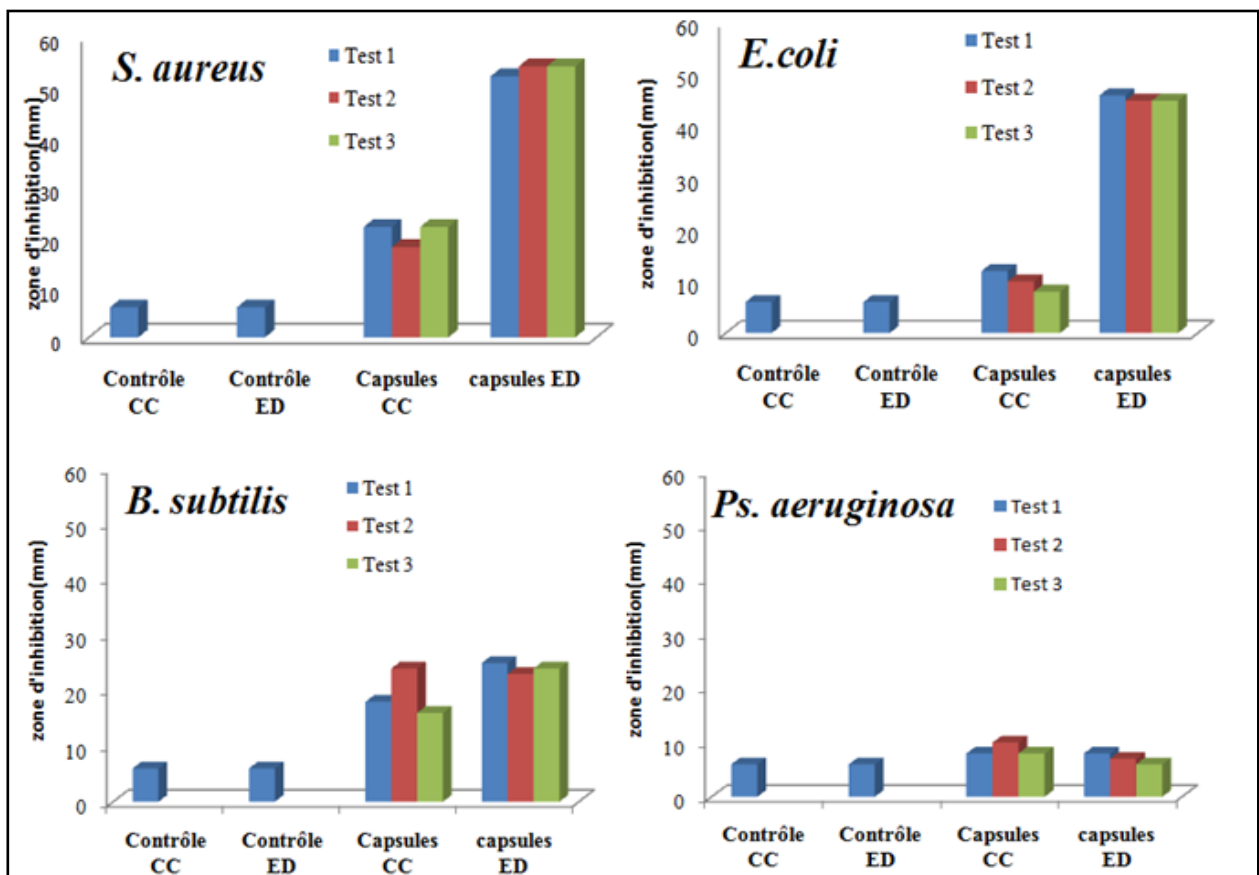


Figure 36. Zone d'inhibition des capsules sur les bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*

Pour les capsules de coacervation complexe, toutes les bactéries ont présenté une zone d'inhibition importante après 24h comprise entre 8 à 24 mm, alors que de 6 à 54 mm pour les capsules de l'émulsion directe en comparaison avec leurs contrôles qui présentent une zone de (6 mm) (fig. 36, 37, 38 et 39). Les résultats observés dans la littérature présentent généralement des halos d'inhibition d'environ 22 à 45 mm (Santos *et al.*, 2019).

Ainsi que les zone d'inhibition peuvent être augmenté, pour *S. aureus* de 22 vers 24 mm, *E.coli* 10 vers 13 mm ; *B.subtilis* 18 vers 20 mm ; *Ps.aeruginosa* de 10 vers 13 mm concernant les capsules de coacervation complexe. Cependant, pour *S. aureus* de 52 vers 57 mm, *E.coli* 46 vers 48 mm; *B.subtilis* 25 vers 26 mm ; *Ps.aeruginosa* de 7 vers 11 mm concernant les capsules d'émulsion directe. **Raksa et al., (2017)** a été noter les zones d'inhibition de 11.5 à 13 après 72h pour les capsules d'huile essentielle de Zeste de citron contre *s.aureus*. L'analyse statistique montre qu'il y a une différence significative entre les deux capsules des souches *S. aureus et E. coli* ($p < 0.05$) , alors qu'aucune différence significative n'est notée entre les deux capsules des souches *B. subtilis* et *P. aeruginosa*.

La propriété antibactérienne est généralement associée à la capacité des composés chimiques pour pénétrer à travers la paroi cellulaire et détruire le cytoplasme membrane de micro-organismes, ce qui conduit à la perte de matériaux cellulaires internes (**Chu et al., 2019**). C'est en effet le cas pour les capsules développées. Généralement, les huiles essentielles sont plus efficaces contre les bactéries Gram-positives, car les bactéries Gram-négatives possèdent une membrane externe contenant des lipopolysaccharides qui protègent les bactéries de la perturbation causée par les huiles antimicrobiennes (**Esmaeili et al., 2020**).

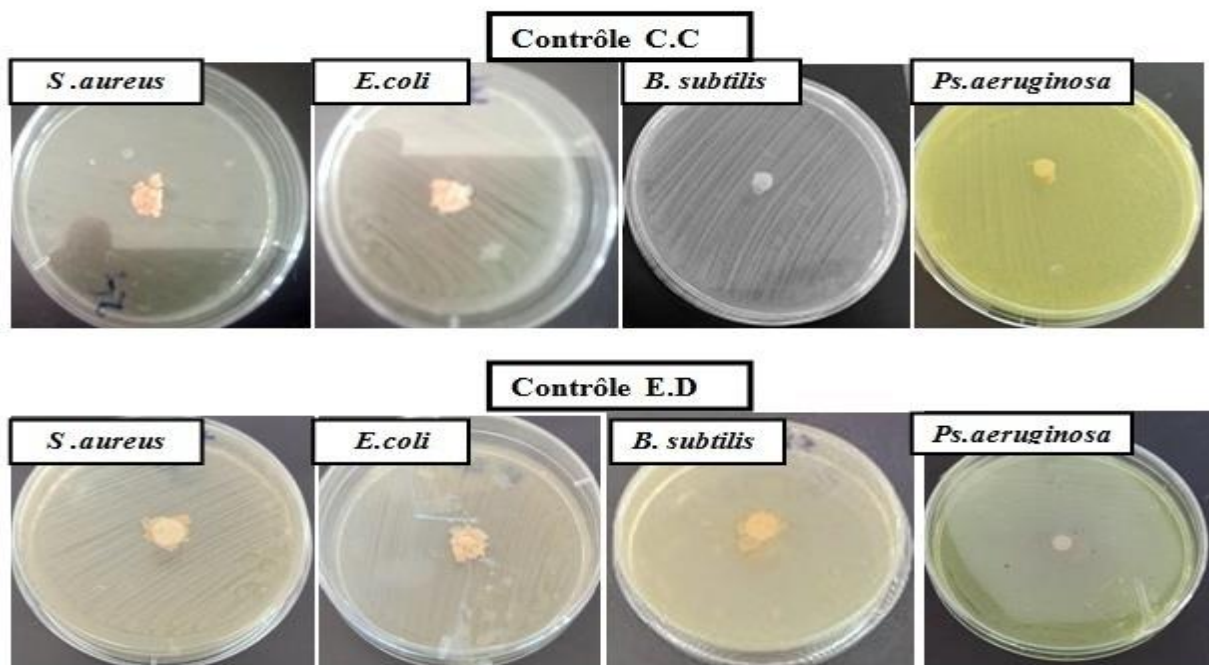


Figure 37. Activité antibactérienne de contrôle (polymères sans huile essentielle) des deux méthodes

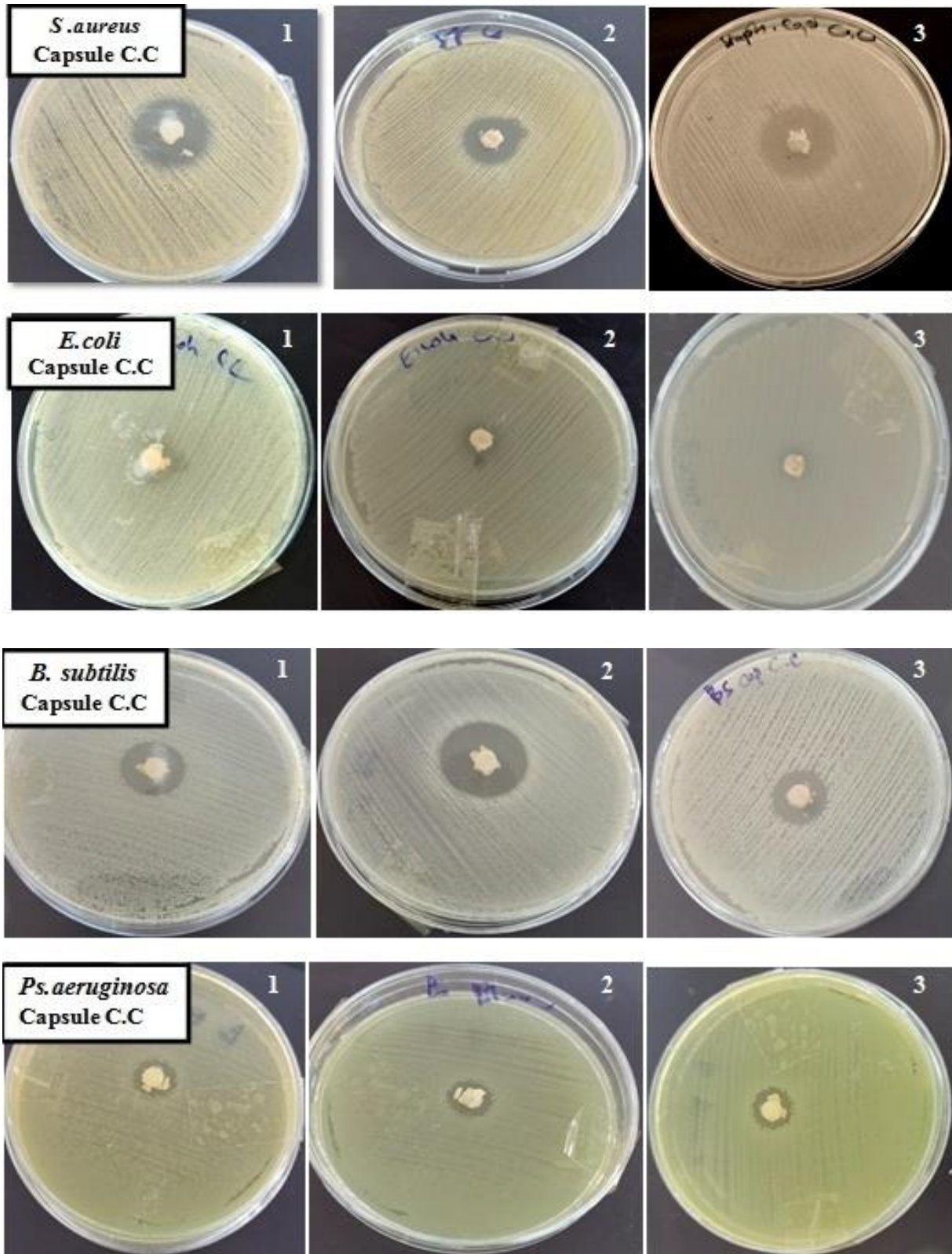


Figure 38. Activité antibactérienne des capsules obtenues par coacervation complexe sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*

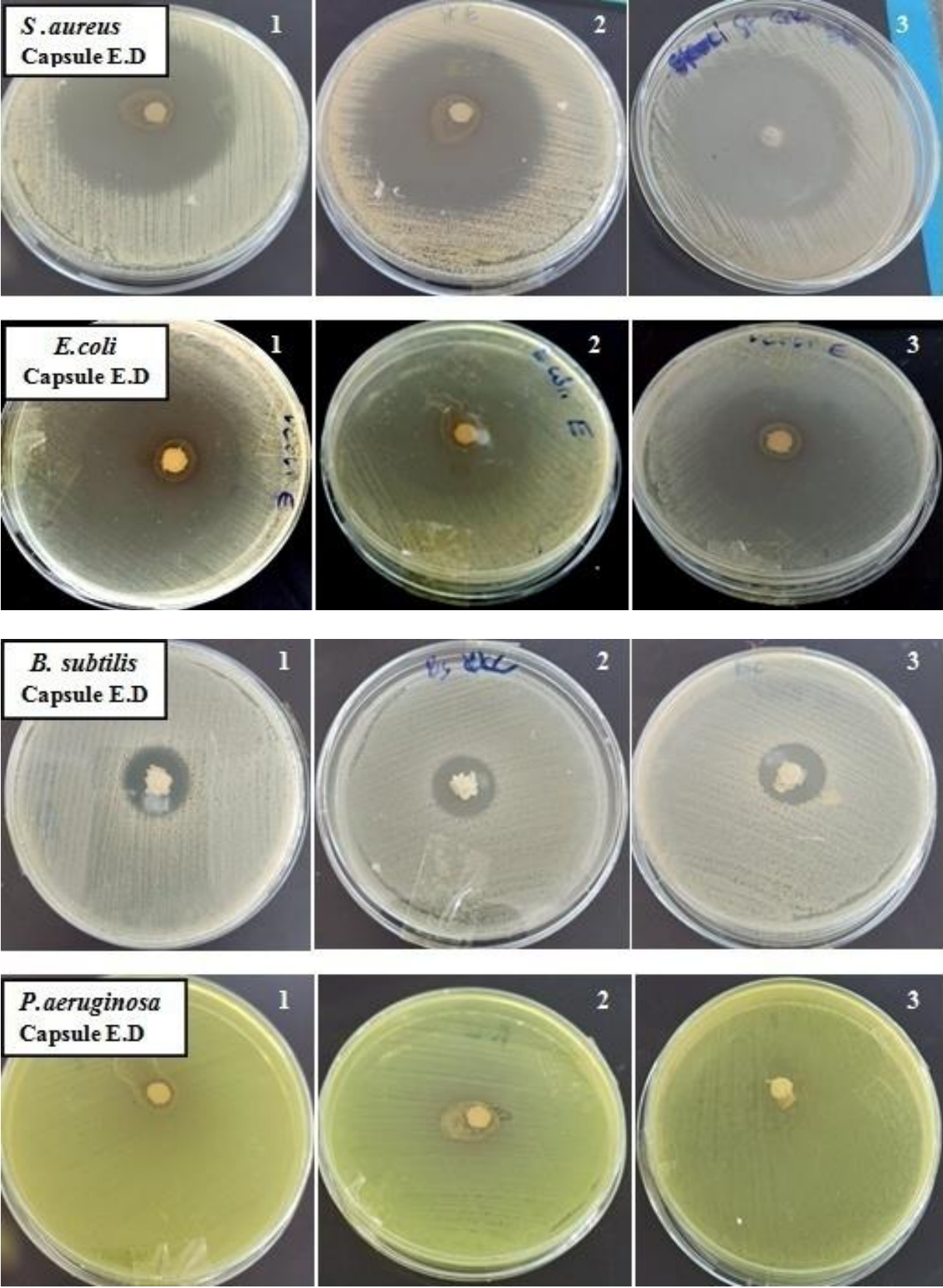


Figure 39. Activité antibacterienne des capsules obtenues par émulsion directe sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*

Ces différences dans l'activité antibactérienne entre les deux capsules dépend d'une part, de la diffusion d'HET à travers le matériau de la paroi (fig. 40), ce dernier est composé du complexe de gélatine et gomme arabique pour la coacervation complexe et uniquement de gélatine pour l'émulsion directe, et d'autre part la capacité de la capsule pour emprisonner d'HET, ce qui conduit à une diffusion plus lente par les capsules formées par la méthode de coacervation complexe que celles formées par la méthode d'émulsion directe.

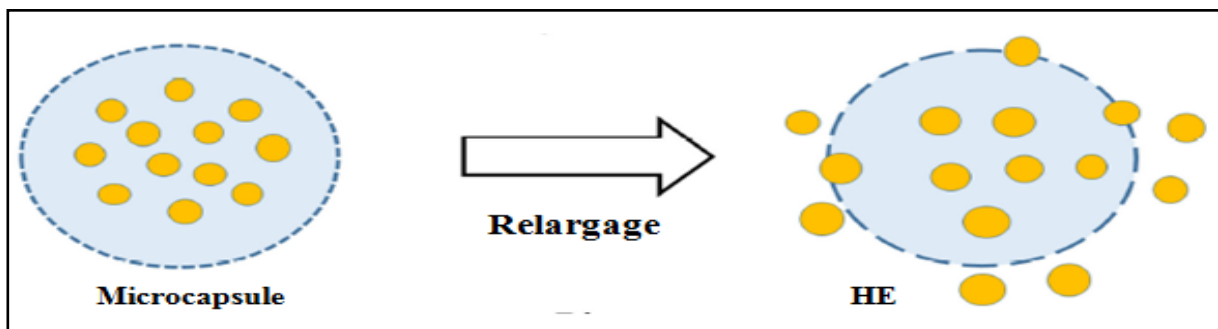


Figure 40.: Diffusion d'huile essentielle (Muhoza *et al.*, 2020)

Par conséquent, ces résultats confirment la microencapsulation d'HET, et mettent en évidence les excellentes propriétés des capsules développées, et que les activités biologiques étudiées d'HET n'a pas été affectée par la méthode d'encapsulation.

Conclusion générale

Cette thèse a pour principal objectif de mettre au point un procédé de microencapsulation utilisant des biopolymères naturels (la gélatine et la gomme arabique). Pour cela et afin de développer la meilleure formulation, une étude d'optimisation est préalablement effectuée pour rechercher les meilleures conditions de microencapsulation : pH, température, concentration des polymères et de l'HE, et le taux de tensioactif.

Globalement, les méthodes de coacervation complexe et d'émulsion directe qui sont réalisées confirment qu'il est possible d'immobiliser l'huile essentielle avec des rendements élevés. De plus, la méthode d'émulsion, étudiée pour la première fois dans le cadre de ce travail, permet d'affirmer qu'il est possible d'encapsuler une huile essentielle à des rendements très intéressants.

Le rendement de récupération de l'huile essentielle de thym obtenue par hydrodistillation est de **1,64%**. Leur composition chimique déterminée par GC/MS révèle la présence de **18 composés** dont le **thymol et carvacrol** comme composés majoritaires. En revanche, par comparaison entre les deux méthodes d'encapsulation, le rendement d'encapsulation le plus élevé est observé pour la technique d'émulsion directe. L'analyse microscopique montre une forme sphérique pour des particules de diamètre variant entre **5 et 50- μ m** et les meilleures microparticules sont obtenues avec un ratio de polymères de **7%: 8% et du formaldéhyde comme agent de réticulation**. Les résultats confirment le succès de l'encapsulation de l'huile essentielle de thym en termes de stockage, de protection et de libération avec une stabilité thermique. La cinétique de libération de l'huile essentielle (relargage) est plus rapide pour l'encapsulation par émulsion directe comparativement à la méthode par coacervation complexe qui présente un profil de libération plus lent et une meilleure stabilité thermique.

Les activités biologiques de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pure et encapsulée sont menées pour mettre en évidence les activités antibactériennes par la méthode de diffusion par disque sur quatre souches bactériennes ainsi que l'activité antioxydante par la méthode DPPH. Cette huile aussi bien pour l'HE pure et celle encapsulée ont montré un pouvoir antioxydant très intéressant et présente un pouvoir inhibiteur élevé contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*. De ce fait, il ressort que l'H.E, encapsulée par la gélatine et la gomme arabique, a conservé ses propriétés. Ainsi, elle est recommandée comme une nouvelle approche pour préserver l'huile essentielle de thym pour différentes applications.

Références

Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aburjai, T., & Natsheh, F. M. (2003).** Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research*, *17*(9), 987–1000. <https://doi.org/10.1002/ptr.1363>
- Adams, R. P. (2007).** Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. *Allured Publishing Corporation, Carol Stream*.
- Adrar, N., Oukil, N., & Bedjou, F. (2016).** Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. *Industrial Crops and Products*, *88*, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.007>
- Adwan, G., Abu-Shanab, B., Adwan, K., & Abu-Shanab, F. (2006).** Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. *Turkish Journal of Biology*, *30*(4), 239–242.
- Aebischer, P., Wahlberg, L., Tresco, P. A., & Winn, S. R. (1991).** Macroencapsulation of dopamine-secreting cells by coextrusion with an organic polymer solution. *Biomaterials*, *12*(1), 50–56. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(91\)90132-T](https://doi.org/10.1016/0142-9612(91)90132-T)
- Agnihotri, S., & Vaidya, A. D. (1996).** A novel approach to study antibacterial properties of volatile components of selected Indian medicinal herbs. *Indian Journal of Experimental Biology*, *34*(7), 712–715.
- Aguilera, J. M., Chiralt, A., & Fito, P. (2003).** Food dehydration and product structure. *Trends in Food Science and Technology*, *14*(10), 432–437. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(03\)00122-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(03)00122-5)
- Al-Shannaq, R., Farid, M., Al-Muhtaseb, S., & Kurdi, J. (2015).** Emulsion stability and cross-linking of PMMA microcapsules containing phase change materials. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, *132*, 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2014.08.036>.
- Albertini, B., Mezzena, M., Passerini, N., Rodriguez, L., & Scalia, S. (2009).** Evaluation of spray congealing as technique for the preparation of highly loaded solid lipid microparticles containing the sunscreen agent, avobenzone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *98*(8), 2759–2769.
- Albertini, B., Passerini, N., Pattarino, F., & Rodriguez, L. (2008).** New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *69*(1), 348–357.
- Ali, S. S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., & Bora, U. (2008).** Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, *41*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.10.001>

- Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., & Chinou, I. B. (2001).** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two origanum species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4168–4170.
- Anal, A. K., Stevens, W. F., & Remunan-Lopez, C. (2006).** Ionotropic cross-linked chitosan microspheres for controlled release of ampicillin. *International Journal of Pharmaceutics*, 312(1–2), 166–173.
- André, R. (1998).** *La maladie de parkinson*. Ed. Masson.
- Andreani, L., Cercená, R., Ramos, B. G. Z., & Soldi, V. (2009).** Development and characterization of wheat gluten microspheres for use in a controlled release system. *Materials Science and Engineering C*, 29(2), 524–531. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.09.046>
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006).** Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4364-4370. <https://doi.org/10.1021/jf0603329>
- Anjani, K., Kailasapathy, K., & Phillips, M. (2007).** Microencapsulation of enzymes for potential application in acceleration of cheese ripening. *International Dairy Journal*, 17(1), 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.01.005>
- Anton, R., Lobstein, A., & Teuscher, E. (2005).** *Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles.*, Paris, 522p.
- Arana-Sanchez, A., Estarron-Espinosa, M., Obledo-Vazquez, E. N., Padilla-Camberos, E., Silva-Vazquez, R., & Lugo-Cervantes, E. (2010).** Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H . B . K .) with different composition when microencapsulated in β -cyclodextrin. . *Letters in Applied Microbiology*, 50(6), 585-590. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02837.x>
- Arshady, R. (1990).** Microspheres and microcapsules, a survey of manufacturing techniques part II: Coacervation. *Polymer Engineering & Science*, 30(15), 905–914.
- Arshady, R. (1999).** *Microspheres microcapsules & liposomes: preparation & chemical applications*. Citus Books.
- Aruoma, O. I. (1998).** Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 199–212. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0032-9>
- Aryee, F. N. A., & Nickerson, M. T. (2012).** Formation of electrostatic complexes involving

- mixtures of lentil protein isolates and gum Arabic polysaccharides. *Food Research International*, 48(2), 520–527. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.012>
- Atti-Santos, A. C., Pansera, M. R., Paroul, N., Atti-Serafini, L., & Moyna, P. (2004).** Seasonal variation of essential oil yield and composition of thymus vulgaris L. (Lamiaceae) from South Brazil. *Journal of Essential Oil Research*, 16(4), 294–295. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698724>
- Augustin, M. A., & Hemar, Y. (2009).** Nano-and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38(4), 902–912.
- Aurousseau, B. (2002).** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Productions. Animales*, 15 (1), 67-82. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2002.15.1.3688>.
- Azaz, A. D., Irtem, H. A., Kurkcuoğlu, M., & Baser, K. H. C. (2004).** Composition and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of some Thymus Species. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 59(1–2), 75–80. <https://doi.org/10.1515/znc-2004-1-216>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Banerjee, S., Chattopadhyay, P., Ghosh, A., Goyary, D., Karmakar, S., & Veer, V. (2013).** Influence of process variables on essential oil microcapsule properties by carbohydrate polymer-protein blends. *Carbohydrate Polymers*, 93(2), 691–697. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.01.028>
- Barel, S., Segal, R., & Yashphe, J. (1991).** The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 33(1–2), 187–191. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90177-F](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90177-F)
- Bartkowiak, A., & Hunkeler, D. (1999).** Alginate-oligochitosan microcapsules: A mechanistic study relating membrane and capsule properties to reaction conditions. *Chemistry of Materials*, 11(9), 2486–2492. <https://doi.org/10.1021/cm9910456>
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2015).** *Handbook of essential oils: science, technology, and applications.*(Ed 2).
- Baser, K. H. C., Kirimer, N., Tümen, G., & Duman, H. (1998).** Composition of the essential oil of thymus canoviridis jalas. *Journal of Essential Oil Research*, 10(2), 199–200. <https://doi.org/10.1080/10412905.1998.9700879>

- Baser, K. H. C., Özek, T., & Tümen, G. (1992).** Essential oils of *Thymus cariensis* and *Thymus haussknechtii*, two endemic species in Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 4(6), 659–661. <https://doi.org/10.1080/10412905.1992.9698156>
- Bassolé, I. H. N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Tirogo, S., Franz, C., Novak, J., Nebié, R. C., & Dicko, M. H. (2010).** Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Molecules*, 15(11), 7825–7839. <https://doi.org/10.3390/molecules15117825>
- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. (2008).** Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256(12), 2166–2174. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>
- Baydar, H., Baydar, N. G., & Tucker, R. L. (2005).** The effects of harvest date, fermentation duration and Tween 20 treatment on essential oil content and composition of industrial oil rose (*Rosa damascena* Mill.). *Industrial crops and products*, 21, 251–255. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.04.004>
- Benayad, N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. (Thèse de doctorat, Université de Mohamed V. Agdal).
- Benchabane, O., Hazzit, M., Mouhouche, F., & Baaliouamer, A. (2015).** Influence of extraction duration on the chemical composition and biological activities of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 40(7), 1855–1865. <https://doi.org/10.1007/s13369-015-1694-x>
- Benita, Shimon, Hoffman, A., & Donbrow, M. (1985).** Microencapsulation of paracetamol using polyacrylate resins (Eudragit Retard), kinetics of drug release and evaluation of kinetic model. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 37(6), 391–395. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1985.tb03021.x>
- Benjilali, B., Hammoui, M., M'Hamedi, A., & Richard, H. (1987).** Essential oil composition of different Moroccan thyme varieties. 2. Principal component analysis. *Sciences Des Aliments (France)*, 7(2), 275–299.
- Benoit, J.P., & Richard, J. (2013).** *Microencapsulation*. Ed. Techniques Ingénieur.
- Benoit, J.P., Richard, J., & Thies, C. (2001).** Method for preparing microcapsules comprising active materials coated with a polymer and novel, microcapsules in particular obtained according to the method. *United States Patent*, 6,183–783.
- Bernadet, M. (2000).** “*Phytoaromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles*.”

Editions Dangles.

- Besombes, C. (2008).** *Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques: applications généralisées.* (Thèse de doctorat, Université de La Rochelle).
- Bezerra, F. M., Carmona, O. G., Carmona, C. G., Lis, M. J., & de Moraes, F. F. (2016).** Controlled release of microencapsulated citronella essential oil on cotton and polyester matrices. *Cellulose*, 23(2), 1459–1470. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-0882-5>
- Boh, B., & Šumiga, B. (2008).** Microencapsulation technology and its applications in building construction materials. *RMZ - Materials and Geoenvironment*, 55(3), 329–344.
- Bomben, J. L. (1973).** Aroma recovery and retention in concentration and drying. *Advances in Food Research*, 20, 2–11.
- Bonnafoous, C. (2013).** *Traité scientifique aromathérapie: aromatologie & aromachologie.* Editions Dangles.
- Boral, S., & Bohidar, H. B. (2010).** Effect of ionic strength on surface-selective patch binding-induced phase separation and coacervation in similarly charged gelatin-agar molecular systems. *Journal of Physical Chemistry B*, 114(37), 12027–12035. <https://doi.org/10.1021/jp105431t>
- Borugă, O., Jianu, C., Mișcă, C., Goleț, I., Gruia, A. T., & Horhat, F. G. (2014).** Thymus vulgaris essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*, 7. 3(3), 56–60.
- Bot, A., Wientjes, R. H. W., & De Haas, K. H. (1997).** The transition zone for gelatin gels as measured by high-frequency rheology. *Imaging Science Journal*, 45(3–4), 191–196. <https://doi.org/10.1080/13682199.1997.11736404>
- Bouchemal, K., Briançon, S., Fessi, H., Chevalier, Y., Bonnet, I., & Perrier, E. (2006).** Simultaneous emulsification and interfacial polycondensation for the preparation of colloidal suspensions of nanocapsules. *Materials Science and Engineering C*, 26(2–3), 472–480. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2005.10.022>
- Bouguerra, N., Djebbar, F. T., & Soltani, N. (2017).** Algerian Thymus vulgaris essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito Culex pipiens. *International Journal of Mosquito Research*, 4(1), 37–42.
- Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., & Hakim, Y. (2010).** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technology*, 3, 37.

- Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M. G., Faleiro, L., Rejeb, M. N., Neffati, M., Costa, M. M., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., & Pedro, L. G. (2007).** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry*, *105*(1), 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.059>
- Boz, I., Burzo, I., Zamfirache, M.-M., Toma, C., Padurariu, C., & others. (2009).** Glandular trichomes and essential oil composition of *Thymus pannonicus* All.(Lamiaceae). *An. Univ. Oradea. Fasc. Biol*, *16*(2), 36–39.
- Braga, P. C., Dal Sasso, M., Culici, M., Galastri, L., Marceca, M. T., & Guffanti, E. E. (2006).** Antioxidant potential of thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. *Pharmacology*, *76*(2), 61–68. <https://doi.org/10.1159/000089719>
- Brahmi, F., Abdenour, A., Bruno, M., Silvia, P., Alessandra, P., Danilo, F., Drifa, Y. G., Fahmi, E. M., Khodir, M., & Mohamed, C. (2016).** Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, *88*, 96–105. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.002>
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, *phytochimie, plantes médicinales*.
- Buchbauer, G., & Jirovetz, L. (1994).** Aromatherapy—use of fragrances and essential oils as medicaments. *Flavour and Fragrance Journal*, *9*(5), 217–222. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730090503>
- Buffo, R. A., Probst, K., Zehentbauer, G., Luo, Z., & Reineccius, G. A. (2002).** Effects of agglomeration on the properties of spray-dried encapsulated flavours. *Flavour and Fragrance Journal*, *17*(4), 292–299.
- Burgess, D. J., & Singh, O. N. (1993).** Spontaneous formation of small sized albumin/acacia coacervate particles. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *45*(7), 586–591. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1993.tb05657.x>
- Burits, M., & Bucar, F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, *14*(5), 323–328. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200008\)14:5<323::AID-PTR621>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200008)14:5<323::AID-PTR621>3.0.CO;2-Q)
- Burt, S. (2004).** Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International journal of food microbiology*, *94*(3), 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Caillet, S., & Lacroix, M. (2007).** Les huiles essentielles: Leurs propriétés antimicrobiennes et

leurs applications potentielles en alimentaire.(Thèse de doctorat,Université de Laval (Québec).

- Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., & Akpulat, H. A. (2003).** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2–3), 215–220. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00149-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00149-1)
- Chen, L., & Subirade, M. (2009).** Elaboration and characterization of soy / zein protein microspheres for controlled nutraceutical delivery. *Biomacromolecules*, 10(12), 3327-3334.
- Chu, Y., Xu, T., Gao, C. C., Liu, X., Zhang, N., Feng, X., et al. (2019).** Evaluations of physicochemical and biological properties of pullulan-based films incorporated with cinnamon essential oil and Tween 80. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 388–394. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.194>
- Chun, H., Woo Jin Jun, Dong Hoon Shin, Bum Shik Hong, Hong Yon Cho, & Han Chul Yang. (2001).** Purification and characterization of anti-complementary polysaccharide from leaves of *Thymus vulgaris* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 49(6), 762–764. <https://doi.org/10.1248/cpb.49.762>
- Chun, S. S., Vатtem, D. A., Lin, Y. T., & Shetty, K. (2005).** Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against helicobacter pylori. *Process Biochemistry*, 40(2), 809–816. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.02.018>
- Cimanga, K., Apers, S., De Bruyne, T., Van Miert, S., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L., Vlietinck, A. J., Kambu, K., & Tona, L. (2002).** Chemical composition and antifungal activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Essential Oil Research*, 14(5), 382–387. <https://doi.org/10.1080/10412905.2002.9699894>
- Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (1999).** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29(2), 130–135. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1999.00605.x>
- Cotelle, N., Bernier, J. L., Catteau, J. P., Pommery, J., Wallet, J. C., & Gaydou, E. M. (1996).** Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(I), 35–43.
- Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525), 22–25.
- Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*,

12(4), 564–582. <https://doi.org/10.1128/cmr.12.4.564>

- Crespo, M. E., Jimenez, J., & Navarro, C. (1991).** Special methods for the essential oil of ginger. *Kasumov 1988*, 79–97. https://doi.org/10.1007/978-3-642-84023-4_5
- Crotts, G., & Park, T. G. (1995).** Préparation of porous and nonporous biodegradable polymeric hollow microspheres. *Journal of Controlled Release*, 35(2–3), 91–105. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(95\)00010-6](https://doi.org/10.1016/0168-3659(95)00010-6)
- Cruz, T., Cabo, M. P., Cabo, M. M., Jimenez, J., Cabo, J., & Ruiz, C. (1989).** In vitro antibacterial effect of the essential oil of *Thymus longiflorus* Boiss. *Microbios*, 60(242), 59–61.
- Da Cruz Cabral, L., Fernández Pinto, V., & Patriarca, A. (2013).** Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 166(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.026>
- Dai, R., Wu, G., Li, W., Zhou, Q., Li, X., & Chen, H. (2010).** Gelatin/carboxymethylcellulose/dioctyl sulfosuccinate sodium microcapsule by complex coacervation and its application for electrophoretic display. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 362(1–3), 84–89.
- Dandlen, S. A., Lima, A. S., Mendes, D. M., Miguel, M. G., Faleiro, M. L., Sousa, C M. J., Pedro, G. L., Barrosob, J. G., & Figueiredob, A. C. (2008).** Antioxidant activity of six Portuguese thyme species essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, April, 152–163. <https://doi.org/10.1002/ffj>
- Dapkevicius, A., Van Beek, T. A., Lelyveld, G. P., Van Veldhuizen, A., De Groot, A., Linssen, J. P. H., & Venskutonis, R. (2002).** Isolation and structure elucidation of radical scavengers from *thymus vulgaris* leaves. *Journal of Natural Products*, 65(6), 892–896. <https://doi.org/10.1021/np010636j>
- Dardelle, G., Normand, V., Steenhoudt, M., Bouquerand, P.E., Chevalier, M., & Baumgartner, P. (2007).** Flavour-encapsulation and flavour-release performances of a commercial yeast-based delivery system. *Food Hydrocolloids*, 21(5–6), 953–960.
- Das, S., Singh, V. K., Dwivedy, A. K., Chaudhari, A. K., Upadhyay, N., Singh, P., Sharma, S., & Dubey, N. K. (2019).** Macromolecules encapsulation in chitosan-based nanomatrix as an efficient green technology to boost the antimicrobial , antioxidant and in situ efficacy of *Coriandrum sativum* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 294–305. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.070>
- Da Silva Barbosa, R. F., Yudice, E. D. C., Mitra, S. K., & dos Santos Rosa, D. (2021).**

Characterization of Rosewood and Cinnamon Cassia essential oil polymeric capsules: Stability, loading efficiency, release rate and antimicrobial properties. *Food Control*, 121, 107605. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107605>

- Dauqan, E., & Abdullah, A. (2013).** Utilization of gum arabic for industries and human health. *American Journal of Applied Sciences*, 10(10), 1270–1279. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2013.1270.1279>
- Davies, N. W. (1990).** Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography A*, 503(C), 1–24. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)81487-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)81487-4)
- Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009).** Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(12), 4022–4034.
- De Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2014).** Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 524–532. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.083>
- De Kruif, C. G., Weinbreck, F., & De Vries, R. (2004).** Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 9(5), 340–349. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2004.09.006>
- De Oliveira, L. C., Barbosa, J. R., Ribeiro, S. D. C. A., de Vasconcelos, M. A. M., de Aguiar, B. A., da Silva Pereira, G. V., ... & Lourenço, L. D. F. H. (2019).** Improvement of the characteristics of fish gelatin–gum arabic through the formation of the polyelectrolyte complex. *Carbohydrate polymers*, 223. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115068>
- De Roos, K. B. (2000).** Physicochemical models of flavor release from foods. *ACS Symposium Series*, 763, 126–141. <https://doi.org/10.1021/bk-2000-0763.ch011>
- De Sousa, A. C., Alviano, D. S., Blank, A. F., Alves, P. B., Alviano, C. S., & Gattass, C. R. (2010).** Melissa officinalis L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56(5), 677–681. <https://doi.org/10.1211/0022357023321>
- De Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010).** Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20(4), 292–302. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.008>
- Deis, R. C. (1997).** Spray-drying-innovative use of an old process. *Food Product Design*, 7(2), 97–113.
- Delgado, J. A., Dillon, M. A., Sparks, R. T., & Follett, R. F. (2004).** Tracing the fate of 15N in

- a small-grain potato rotation to improve accountability of nitrogen budgets. *Journal of Soil and Water Conservation*, 59(6), 271–276.
- Desobry, S., & Hardy, J. (1997).** The increase of CO₂ permeability of paper packaging with increasing hydration. *International journal of food science & technology*, 32(5), 407–410. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1997.00128.x>
- Devi, N., Hazarika, D., Deka, C., & Kakati, D. K. (2012).** Study of complex coacervation of gelatin a and sodium alginate for microencapsulation of olive oil. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 49(11), 936–945. <https://doi.org/10.1080/10601325.2012.722854>
- Dickinson, E. (1998).** Stability and rheological implications of electrostatic milk protein ± polysaccharide interactions Eric. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 347-354.
- Dickinson, E., & Pawlowsky, K. (1996).** Effect of high-pressure treatment of protein on the rheology of flocculated emulsions containing protein and polysaccharide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(10), 2992–3000. <https://doi.org/10.1021/jf960188z>
- Dixit, S., & Goel, A. (2007).** Microencapsulation in processing. *Asian Textile Journal-Bombay-*, 16(7), 83.
- Djeddi, S., Bouchenah, N., Settar, I., & Skaltsa, H. D. (2007).** Composition and antimicrobial activity of the essential oil of rosmarinus officinalis from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(4), 487–490.
- Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., & Chelghoum, C. (2006).** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of thymus algeriensis boiss. et reut. *International Journal of Aromatherapy*, 16(2), 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.ijat.2006.04.003>
- Dorman, H. D., & Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
- Doublier, J.-L., Garnier, C., Renarda, D., & Sanchezb, C. (2000).** Protein-polysaccharide interactions. *Food Proteins and Their Applications*, 5, 171–198. <https://doi.org/10.1201/9780203755617>
- Drusch, S, Serfert, Y., Berger, A., Shaikh, M. Q., Rätzke, K., Zaporajtchenko, V., & Schwarz, K. (2012).** New insights into the microencapsulation properties of sodium caseinate and hydrolyzed casein. *Food Hydrocolloids*, 27(2), 332–338.
- Drusch, S. (2007).** Sugar beet pectin: A novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1223–1228. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.08.007>

- Dubin, P. L., Gao, J., & Mattison, K. (1994).** Protein purification by selective phase separation with polyelectrolytes. *Separation & Purification Reviews*, 23(1), 1–16. <https://doi.org/10.1080/03602549408001288>
- Dziezak, J. D. (1988).** Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technology (Chicago)*, 42(4), 136–153.
- Edris, A. E. (2007).** Inhibition of cholinesterase and amyloid- β aggregation by resveratrol oligomers from *Vitis amurensis*. *Phytotherapy Research*, 22(4), 544–549. <https://doi.org/10.1002/ptr>
- El-Zawahry, M. M., El-Shami, S., & El-Mallah, M. H. (2007).** Optimizing a wool dyeing process with reactive dye by liposome microencapsulation. *Dyes and Pigments*, 74(3), 684–691.
- El Miz, M., Salhi, S., Chraibi, I., El Bachiri, A., Fauconnier, M.L., & Tahani, A. (2014).** Characterization and adsorption study of Thymol on Pillared Bentonite. *Open Journal of Physical Chemistry*, 04(03), 98–116. <https://doi.org/10.4236/ojpc.2014.43013>
- Elkharraz, K., Ahmed, A. R., Dashevsky, A., & Bodmeier, R. (2011).** Encapsulation of water-soluble drugs by an o/o/o-solvent extraction microencapsulation method. *International Journal of Pharmaceutics*, 409(1–2), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.02.029>
- Elmer, C., Karaca, A. C., Low, N. H., & Nickerson, M. T. (2011).** Complex coacervation in pea protein isolate-chitosan mixtures. *Food Research International*, 44(5), 1441–1446. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.011>
- Elzoghby, A. O. (2013).** Gelatin-based nanoparticles as drug and gene delivery systems: Reviewing three decades of research. *Journal of Controlled Release*, 172(3), 1075–1091. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.09.019>
- Enascuta, C. E., Stepan, E., Oprescu, E. E., Radu, A., Alexandrescu, E., Stoica, R., Epure, D. G., & Niculescu, M. D. (2018).** Microencapsulation of essential oils. *Revista de Chimie*, 69(7), 1612–1615. <https://doi.org/10.37358/rc.18.7.6381>
- Esmaeili, A., & Khodadadi, A. (2011).** Antioxidant activity of a solution of Thymol in ethanol. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 14(1), 14–18.
- Esmaeili, H., Cheraghi, N., Khanjari, A., Rezaeigolestani, M., Basti, A. A., Kamkar, A., et al. (2020).** Incorporation of nanoencapsulated garlic essential oil into edible films: A novel approach for extending shelf life of vacuum-packed sausages. *Meat Science*, 166(March), Article 108135. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108135>
- Espinosa-Andrews, H., Báez-González, J. G., Cruz-Sosa, F., & Vernon-Carter, E. J. (2007).** Gum arabic-chitosan complex coacervation. *Biomacromolecules*, 8(4), 1313–1318.

- Ezpeleta, I., Irache, J. M., Stainmesse, S., Chabenat, C., Gueguen, J., & Orecchioni, A. M. (1996).** Preparation of lectin-vicilin nanoparticle conjugates using the carbodiimide coupling technique. *International Journal of Pharmaceutics*, *142*(2), 227–233. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(96\)04668-6](https://doi.org/10.1016/0378-5173(96)04668-6)
- Fani, M., & Kohanteb, J. (2017).** In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against major oral pathogens. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *22*(4), 660–666. <https://doi.org/10.1177/2156587217700772>
- Favaro-trindade, C. S., Santana, A. S., Monterrey-quintero, E. S., Trindade, M. A., & Netto, F. M. (2010).** Food hydrocolloids the use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, *24*(4), 336–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.10.012>
- Fei, X., Zhao, H., Zhang, B., Cao, L., Yu, M., Zhou, J., & Yu, L. (2015).** Microencapsulation mechanism and size control of fragrance microcapsules with melamine resin shell. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *469*, 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.01.033>
- Ferguson, J. L. (1964).** Liquid crystals. *Scientific American*, *211*(2), 76–85.
- Feyzioglu, G. C., & Tornuk, F. (2016).** Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications. *LWT - Food Science and Technology*, *70*, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.037>
- Fillatre, Y. (2011).** Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. (Doctoral dissertation, Université d'Angers).
- Freitas, S., Merkle, H. P., & Gander, B. (2005).** Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *Journal of Controlled Release*, *102*(2), 313–332. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.10.015>
- Friedman, M., Henika, P. R., & Mandrell, R. E. (2002).** Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of food protection*, *65*(10), 1545–1560.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I.**

- (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102(3), 898–904. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.035>
- Gallucci, M. N., Oliva, M., Casero, C., Dambolena, J., Luna, A., Zygodlo, J., & Demo, M. (2009).** Antimicrobial combined action of terpenes against the food-borne microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. *Flavour and Fragrance Journal*, 152–163. <https://doi.org/10.1002/ffj>
- Gan, C., Cheng, L., & Easa, A. M. (2008).** Evaluation of microbial transglutaminase and ribose cross-linked soy protein isolate-based microcapsules containing fish oil. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.04.004>
- Ganz, A. J. (1974).** How cellulose gum reacts with proteins. *Food Engineering*, 46(6), 67–69.
- Garcia-Sotelo, D., Silva-Espinoza, B., Perez-Tello, M., Olivas, I., Alvarez-Parrilla, E., González-Aguilar, G. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2019).** Antimicrobial activity and thermal stability of rosemary essential oil:β-cyclodextrin capsules applied in tomato juice. *Lwt*, 111(April), 837–845. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.061>
- Garnero, J. (1991).** *Les huiles essentielles, leurs obtentions, leurs compositions, leurs analyses et leurs normalisations*. Ed. Techniques, Encycl. Med-Nat.(Paris, France).
- Garti, N. (1999).** Hydrocolloids as emulsifying agents for oil-in-water emulsions. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 20(1–2), 327–355. <https://doi.org/10.1080/01932699908943795>
- Ge, X., Wan, Z., Song, N., Fan, A., & Wu, R. (2009).** Efficient methods for the extraction and microencapsulation of red pigments from a hybrid rose. *Journal of Food Engineering*, 94(1), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.02.021>
- Georgetti, S. R., Casagrande, R., Di Mambro, V. M., Azzolini, A. E. C. S., & Fonseca, M. J. V. (2003).** Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS PharmSci*, 5(2), 18–22. <https://doi.org/10.1208/ps050220>
- Gergis, V., Spiliotis, V., Poulos, C., & others. (1990).** Antimicrobial activity of essential oils from Greek *Sideritis* species. *Pharmazie*, 45(1).
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Beney, L., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2012).** Properties of spray-dried food flavours microencapsulated with two-layered membranes : Roles of interfacial interactions and water. *Food Chemistry*, 132(4), 1713–1720. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.028>

- Ghasemi Pirbalouti, A., Hashemi, M., & Ghahfarokhi, F. T. (2013).** Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 48, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.004>
- Ghosh, a. k., & Bandyopadhyay, P. (2012).** Polysaccharide-protein interactions and their relevance in food colloids. *The Complex World of Polysaccharides*. <https://doi.org/10.5772/50561>
- Giunchedi, P., & Conte, U. (1995).** Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: an overview. *STP Pharma Sciences*, 5(4), 276–290.
- Given Jr, P. S. (2009).** Encapsulation of flavors in emulsions for beverages. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 14(1), 43–47.
- Goetz, P., & Ghedira, K. (2012).** Introduction à la phytothérapie anti-infectieuse. *Phytothérapie anti-infectieuse*, 3-14.
- Gouin, S. (2004).** Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15(7–8), 330–347. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.10.005>
- Grinberg, V. Y., & Iolstoguzov-, V. B. (1997).** Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in. *Food Hydrocolloids*, 11(2), 145–158. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(97\)80022-7](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(97)80022-7)
- Guillén, M. D., & Manzanos, M. J. (1998).** Study of the composition of the different parts of a Spanish *thymus vulgaris* L. plant. *Food Chemistry*, 63(3), 373–383. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00013-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00013-2)
- Guinoiseau, E. (2010).** *Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action.* (Thèse de doctorat, Université de Corse).
- Gupta, K. C., & Ravi Kumar, M. N. V. (2001).** PH dependent hydrolysis and drug release behavior of chitosan/poly(ethylene glycol) polymer network microspheres. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 12(9), 753–759. <https://doi.org/10.1023/A:1017976014534>
- Hammill, T. B., & Crawford, R. L. (1997).** Bacterial microencapsulation with three algal polysaccharides. *Canadian Journal of Microbiology*, 43(11), 1091–1095.
- Harding, S., Jumel, K., Kelly, R., Gudo, E., Horton, J. C., & Mitchell, J. R. (1993).** The structure and nature of protein-polysaccharide complexes. *Food proteins: Structure and functionality*, 8, 216-226.
- Hazzit, M. (2002).** Aromes alimentaires contribution à l'étude des huiles essentielles de

mandarine et de la fraction volatile de jus d'orange. (Thèse de doctorat. Université Houari Boumediene – ALGER).

- Heidebach, T., Först, P., & Kulozik, U. (2009).** Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1670–1677.
- Heinzen, C. (2002).** Microencapsulation solve time dependent problems for foodmakers. *European Food and Drink Review*, 3(1), 27–30.
- Hellal, Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R., & Chiralt, A. (2004).** Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. *Food Hydrocolloids*, 18(3), 403–411. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(03\)00128-0](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00128-0)
- Higuera-Ciapara, I., Felix-Valenzuela, L., Goycoolea, F. M., & Arguelles-Monal, W. W. (2004).** Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix. *Carbohydrate Polymers*, 56(1), 41–45. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2003.11.012>
- Honiger, J., Sarkis, R., Baudrimont, M., Delelo, R., Chafai, N., Benoist, S., Sarkis, K., Balladur, P., Capeau, J., & Nordlinger, B. (2000).** Semiautomatic macroencapsulation of large numbers of porcine hepatocytes by coextrusion with a solution of AN69 polymer. *Biomaterials*, 21(12), 1269–1274. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00012-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00012-0)
- Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., & Farahmandghavi, F. (2013).** Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.031>
- Huang, G. Q., Sun, Y. T., Xiao, J. X., & Yang, J. (2012).** Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food Chemistry*, 135(2), 534–539. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.140>
- Huang, Y., Cheng, Y., Yu, C., Tsai, T., & Cham, T. (2007).** Microencapsulation of extract containing shikonin using gelatin – acacia coacervation method: A formaldehyde-free approach. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 58(2), 290–297. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.04.013>
- Hurtel, J. (2006).** Huiles essentielles et médecine. *phytotherapie, plante medicale, aromatherapie, huiles essentielles. Phytomania*.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S. T., & Przybylski, R. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential

- oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3), 986–995.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>
- Ilić, I., Dreu, R., Burjak, M., Homar, M., Kerč, J., & Srčić, S. (2009).** Microparticle size control and glimepiride microencapsulation using spray congealing technology. *International Journal of Pharmaceutics*, 381(2), 176–183.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.05.011>
- Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J., Ankit, M., Khedid, K., & El bachiri, A. (2009).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal Of Agriculture & Biology*, 11, 205–208.
- Imeson, A. P., Ledward, D. A., & Mitchell, J. R. (1977).** On the nature of the interaction between some anionic polysaccharides and proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(8), 661–668. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740280802>
- Isérin, P., Masson, M., & Kedellini, J. P. (2001).** *Encyclopédie des plantes médicinales, identifications, préparations. Soins. Paris: Edition Larousse*, 335.
- Ismaili, H., Milella, L., Fkih-Tetouani, S., Ildrissi, A., Camporese, A., Sosa, S., Altinier, G., Della Loggia, R., & Aquino, R. (2004).** In vivo topical anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of two extracts of *Thymus satureioides* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(1), 31–36.
- Isman, M. B. (2000).** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8–10), 603–608. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X)
- Jacquot, M., & Perneti, M. (2004).** Spray coating and drying processes. *Fundamentals of Cell Immobilisation Biotechnology*, 343–356.
- Jalas, J. (1971).** Notes on *Thymus* L.(Labiatae) in Europe. I. Supraspecific classification and nomenclature. *Botanical Journal of the Linnean Society*.
- Jamil, B., Abbasi, R., Abbasi, S., Imran, M., Khan, S. U., Ihsan, A., Javed, S., & Bokhari, H. (2016).** Encapsulation of cardamom essential oil in chitosan nano-composites: In-vitro efficacy on antibiotic-resistant bacterial pathogens and cytotoxicity studies. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01580>
- Janssen, L. J. J. M., & te Nijenhuis, K. (1992).** Encapsulation by interfacial polycondensation. I. The capsule production and a model for wall growth. *Journal of Membrane Science*, 65(1–2), 59–68. [https://doi.org/10.1016/0376-7388\(92\)87053-Z](https://doi.org/10.1016/0376-7388(92)87053-Z)
- Jegat, C., & Taverdet, J. L. (2000).** Stirring speed influence study on the microencapsulation process and on the drug release from microcapsules. *Polymer Bulletin*, 44(3), 345–351.

<https://doi.org/10.1007/s002890050612>

- Jeon, Y. J., Vasanthan, T., Temelli, F., & Song, B. K. (2003).** The suitability of barley and corn starches in their native and chemically modified forms for volatile meat flavor encapsulation. *Food Research International*, 36(4), 349–355. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00226-0](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00226-0)
- Jha, P., Flather, M., Lonn, E., Farkouh, M., & Yusuf, S. (1995).** The antioxidant vitamins and cardiovascular disease: A critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Annals of Internal Medicine*, 123(11), 860–872. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-123-11-199512010-00009>
- Jiménez-Arellanes, A., Martínez, R., García, R., León-Díaz, R., Luna-Herrera, J., Molina-Salinas, G. M., & Said-Fernández, S. (2006).** Thymus vulgaris as a potencial source of antituberculosis compounds. *Pharmacologyonline*, 3, 569–574.
- Jones, D. S., & Pearce, K. J. (1995).** An investigation of the effects of some process variables on the microencapsulation of propranolol hydrochloride by the solvent evaporation method. *International Journal of Pharmaceutics*, 118(2), 199–205. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(94\)00355-9](https://doi.org/10.1016/0378-5173(94)00355-9)
- Jordán, M. J., Martínez, R. M., Goodner, K. L., Baldwin, E. A., & Sotomayor, J. A. (2006).** Seasonal variation of Thymus hyemalis lange and spanish Thymus vulgaris L. essential oils composition. *Industrial Crops and Products*, 24(3), 253–263. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.06.011>
- Junyaprasert, V. B., Mitrevej, A., Sinchaipanid, N., Boonme, P., & Wurster, D. E. (2001).** Effect of process variables on the microencapsulation of vitamin A palmitate by gelatin-acacia coacervation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(6), 561–566.
- Juven, B. J., Kanner, J., Schved, F., & Weisslowicz, H. (1994).** Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology*, 76(6), 626–631. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1994.tb01661.x>
- Jyothi, N. V. N., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., & Srawan, G. Y. (2010).** Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 187–197. <https://doi.org/10.3109/02652040903131301>
- Kabouche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabouche, A., Ait-Kaki, Z., & Benlabeled, K. (2005).** Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *International Journal of Aromatherapy*, 15(3), 129–133. <https://doi.org/10.1016/j.ijat.2005.03.006>

- Kaibara, K., Okazaki, T., Bohidar, H. B., & Dubin, P. L. (2000).** PH-induced coacervation in complexes of bovine serum albumin and cationic polyelectrolytes. *Biomacromolecules*, 1(1), 100–107. <https://doi.org/10.1021/bm990006k>
- Kailasapathy, K. (2002).** Current issues in intestinal microbiology_2002_Kailasapathy_Microencapsulation of probiotic bacteria technology and potential appli.pdf. *Curr. Issues Intest. Microbiol.*, 3(1), 39–48.
- Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., & Ilcim, A. (2001).** Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2), 183-186.
- Kaş, H. S. (1997).** Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems. *Journal of Microencapsulation*, 14(6), 689–711. <https://doi.org/10.3109/02652049709006820>
- Kayitmazer, A. B. (2017).** Thermodynamics of complex coacervation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 239, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.07.006>
- Kellouche, A. (2005).** Etude la bruche du pois-chiche, callosobruchies maculatus (coleoptera: Bruchidae): biologie, physiologie, reproduction et lutte. (Doctoral dissertation, Université de Tizi Ouzou-Mouloud Mammeri).
- Kizilay, E., Kayitmazer, A. B., & Dubin, P. L. (2011).** Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids. *Advances in Colloid and Interface Science*, 167(1–2), 24–37. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.06.006>
- Klassen, D. R., Elmer, C. M., & Nickerson, M. T. (2011).** Associative phase separation involving canola protein isolate with both sulphated and carboxylated polysaccharides. *Food Chemistry*, 126(3), 1094–1101. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.138>
- Kowalski, R., & Wawrzykowski, J. (2009).** Essential oils analysis in dried materials and granulates obtained from *Thymus vulgaris* L., *Salvia officinalis* L., *Mentha piperita* L. and *Chamomilla recutita* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 24(1), 31–35. <https://doi.org/10.1002/ffj.1914>
- Krvtchenko, T. P. (1997).** Application of acacia gum as a natural source of soluble dietary fibre. *Food Ingredients Europe, Conference Proceedings*, 56–60.
- Krishnan, S., Bhosale, R., & Singhal, R. S. (2005).** Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers*, 61(1), 95–102.
- Król, B., Kołodziej, B., Kędzia, B., Holderna-Kędzia, E., Sugier, D., & Luchowska, K. (2019).** Date of harvesting affects yields and quality of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link)

- Ietswaart. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(12), 5432–5443.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.9805>
- Kulevanova, S., & Panovska, T. K. (2002).** Inhibition of thermal autooxidation of lard by antioxidative action of Thymus extracts. *Acta Pharmaceutica*, 52(1), 29–35.
- Lakhdar, L. (2015).** Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: étude in vitro. (Université Mohammed de Rebat. Doctoral dissertation).
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G.-J. E. (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 33(1), 21–23.
- Lamiri, A., Lhaloui, S., Benjilali, B., & Berrada, M. (2001).** Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *Field Crops Research*, 71(1), 9–15.
- Lazko, J., Popineau, Y., Renard, D., & Legrand, J. (2004).** Microcapsules based on glycinin-sodium dodecyl sulfate complex coacervation. *Journal of Microencapsulation*, 21(1), 59–70. <https://doi.org/10.1080/02652040310001619785>
- Lazko, J. (2004).** Étude des mécanismes et des procédés de formation des microcapsules à partir des protéines végétales (Doctoral dissertation, Université de Nantes).
- Leclercq, S., Milo, C., & Reineccius, G. A. (2009).** Effects of cross-linking, capsule wall thickness, and compound hydrophobicity on aroma release from complex coacervate microcapsules. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1426–1432. <https://doi.org/10.1021/jf802472q>
- Ledward, D. (1994).** Protein-polysaccharide interactions. *Protein Functionality in Food Systems*, 225–259.
- Ledward, D. A. (1993).** Creating textures from mixed biopolymer systems. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 402–405.
- Lee, S. Y., & Krochta, J. M. (2002).** Accelerated shelf life testing of whey-protein-coated peanuts analyzed by static headspace gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 2022–2028. <https://doi.org/10.1021/jf010501j>
- Lemberg, S. (1982).** Armoise: *artemesia herba alba* [Perfume plant, growing areas, chemical composition]. *Perfumer and Flavorist*.
- Lemetter, C. Y. G., Meeuse, F. M., & Zuidam, N. J. (2009).** Control of the morphology and the size of complex coacervate microcapsules during scale-up. *AIChE Journal*, 55(6), 1487–1496.
- Leo, E., Forni, F., & Bernabei, M. T. (2000).** Surface drug removal from ibuprofen-loaded

- PLA microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*, 196(1), 1–9.
[https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(99\)00335-X](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(99)00335-X)
- Lertsutthiwong, P., Noomun, K., Jongaroonngamsang, N., Rojsitthisak, P., & Nimmannit, U. (2008).** Preparation of alginate nanocapsules containing turmeric oil. *Carbohydrate Polymers*, 74(2), 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.02.009>
- Ley, S. V., Ramarao, C., Lee, A. L., Østergaard, N., Smith, S. C., & Shirley, I. M. (2003).** Microencapsulation of osmium tetroxide in polyurea. *Organic Letters*, 5(2), 185–187.
<https://doi.org/10.1021/ol020225+>
- Li, M., Rouaud, O., & Poncelet, D. (2008).** Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of Pharmaceutics*, 363(1–2), 26–39. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.07.018>
- Li, W., Wu, G., Chen, H., & Wang, M. (2009).** Preparation and characterization of gelatin/SDS/NaCMC microcapsules with compact wall structure by complex coacervation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 333(1–3), 133–137.
- Li, Y., & Huang, Q. (2013).** Influence of protein self-association on complex coacervation with polysaccharide: A Monte Carlo study. *Journal of Physical Chemistry B*, 117(9), 2615–2624.
<https://doi.org/10.1021/jp309135m>
- Liang, C., Lingling, X., Hongbo, S., & Zhibin, Z. (2009).** Microencapsulation of butyl stearate as a phase change material by interfacial polycondensation in a polyurea system. *Energy Conversion and Management*, 50(3), 723–729.
- Lisi, A. De, Tedone, L., Montesano, V., Sarli, G., & Negro, D. (2011).** Chemical characterisation of Thymus populations belonging from Southern Italy. *Food Chemistry*, 125(4), 1284–1286. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.011>
- Liu, S., Low, N. H., & Nickerson, M. T. (2009).** Effect of pH, salt, and biopolymer ratio on the formation of pea protein isolate gum arabic complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1521–1526. <https://doi.org/10.1021/jf802643n>
- Liu, Y., Winter, H. H., & Perry, S. L. (2017).** Linear viscoelasticity of complex coacervates. *Advances in Colloid and Interface Science*, 239, 46–60.
- Ložiene, K., & Venskutonis, P. R. (2006).** Chemical composition of the essential oil of thymus serpyllum L. Ssp. Serpyllum growing wild in Lithuania. *Journal of Essential Oil Research*, 18(2), 206–211. <https://doi.org/10.1080/10412905.2006.9699067>
- Lucchesi, M.-E. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

- Madan, P. L., Luzzi, L. A., & Price, J. C. (1972).** Factors influencing microencapsulation of a waxy solid by complex coacervation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *61*(10), 1586–1588. <https://doi.org/10.1002/jps.2600611008>
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006).** Flavour encapsulation and controlled release - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, *41*(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x>
- Marcuzzo, E., Sensidoni, A., Debeaufort, F., & Voilley, A. (2010).** Encapsulation of aroma compounds in biopolymeric emulsion based edible films to control flavour release. *Carbohydrate Polymers*, *80*(3), 984–988. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.01.016>
- Marino, M., Bersani, C., & Comi, G. (1999).** Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *Journal of Food Protection*, *62*(9), 1017–1023. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-62.9.1017>
- Martins, I. M. D. (2012).** Microencapsulation of Thyme Oil by Coacervation: Production, Characterization and Release Evaluation. (Doctoral dissertation, University of Porto (Portugal))
- Martins, I. M., Rodrigues, S. N., Barreiro, F., & Rodrigues, A. E. (2009).** Microencapsulation of thyme oil by coacervation. *Journal of Microencapsulation*, *26*(8), 667–675. <https://doi.org/10.3109/02652040802646599>
- Martins, I. M., Rodrigues, S. N., Barreiro, M. F., & Rodrigues, A. E. (2011).** Release of thyme oil from polylactide microcapsules. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, *50*(24), 13752–13761. <https://doi.org/10.1021/ie200791r>
- Masotti, V., Juteau, F., Bessière, J. M., & Viano, J. (2003).** Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia Molinieri* and its biological activities. *Journal of agricultural and food chemistry*, *51*(24), 7115-7121.
- Mathieu, É. (2003).** Étude de la microencapsulation par coacervation complexe utilisant des dérivés acryliques. (Thèse de doctotat, Université de Nantes).
- Mattison, K. W., Dubin, P. L., & Brittain, I. J. (1998).** Complex formation between bovine serum albumin and strong polyelectrolytes: effect of polymer charge density. *The Journal of Physical Chemistry B*, *102*(19), 3830–3836.
- Mauguet, M. C., Legrand, J., Brujes, L., Carnelle, G., Larre, C., & Popineau, Y. (2002).** Gliadin matrices for microencapsulation processes by simple coacervation method. *Journal of Microencapsulation*, *19*(3), 377–384. <https://doi.org/10.1080/02652040110105346>
- Mayya, K. S., Bhattacharyya, A., & Argillier, J. F. (2003).** Micro-encapsulation by complex coacervation: Influence of surfactant. *Polymer International*, *52*(4), 644–647.

<https://doi.org/10.1002/pi.1125>

- Mbarek, L. A., Mouse, H. A., Elabbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., Benharref, A., Chait, A., Kamal, M., Dalal, A., & Ziad, A. (2007).** Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *40*(6), 839–847. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2006005000108>
- Mejlholm, O., & Dalgaard, P. (2002).** Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology*, *34*(1), 27–31.
- Migneault, I., Dartiguenave, C., Bertrand, M. J., & Waldron, K. C. (2004).** Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking. *Biotechniques*, *37*(5), 790-802.
- Mohamed, F. C. F. van der W. (2006).** PLGA microcapsules with novel dimpled surfaces for pulmonary delivery of DNA. *International Journal of Pharmaceutics*, *311*(1–2), 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.12.016>
- Molina Ortiz, S. E., Monterrey-quintero, S., Trindade, M. A., Molina, S. E., Mauri, A., Santana, A. S., & Favaro-trindade, C. S. (2009).** Production and properties of casein hydrolysate microencapsulated by spray drying with soybean protein isolate. *LWT Food science and technology*, *42*, 919–923. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.12.004>
- Morales, R. (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. *Thyme: The Genus Thymus*, *1*, 1–43.
- Muhoza, B., Xia, S., Wang, X., Zhang, X., Li, Y., & Zhang, S. (2020).** Microencapsulation of essential oils by complex coacervation method: preparation, thermal stability, release properties and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–20. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1843132>
- Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., & Wink, M. (2010).** Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of eucalyptus globulus against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*, *17*(13), 1061–1066. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.06.018>
- Murbach Teles Andrade, B. F., Nunes Barbosa, L., Da Silva Probst, I., & Fernandes Júnior, A. (2014).** Antimicrobial activity of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, *26*(1), 34–40. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.860409>
- Murúa-Pagola, B., Beristain-Guevara, C. I., & 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. *Journal of Food*

Engineering, 91(3), 380–386.

- Naghibi, F., Mosadegh, M., Mohammadi, M. S., & Ghorbani, A. B. (2005).** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal Of Pharmaceutical Research*, 4(2) 63-79.
- Namsa, N. D., Tag, H., Mandal, M., Kalita, P., & Das, A. K. (2009).** An ethnobotanical study of traditional anti-inflammatory plants used by the Lohit community of Arunachal Pradesh, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2), 234–245. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.07.004>
- Nesterenko, A. (2012).** Etude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en microencapsulation. (Doctoral dissertation, Université de Toulouse).
- Nguemtchouin, M. M. G., Ngassoum, M. B., Ngamo, L. S. T., Mapongmetsem, P. M., Sieliechi, J., Malaisse, F., Lognay, G. C., Haubruge, E., & Hance, T. (2009).** Adsorption of essential oil components of *Xylopiya aethiopica* (Annonaceae) by kaolin from Wak, Adamawa province (Cameroon). *Applied Clay Science*, 44(1–2), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2008.10.010>
- Niu, F., Su, Y., Liu, Y., Wang, G., Zhang, Y., & Yang, Y. (2014).** Ovalbumin-gum arabic interactions: Effect of pH, temperature, salt, biopolymers ratio and total concentration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113, 477–482. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.08.012>
- Ofner, C. M., Zhang, Y. E., Jobeck, V. C., & Bowman, B. J. (2001).** Crosslinking studies in gelatin capsules treated with formaldehyde and in capsules exposed to elevated temperature and humidity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90(1), 79–88. [https://doi.org/10.1002/1520-6017\(200101\)90:1<79::AID-JPS9>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1520-6017(200101)90:1<79::AID-JPS9>3.0.CO;2-L)
- Ortega-Ramirez, L. A., Silva-Espinoza, B. A., Vargas-Arispuro, I., Gonzalez-Aguilar, G. A., Cruz-Valenzuela, M. R., Nazzaro, F., & Ayala-Zavala, J. F. (2017).** Combination of *Cymbopogon citratus* with *Allium cepa* essential oils increased antibacterial activity in leafy vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(7), 2166–2173. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.8025>.
- Ouis, N. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil. (Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Algérie).
- Oussou, K. R., Yolou, S. F., Tue, B. B., Kanko, C., Boti, J. B., Ahibo, C., & Casanova, J. (2010).** Etude chimique bio-guidée de l’huile essentielle d’*Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). *European Journal of Scientific Research*, 24, 50–59.
- Özcan, M., & Chalchat, J. (2004).** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in

- Turkey. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30, 68–73.
- Pak, C. W., Kosno, M., Holehouse, A. S., Padrick, S. B., Mittal, A., Ali, R., Yunus, A. A., Liu, D. R., Pappu, R. V., & Rosen, M. K. (2016).** Sequence determinants of intracellular phase separation by complex coacervation of a disordered protein. *Molecular Cell*, 63(1), 72–85. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.05.042>
- Panda, R. C., Zank, J., & Martin, H. (2001).** Modeling the droplet deposition behavior on a single particle in fluidized bed spray granulation process. *Powder Technology*, 115(1), 51–57. [https://doi.org/10.1016/S0032-5910\(00\)00279-5](https://doi.org/10.1016/S0032-5910(00)00279-5)
- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L., & Morelli, I. (1993).** Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 39(3), 167–170. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(93\)90032-Z](https://doi.org/10.1016/0378-8741(93)90032-Z)
- Papageorgiou, V. P. (1980).** GLC-MS computer analysis of the essential oil of *Thymus capitatus*. *Planta Medica*, 40, 29–33. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1074998>
- Park, J. M., Muhoberac, B. B., Dubin, P. L., & Xia, J. (1992).** Effects of protein charge heterogeneity in protein-polyelectrolyte complexation. *Macromolecules*, 25(1), 290–295. <https://doi.org/10.1021/ma00027a047>
- Park, S. J., Shin, Y. S., & Lee, J. R. (2001).** Preparation and characterization of microcapsules containing lemon oil. *Journal of Colloid and Interface Science*, 241(2), 502–508. <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7727>
- Passerini, N., Perissutti, B., Albertini, B., Voinovich, D., Moneghini, M., & Rodriguez, L. (2003).** Controlled release of verapamil hydrochloride from waxy microparticles prepared by spray congealing. *Journal of Controlled Release*, 88(2), 263–275. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(03\)00009-9](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(03)00009-9)
- Paster, N., Juven, B. J., Shaaya, E., Menasherov, M., Nitzan, R., Weisslowicz, H., & Ravid, U. (1990).** Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 11(1), 33–37.
- Pei, R. S., Zhou, F., Ji, B. P., & Xu, J. (2009).** Evaluation of Combined Antibacterial Effects of Eugenol , Cinnamaldehyde , Thymol , and Carvacrol against *E . coli* with an Improved Method. *Journal of food science*, 74(7), 379–383. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01287.x>
- Pellecuer, J., Jacob, M., Simeon de Buechberg, M., & Allegrini, J. (1980).** Therapeutic value of cultivated mountain savory (*Satureia Montana* L). *Acta Hortic*, 96, 35–9.
- Peng, C., Zhao, S. Q., Zhang, J., Huang, G. Y., Chen, L. Y., & Zhao, F. Y. (2014).** Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed

- essential oil by complex coacervation. *Food Chemistry*, 165, 560–568. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.126>
- Perry, N. B., Anderson, R. E., Brennan, N. J., Douglas, M. H., Heaney, A. J., Mc Gimpsey, J. A., & Smallfield, B. M. (1999).** Essential oils from Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): Variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2048–2054. <https://doi.org/10.1021/jf981170m>
- Petrovska, B. B. (2012).** Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11), 1–5. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849>
- Pierucci, A. P. T. R., Andrade, L. R., Baptista, E. B., Volpato, N. M., & Rocha-Leão, M. H. M. (2006).** New microencapsulation system for ascorbic acid using pea protein concentrate as coat protector. *Journal of Microencapsulation*, 23(6), 654–662. <https://doi.org/10.1080/02652040600776523>
- Pitaksuteepong, T., Davies, N. M., Tucker, I. G., & Rades, T. (2002).** Factors influencing the entrapment of hydrophilic compounds in nanocapsules prepared by interfacial polymerisation of water-in-oil microemulsions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 53(3), 335–342. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(01\)00245-4](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(01)00245-4)
- Pitman, V. (2004).** *Aromatherapy: a practical approach*. Nelson Thornes.
- Polese, J.-M. (2006).** *La culture des plantes aromatiques*. Editions Artemis.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Valle, C., & Roura, S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm-Wiss. U.-Technol*, 36, 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)
- Poshadri, A., & Aparna, K. (2010).** Microencapsulation technology: a review. *Journal of Research ANGRAU*, 38(1), 86–102.
- Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., & Ignacimuthu, S. (2006).** In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-6-39>
- Priftis, D., Leon, L., Song, Z., Perry, S. L., Margossian, K. O., Tropnikova, A., Cheng, J., & Tirrell, M. (2015).** Self-assembly of α -helical polypeptides driven by complex coacervation. *Angewandte Chemie*, 127(38), 11280–11284. <https://doi.org/10.1002/ange.201504861>
- Quézel, P., & Santa, S. (1962).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*.
- Radünz, M., Cristina, H., Mota, T., Francine, C., Nunes, P., Antonio, F., Barros, P. De, Dal, J., José, P., Filho, S., Avila, E., Luiz, A., & Zavareze, R. (2020).** International Journal of

- Food Microbiology Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 330. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108696>
- Rahman, A. ur, Nasim, S., Baig, I., Jalil, S., Orhan, I., Sener, B., & Choudhary, M. I. (2003).** Anti-inflammatory isoflavonoids from the rhizomes of *Iris germanica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 86(2–3), 177–180. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00055-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00055-2)
- Ramakrishnan, A., Pandit, N., Badgajar, M., Bhaskar, C., & Rao, M. (2007).** Encapsulation of endoglucanase using a biopolymer Gum Arabic for its controlled release. *Bioresource Technology*, 98(2), 368–372.
- Rascón, M. P., Beristain, C. I., García, H. S., & Salgado, M. A. (2011).** Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum Arabic and Soy protein isolate as wall materials. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2), 549–557. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.08.021>
- Raymond, M. C., Neufeld, R. J., & Poncelet, D. (2004).** Encapsulation of brewers yeast in chitosan coated carrageenan microspheres by emulsification/thermal gelation. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Immobilization Biotechnology*, 32(2), 275–291. <https://doi.org/10.1081/BIO-120037832>
- Razzaghi-Abyaneh, M., & Rai, M. (2013).** *Antifungal metabolites from plants.*
- Reddy, M. V. B., Angers, P., Gosselin, A., & Arul, J. (1998).** Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 47(8), 1515–1520. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00795-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00795-4)
- Reineccius, G. A., & Coulter, S. T. (1969).** Flavor Retention During Drying. *J. Dairy soienob*, 52. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(69\)86728-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(69)86728-7)
- Remuñán-López, C., Lorenzo-Lamosa, M. L., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1998).** Development of new chitosan-cellulose multicore microparticles for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 45(1), 49–56. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(97\)00122-7](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(97)00122-7)
- Riahi, L., Elferchichi, M., Ghazghazi, H., Jebali, J., Ziadi, S., Aouadhi, C., Chograni, H., Zaouali, Y., Zoghlami, N., & Mliki, A. (2013).** Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 49, 883–889. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.032>
- Ribeiro, A. J., Neufeld, R. J., Arnaud, P., & Chaumeil, J. C. (1999).** Microencapsulation of lipophilic drugs in chitosan-coated alginate microspheres. *International Journal of*

- Pharmaceutics*, 187(1), 115–123. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(99\)00173-8](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(99)00173-8)
- Richard, J., & Benoit, J.-P. (2000).** Microencapsulation. *Techniques de l'ingénieur. Génie Des Procédés*, 2(J2210), J2210--1.
- Rios, J. L., Recio, M. C., & Villar, A. (1988).** Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of ethnopharmacology*, 23(2-3), 127-149.
- Robin, A. (2012).** Conception d'étiquettes autoadhésives par microencapsulation d'adhésif (Doctoral dissertation, Université de Grenoble).
- Rokka, S., & Rantamäki, P. (2010).** Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*, 231(1), 1–12.
- Roque, A. C. A., Bicho, A., Batalha, I. L., Cardoso, A. S., & Hussain, A. (2009).** Biocompatible and bioactive gum Arabic coated iron oxide magnetic nanoparticles. *Journal of Biotechnology*, 144(4), 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.08.020>
- Rosenberg, M., Kopelman, I. J., & Talmon, Y. J. (1990).** *Factors Affecting Retention in Spray-Drying Microencapsulation of Volatile Materials*. 1288–1294.
- Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A., & Jordán, M. J. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, 19(7), 681–687. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.07.007>
- Roux, D., & Catier, O. (2007).** *Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie*, 3e éd. Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer France.
- Roy, J. C., Giraud, S., Ferri, A., Mossotti, R., Guan, J., & Salaün, F. (2018).** Influence of process parameters on microcapsule formation from chitosan—Type B gelatin complex coacervates. *Carbohydrate Polymers*, 198, 281–293. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.087>
- Ru, Q., Wang, Y., Lee, J., Ding, Y., & Huang, Q. (2012).** Turbidity and rheological properties of bovine serum albumin/pectin coacervates: Effect of salt concentration and initial protein/polysaccharide ratio. *Carbohydrate Polymers*, 88(3), 838–846. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.019>
- Ryma, L. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta*: activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide.(Thèse de doctorat, Université BADJI Mokhtar Annaba).
- Saéñz, C., Tapia, S., Chávez, J., & Robert, P. (2009).** Microencapsulation by spray drying of

- bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.095>
- Sáez, F. (1998).** Variability in essential oils from populations of *thymus hyemalis lange* in Southeastern Spain. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 5(4), 65–76. https://doi.org/10.1300/J044v05n04_08
- Saihi, D., Vroman, I., Giraud, S., & Bourbigot, S (2006).** Microencapsulation of ammonium phosphate with a polyurethane shell . Part II . Interfacial polymerization technique. *Reactive and Functional Polymers*, 66(10), 1118–1125. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2006.02.001>
- Sallé, J.-L. (1991).** *Le totum en phytothérapie: approche de phyto-biothérapie*. Éditions Frison-Roche.
- Sallé, J.-L. (2004).** *Les huiles essentielles: synthèse d'aromathérapie*. Editions Frison-Roche.
- Samant, S. K., SINGHAL, R. ., KULKARNI, P. R., & REGE, D. V. (1993).** Protein-polysaccharide interactions : a new approach in food formulations. *International Journal of Food Science and Teclznolog-V*, 28, 547–562.
- Sanchez, C., & Paquin, P. (1997).** Protein and protein-polysaccharide microparticles. *food science and technology-new york-marcel dekker*, 503–528.
- Sánchez, L., Sánchez, P., de Lucas, A., Carmona, M., & Rodr\`iguez, J. F. (2007).** Microencapsulation of PCMs with a polystyrene shell. *Colloid and Polymer Science*, 285(12), 1377–1385.
- Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F., & Sangwan, R. S. (2001).** Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, 34(1), 3–21.
- Sanna, V., Roggio, A. M., Pala, N., Marceddu, S., Lubinu, G., Mariani, A., & Sechi, M. (2015).** Effect of chitosan concentration on PLGA microcapsules for controlled release and stability of resveratrol. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 531–536. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.08.053>
- Sanogo, R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. (Thèse de doctorat, Université Bamako (Mali), 53.
- Santos, J. D. C., Coelho, E., Silva, R., Passos, C. P., Teixeira, P., Henriques, I., et al. (2019).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja Montana* byproducts essential oils. *Industrial Crops and Products*, 137, 541–548. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.058>
- Sarika, P. R., Pavithran, A., & James, N. R. (2015).** Cationized gelatin/gum arabic polyelectrolyte complex: Study of electrostatic interactions. *Food Hydrocolloids*, 49, 176–

182. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.039>
- Satchell, A. C., Saurajen, A., Bell, C., & Barnetson, R. S. C. (2002).** Treatment of dandruff with 5% tea tree oil shampoo. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *47*(6), 852–855. <https://doi.org/10.1067/mjd.2002.122734>
- Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Fougrach, H., Bourkhiss, B., Bousta, D., & Talbi, M. (2007).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, *146*, 85–96.
- Schmitt, C., Sanchez, C., Thomas, F., & Hardy, J. (1999).** Complex coacervation between β -lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium. *Food Hydrocolloids*, *13*(6), 483–496. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(99\)00032-6](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(99)00032-6)
- Schmitt, Ch, Sanchez, C., Desobry-Banon, S., & Hardy, J. (1998).** Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *38*(8), 689–753.
- Schmitt, Christophe, & Turgeon, S. L. (2011).** Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, *167*(1–2), 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.10.001>
- Sefton, M. V, & Broughton, R. L. (1982).** Microencapsulation of erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, *717*(3), 473–477.
- Selles, C. (2012).** Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5 M. (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen).
- Semyonov, D., Ramon, O., Kaplun, Z., Levin-Brener, L., Gurevich, N., & Shimoni, E. (2010).** Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by spray freeze drying. *Food Research International*, *43*(1), 193–202. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.028>
- Séquier, F. (2013).** Technologie de prilling: des principes fondamentaux du procédé au développement de microsphères lipidiques. (Doctoral dissertation, Université de Paris).
- Shaikh, J., Bhosale, R., & Singhal, R. (2006).** Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food Chemistry*, *94*(1), 105–110.
- Shen, X., Deng, C., Wang, B., & Dong, L. (2006).** Quantification of trimethylsilyl derivatives of amino acid disease biomarkers in neonatal blood samples by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *384*(4), 931–938. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-0241-0>
- Shu, B., Yu, W., Zhao, Y., & Liu, X. (2006).** Study on microencapsulation of lycopene by

- spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 76(4), 664–669.
- Shukla, P. G., Rajagopalan, N., & Sivaram, S. (1993).** Starch urea-formaldehyde matrix encapsulation. IV. Influence of solubility and physical state of encapsulant on rate and mechanism of release. *Journal of Applied Polymer Science*, 48(7), 1209–1222. <https://doi.org/10.1002/app.1993.070480709>
- Siani, A. C., Ramos, M. D. S., Menezes-de-Lima Jr, O., Ribeiro-dos-Santos, R., Fernandez-Ferreira, E., Soares, R. O. A., ... & Henriques, M. D. G. (1999).** Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(1), 57-69.
- Silva, C. M., Ribeiro, A. J., Figueiredo, I. V., Gonçalves, A. R., & Veiga, F. (2006).** Alginate microspheres prepared by internal gelation: Development and effect on insulin stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 311(1–2), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.10.050>
- Singh, C., Purohit, S., Pandey, B. L., & Singh, M. (2014).** Solvent Evaporation Technique of Microencapsulation: A Systemic Review. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis*. 4(3), 96–104.
- Singh, O. N., & Burgess, D. J. (1989).** Characterization of Albumin-Alginic Acid Complex Coacervation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 41(10), 670–673. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1989.tb06338.x>
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1996).** Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(5), 1202–1205. <https://doi.org/10.1021/jf950540t>
- Smallfield, B. M., Van Klink, J. W., Perry, N. B., & Dodds, K. G. (2001).** Coriander spice oil: Effects of fruit crushing and distillation time on yield and composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 118–123. <https://doi.org/10.1021/jf001024s>
- Sohi, H., Sultana, Y., & Khar, R. K. (2004).** Taste masking technologies in oral pharmaceuticals: recent developments and approaches. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 30(5), 429–448.
- Solène, J. (2012).** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).
- Song, J. K., Choi, H. J., & Chin, I. (2007).** Preparation and properties of electrophoretic microcapsules for electronic paper. *Journal of Microencapsulation*, 24(1), 11–19.
- Stone, A. K., & Nickerson, M. T. (2012).** Formation and functionality of whey protein isolate- (kappa-, iota-, and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes. *Food Hydrocolloids*,

27(2), 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.08.006>

- Stott, P. W., Williams, A. C., & Barry, B. W. (1996).** Characterization of complex coacervates of some tricyclic antidepressants and evaluation of their potential for enhancing transdermal flux. *Journal of Controlled Release*, 41(3), 215–227. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(96\)01328-4](https://doi.org/10.1016/0168-3659(96)01328-4)
- Sugamori, M. E., & Sefton, M. V. (1989).** Microencapsulation of pancreatic islets in a water insoluble polyacrylate. *ASAIO Transactions*, 35(4), 791–799.
- Suhr, K. I., & Nielsen, P. V. (2003).** Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal Of Applied Microbiology*, 94(4), 665–674.
- Supsakulchai, A., Ma, G. H., Nagai, M., & Omi, S. (2003).** Preparation of uniform titanium dioxide (TiO₂) polystyrene-based composite particles using the glass membrane emulsification process with a subsequent suspension polymerization. *Journal of Microencapsulation*, 20(1), 1–18.
- Syrbe, A., Bauer, W. J., & Klostermeyer, H. (1998).** Polymer science concepts in dairy systems - An overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal*, 8(3), 179–193. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00041-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00041-7)
- Tabanca, N., Demirci, F., & Hu, K. (2001).** Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Micromeria cristata* subsp . *phrygia* and the Enantiomeric Distribution of Borneol. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4300–4303.
- Tapondjou, L. A., Adler, C., Bouda, H., & Fontem, D. A. (2003).** Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des feuilles de " *Chenopodium ambrosioides*" et " *Eucalyptus saligna*" à l'égard de la bruche du niébé, " *Callosobruchus maculatus*" Fab.(Coleoptera, Bruchidae). *Cahiers Agricultures*, 12(6), 401–407.
- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005).** *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles.*
- Theron, F., Anxionnaz-minvielle, Z., Le, N., & Cabassud, M. (2012).** Chemical Engineering and Processing : Process Intensification Transposition from a batch to a continuous process for microencapsulation by interfacial polycondensation. *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 54, 42–54. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2012.01.001>
- Thies, C. (1973).** The reaction of gelatin/gum arabic coacervate gels with glutaraldehyde. *Journal of Colloid And Interface Science*, 44(1), 133–141. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(73\)90200-2](https://doi.org/10.1016/0021-9797(73)90200-2)
- Thies, C. (2005).** Microencapsulation. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, 1–29.

- Timilsena, Y. P., Wang, B., Adhikari, R., & Adhikari, B. (2015).** Preparation and characterization of chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 52, 554–563. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.033>
- Tirkkonen, S., Turakka, L., & Paronen, P. (1994).** Microencapsulation of indomethacin by gelatin-acacia complex coacervation in the presence of surfactants. *Journal of Microencapsulation*, 11(6), 615–626. <https://doi.org/10.3109/02652049409051111>
- Tisserand, R., & Balacs, T. (1995).** Essential oils safety. *Bell and Brain Ltd., Glasgow*.
- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2009).** Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 5987–6000. <https://doi.org/10.1021/jf900668n>
- Tiwari, M., & Tandon, V. (2004).** *Medicinal plants* (Vol. 1). Gyan Publishing House.
- Tolstoguzov, V. B. (1985).** Functional properties of protein-polysaccharide mixtures. *Functional Properties of Food Macromolecules*, 1, 252.
- Tolstoguzov, V. B. (1991).** Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. *Topics in Catalysis*, 4(6), 429–468. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80196-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80196-3)
- Tolstoguzov, V. B. (2003).** Some thermodynamic considerations in food formulation. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 1–23. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00111-4](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00111-4)
- Tomazelli Júnior, O., Kuhn, F., Padilha, P. J. M., Vicente, L. R. M., Costa, S. W., Boligon, A. A., Scapinello, J., Nesi, C. N., Dal Magro, J., & Lamo Castellví, S. (2018).** Microencapsulation of essential thyme oil by spray drying and its antimicrobial evaluation against vibrio alginolyticus and vibrio parahaemolyticus. *Brazilian Journal of Biology*, 78(2), 311–317. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.08716>
- Torini, L., Argillier, J. F., & Zydowicz, N. (2005).** Interfacial polycondensation encapsulation in miniemulsion. *Macromolecules*, 38(8), 3225–3236. <https://doi.org/10.1021/ma047808e>
- Trouillas, P., Calliste, C., Allais, D., Simon, A., Marfak, A., Delage, C., & Duroux, J. (2003).** Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chemistry*, 80, 399–407.
- Tümen, G., Ba\cser, K. H. C., Demirci, B., & Ermin, N. (1998).** The essential oils of Satureja coerulea Janka and Thymus aznavourii Velen. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(1), 65–67.
- Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013).** Stability of essential oils: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(1), 40–53. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12006>

- Ultee, A., Kets, E. P. W., & Smid, E. J. (1999).** Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 65(10), 4606-4610.
- Ünlü, M., Daferera, D., Dönmez, E., Polissiou, M., Tepe, B., & Sökmen, A. (2002).** Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*, 83(1–2), 117–121. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00218-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00218-0)
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Van Vuuren, S. F., Suliman, S., & Viljoen, A. M. (2009).** The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. *Letters in Applied Microbiology*, 48(4), 440–446. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02548.x>
- Vandamme, T. F., Poncelet, D., & Subra-Paternault, P. (2007).** *Microencapsulation: des sciences aux technologies*. Editions Tec & Doc.
- Versic, R. J. (1988).** *Flavor encapsulation: an overview*.
- Vila, R., Freixa, B., Cañigueral, S., Adzet, T., Tomàs, X., & Molins, J. J. (1995).** Composition and study of the variability of the essential oil of *Thymus funkii* Cosson. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(6), 379–383.
- Viuda-Martos, M., Navajas, Y. R., Zapata, E. S., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2008).** Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. 2009(April), 152–163. <https://doi.org/10.1002/ffj>
- Wang, B., Adhikari, B., & Barrow, C. J. (2014).** Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium hexametaphosphate using complex coacervation. *Food Chemistry*, 158, 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.135>
- Wang, R., Tian, Z., & Chen, L. (2011).** A novel process for microencapsulation of fish oil with barley protein. *Food Research International*, 44(9), 2735–2741. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.013>
- Wang, S. Y., Wu, J. H., Shyur, L. F., Kuo, Y. H., & Chang, S. T. (2002).** Antioxidant activity of abietane-type diterpenes from heartwood of *Taiwania cryptomerioides* Hayata. *Holzforschung*, 56(5), 487–492. <https://doi.org/10.1515/HF.2002.075>
- Watanabe, Y., Fang, X., Minemoto, Y., Adachi, S., & Matsuno, R. (2002).** Suppressive effect of saturated acyl L-ascorbate on the oxidation of linoleic acid encapsulated with

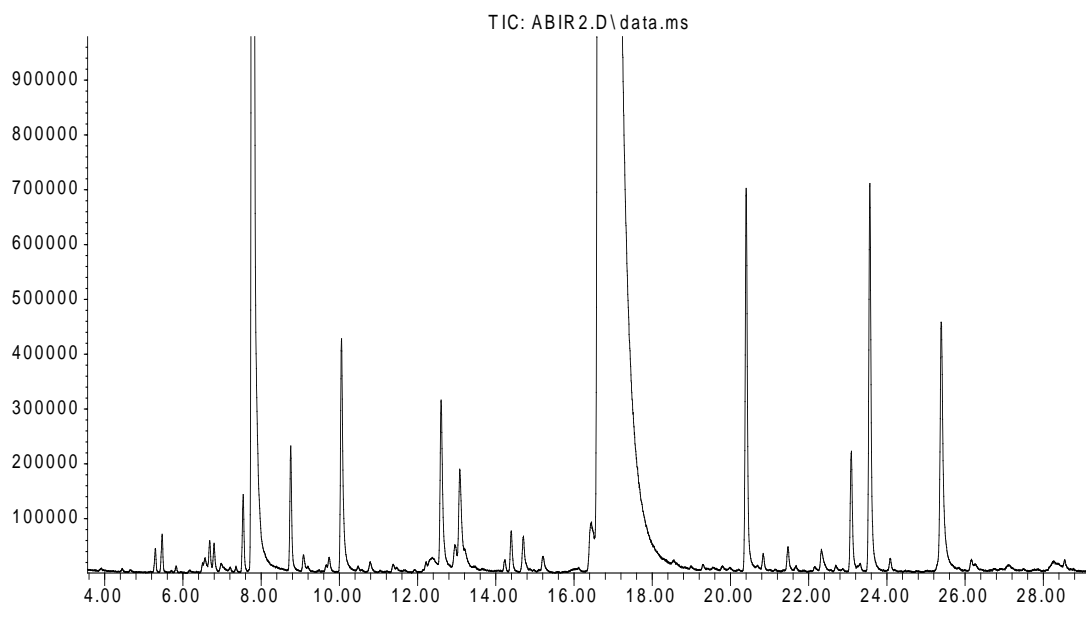
- maltodextrin or gum arabic by spray-drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 3984–3987. <https://doi.org/10.1021/jf011656u>
- Wee, M. S. M., Nurhazwani, S., Tan, K. W. J., Goh, K. K. T., Sims, I. M., & Matia-Merino, L. (2014).** Complex coacervation of an arabinogalactan-protein extracted from the *Meryta sinclarii* tree (puka gum) and whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 42, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.005>
- Weinbreck, F., Nieuwenhuijse, H., Robijn, G. W., & De Kruif, C. G. (2004).** Complexation of whey proteins with carrageenan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3550-3555.
- Weinbreck, F., De Vries, R., Schrooyen, P., & De Kruif, C. G. (2003).** Complex coacervation of whey proteins and gum arabic. *Biomacromolecules*, 4(2), 293–303.
- Weyerstahl, P., Christiansen, C., Gundidza, M., & Mavi, S. (1992).** Constituents of the Essential Oil of *Heteropyxis natalensis*. *Journal of Essential Oil*, 4(5), 439–445. <https://doi.org/10.1080/10412905.1992.9698107>
- Wilson, N., & Shah, N. P. (2007).** Microencapsulation of vitamins. *International Food Research Journal*, 14(1), 1–14.
- Wischke, C., & Schwendeman, S. P. (2008).** Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 364(2), 298–327. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.04.042>
- Wright, G. D., & Sutherland, A. D. (2007).** New strategies for combating multidrug-resistant bacteria. *Trends in Molecular Medicine*, 13(6), 260–267. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.04.004>
- Xia, J., & Dubin, P. L. (1994).** Protein-polyelectrolyte complexes. *Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology*, 247–271. https://doi.org/10.1007/978-3-642-78469-9_15
- Xiao, J., Yu, H., & Yang, J. (2011).** Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry*, 125(4), 1267–1272. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.063>
- Yakhlef, G. (2010).** Etude de l'activite biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- Yang, Y. Y., Chung, T. S., & Ping Ng, N. (2001).** Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method. *Biomaterials*, 22(3), 231–241. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00178-2](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00178-2)
- Yang, Z., Peng, Z., Li, J., Li, S., Kong, L., Li, P., & Wang, Q. (2014).** Development and

- evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex coacervation approach. *Food Chemistry*, 145, 272–277. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.074>
- Ye, A. (2008).** Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: Principles and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(3), 406–415. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01454.x>
- Yeo, Y., Baek, N., & Park, K. (2001).** Microencapsulation methods for delivery of protein drugs. *Biochemical Bioprocess Engineering*, 6, 213–230.
- Yeo, Y., Bellas, E., Firestone, W., Langer, R., & Kohane, D. S. (2005).** Complex coacervates for thermally sensitive controlled release of flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(19), 7518–7525. <https://doi.org/10.1021/jf0507947>
- Yoo, S. H., Song, Y. B., Chang, P. S., & Lee, H. G. (2006).** Microencapsulation of α -tocopherol using sodium alginate and its controlled release properties. *International journal of biological macromolecules*, 38(1), 25-30. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2005.12.013>
- Yu, J.-Y., & Lee, W.-C. (1997).** Microencapsulation of Pyrrolnitrin from *Pseudomonas cepacia* Using Gluten and Casein. *Journal of fermentation and bioengineering*, 84(5), 444–448.
- Yuliani, S., Torley, P. J., Arcy, B. D. Ñ., Nicholson, T., & Bhandari, B. (2006).** Extrusion of mixtures of starch and D -limonene encapsulated with b -cyclodextrin : Flavour retention and physical properties. 39, 318–331. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.08.005>
- Zantar, S., Garrouj, D., Pagán, R., Chabi, M., Laglaoui, A., Bakkali, M., & Zerrouk, M. (2015).** Effect of Harvest Time on Yield, Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* Essential Oils. *European Journal of Medicinal Plants*, 8(2), 69–77. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2015/17513>
- Zarzuelo, A., & Crespo, E. (2002).** The medicinal and non-medicinal uses of thyme. *Thyme: The Genus Thymus*, 17, 263–292.
- Zeghib, A., Laggoune, S., Kabouche, A., Semra, Z., Smati, F., Touzani, R., & Kabouche, Z. (2013).** Composition, antibacterial and antioxidant activity of the essential oil of *Thymus numidicus* Poiret from Constantine (Algeria). *Der Pharmacia Lettre*, 5(3), 206-210.
- Zheng, L., Ding, Z., Zhang, M., & Sun, J. (2011).** Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose : Preparation and characterization. *Journal of Food Engineering*, 104(1), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.11.031>
- Zhiri, A., & Baudoux, D. (2005).** *Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies: aromathérapie scientifique*. Luxembourg: Édition Inspir Development.
- Zydowicz, N., Chaumont, P., & Soto-Portas, M. L. (2001).** Formation of aqueous core

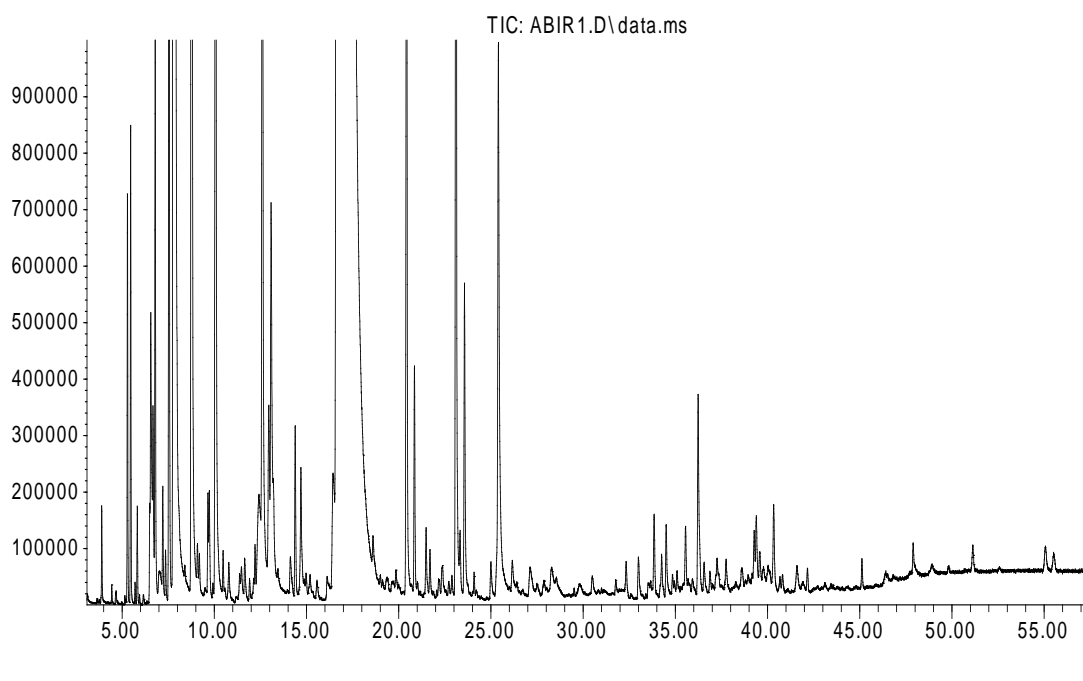
polyamide microcapsules obtained via interfacial polycondensation: Optimization of the membrane formation through pH control. *Journal of Membrane Science*, 189(1), 41–58.
[https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(01\)00385-4](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(01)00385-4)

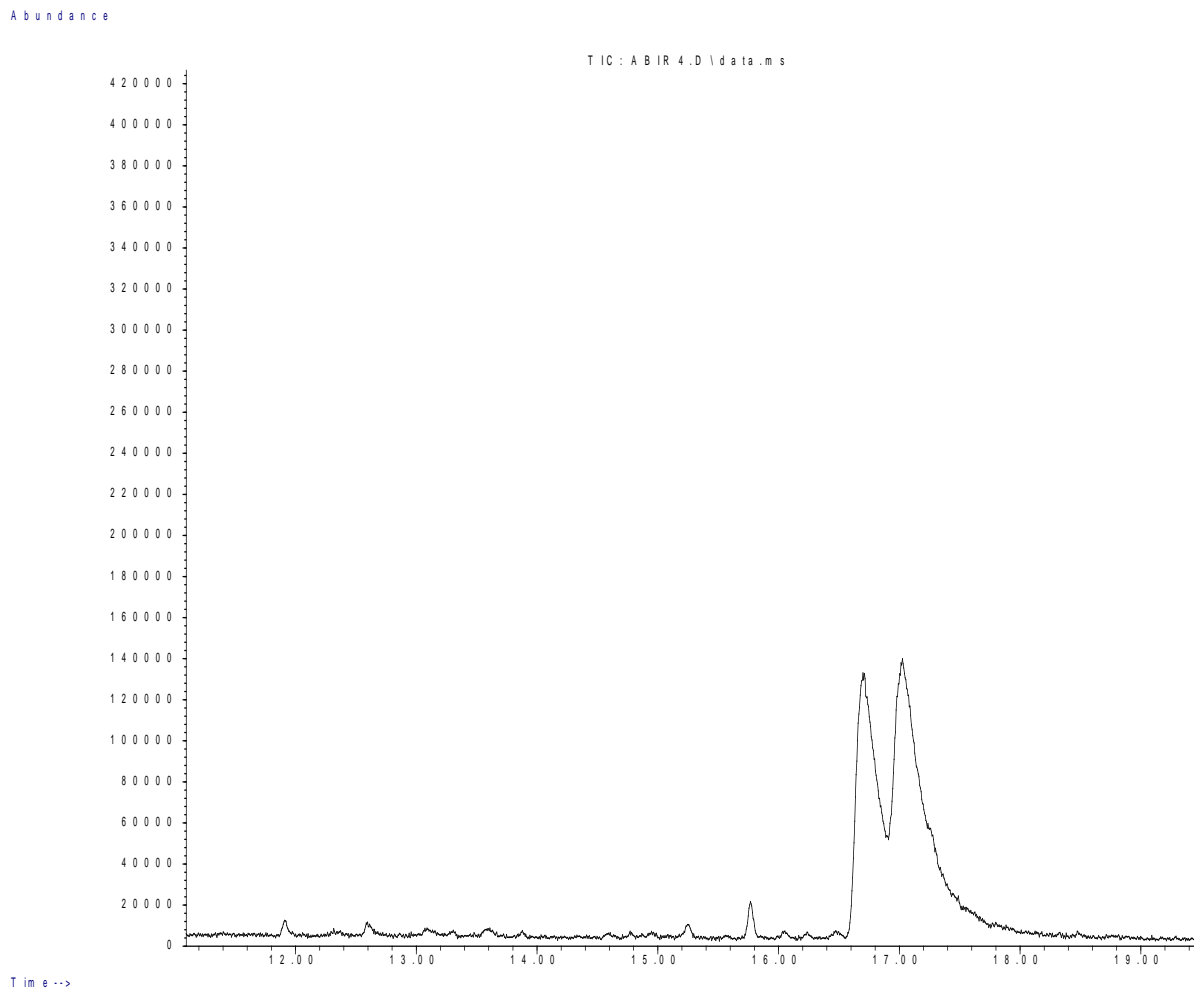
Annexes

Abundance

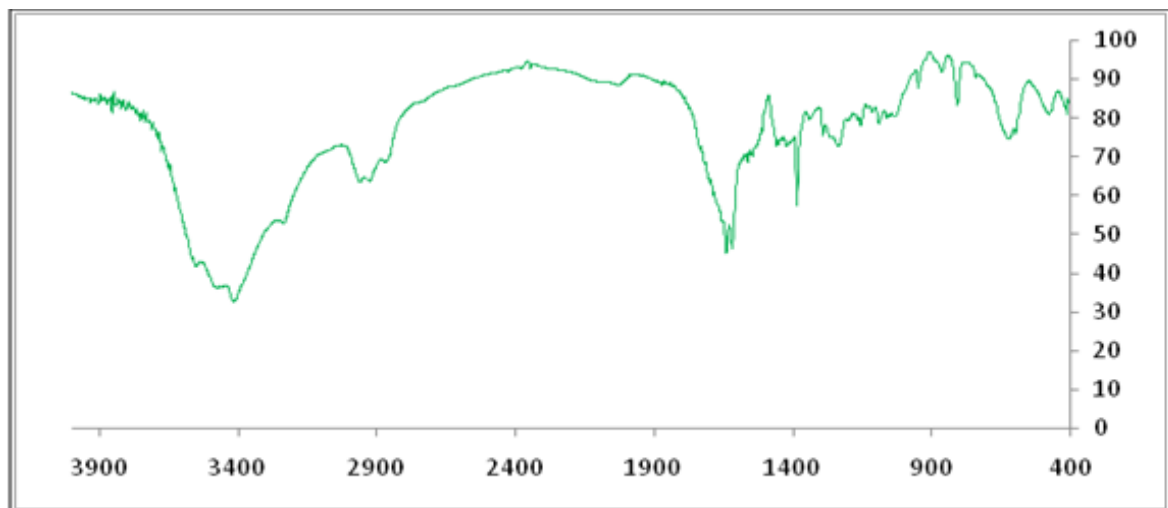
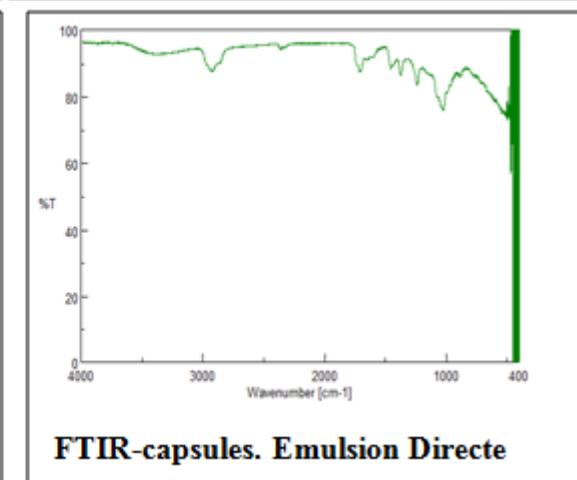
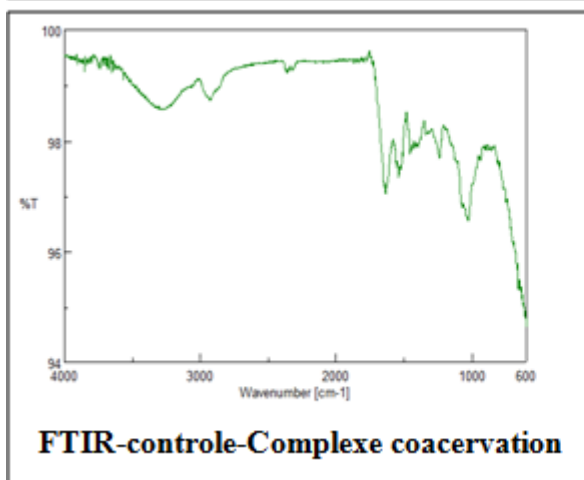
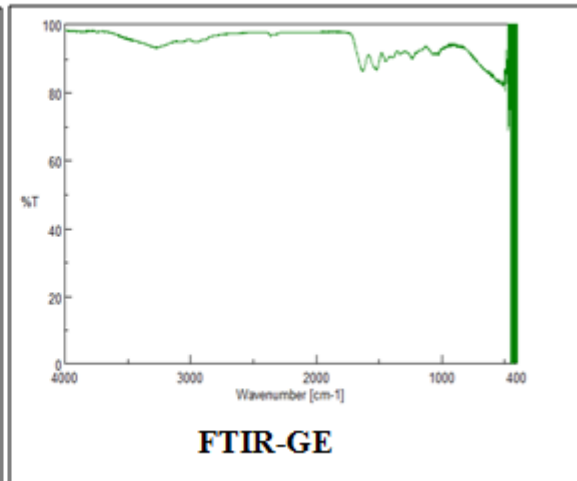
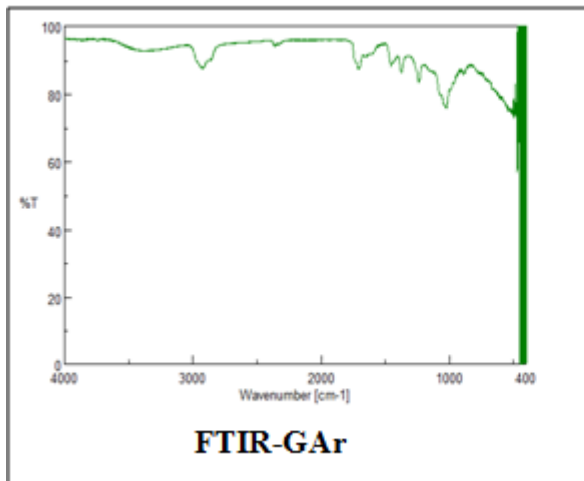
**Annexe 1.** Chromatographie CPG/MS de l'huile essentielle de *thymus vulgaris* pure

Abundance

**Annexe 2.** Chromatographie huile essentielle de *Thymus vulgaris* encapsulée de méthode de coacervation complexe



Annexe 3. Chromatographie huile essentielle de *Thymus vulgaris* pure encapsulée de la phase liquide de méthode d'émulsion directe



Annexe 4. Spectres FTIR individuels

Résumés

Résumé

L'encapsulation est une technique permettant d'emprisonner des liquides ou des solides dans une enveloppe qui les isole dans le but de les protéger de l'environnement extérieur, ou de maîtriser leur libération dans un environnement choisi. L'élaboration de système d'encapsulation permet de protéger les substances actives à la fois contre la dégradation physique (précipitation, cristallisation), la dégradation chimique (oxydation) induite par l'exposition à l'oxygène, la lumière, l'humidité, la température ou les changements de force ionique ou de contrôler leur libération dans des conditions souhaitées. Dans ce but, cette étude a pour objectif d'explorer la capacité de deux techniques (coacervation complexe et émulsion directe) à immobiliser et enrober les composés volatils de l'huile essentielle de thym. En outre, ce travail vise à évaluer les deux méthodes en fonction de leur rendement, efficacité d'immobilisation, caractérisation des particules obtenues et de leur profil de relargage.

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle est de 1,64%. Son analyse chromatographique couplée à la spectrophotométrie de masse (GC/MS) montre que le thymol (56,38%) et le carvacrol (23,84%) sont les composants majoritaires. Le protocole de synthèse des microparticules est réalisé avec différents rapports de masse polymère/polysaccharide, quantités d'huiles essentielles et agent de réticulation. Les images de microscope optique des microcapsules ont montré une forme sphérique pour des particules de diamètre variant entre 5 et 50- μ m. L'analyse MEB indique que les meilleures particules sont obtenues avec un ratio de polymère de 7%: 8% et le formaldéhyde comme agent de réticulation. Le rendement d'encapsulation est de 65% et 98% respectivement pour la coacervation complexe et l'émulsion directe. L'efficacité de l'encapsulation révèle que la quantité de monoterpènes oxygénés représente entre 74,31-78,34% de la quantité totale tandis que celle des hydrocarbures monoterpènes est de 16,03 et 19,77% suivie par celle des hydrocarbures sesquiterpènes (3,7-4,2%) respectivement pour la coacervation complexe et l'émulsion directe. Ce résultat confirme que l'efficacité d'encapsulation est liée à la polarité des composants du thym. Tous les résultats confirment le succès de l'encapsulation de l'HE de thym en termes de stockage, de protection et de libération avec une stabilité thermique. Une cinétique de libération plus rapide de l'huile essentielle pour l'encapsulation par émulsion directe comparativement à celle trouvée pour la coacervation complexe dont le profil de libération est plus lent et une meilleure stabilité thermique.

L'activité antioxydante d'huile encapsulée est très significative 90,81 et 90,93% pour coacervation complexe et émulsion directe, respectivement, et sont identiques à l'huile pure 95,88%. En outre, il est à constater que l'huile encapsulée inhibe la croissance des microorganismes tel que *S.aureus* (64 et 60 mm); *E.coli*; (41 et 41 mm) ; *B.subtilis* (66 et 61 mm) et *Ps.aeruginosa* (12 et 12 mm) pour coacervation complexe et émulsion directe, respectivement, en comparaison avec ceux de l'huile pure *S. aureus* (62 mm), *E. coli* (44 mm), *B. subtilis* (68 mm), et *P. aeruginosa* (12 mm).

Les capsules des huiles essentielles ont montré un spectre d'activité large et une inhibition forte identique par rapport à l'huile essentielle pure étudiée. Ces résultats mettent en évidence des fortes activités antibactériennes et antioxydantes de l'huile de *Thymus vulgaris*, ce qui nous laisse proposer l'encapsulation par coacervation complexe de cette huile essentielle comme un excellent procédé de conservation pour d'éventuelles applications biotechnologiques.

Mots clés : huile essentielle, *Thymus vulgaris*, coacervation complexe, émulsion directe, propriétés structurales, propriétés physiques, pouvoir antioxydant, activité antimicrobienne.

Abstract

Encapsulation is used to envelope and isolates liquids or solids in an envelope in coat in order to protect them from the external environment, or to control their release in a chosen environment. The encapsulation systems makes it possible to protect the active substances both against physical degradation (precipitation, crystallization), chemical degradation (oxidation) induced by exposure to oxygen, light, humidity, temperature or ionic strength changes, or control their release under desired conditions.

This study aims to explore the ability of two encapsulation techniques (complex coacervation and direct emulsion) to immobilize and coat the volatile compounds of thyme essential oil. In addition, this work aims to evaluate the two methods according to their performance, immobilization efficiency, characterization of the particles obtained and their release profile.

The essential oil extraction yield is 1.64%. Its chromatographic analysis coupled with mass spectrophotometry (GC/MS) shows that thymol (56.38%) and carvacrol (23.84%) are the major components. The microparticle synthesis protocol is carried out with different polymer/polysaccharide mass ratios, quantities of essential oils and crosslinking agent. Optical microscope images of the microcapsules shows a spherical shape for particles of diameter varying between 5 and 50- μ m. SEM analysis indicates that the best particles are obtained with a polymer ratio of 7%: 8% and formaldehyde as crosslinking agent. The encapsulation yield is 65% and 98% for the complex coacervation and the direct emulsion, respectively. The efficiency of the encapsulation reveals that the quantity of oxygenated monoterpenes represents between 74.31-78.34% of the total quantity while that of monoterpene hydrocarbons is 16.03 and 19.77% followed by that of sesquiterpene hydrocarbons (3.7-4.2%) for the complex coacervation and the direct emulsion, respectively. This result confirms that the encapsulation efficiency is related to the polarity of the components of thyme. All results confirm the success of thyme EO encapsulation in terms of storage, protection release and thermal stability. Faster release kinetics of essential oil for direct emulsion encapsulation compared to that showed for complex coacervation which has a slower release profile and better thermal stability.

The antioxidant activity of encapsulated oil is very significant 90.81 and 90.93% for complex coacervation and direct emulsion, respectively, and is identical to pure oil 95.88%. In addition, it is observed that the encapsulated oil inhibits the growth of microorganisms such as: *S. aureus* (64 and 60 mm); *E.coli*; (41 and 41 mm); *B.subtilis* (66 and 61 mm) and *Ps.aeruginosa* (12 and 12 mm) for complex coacervation and direct emulsion, respectively, in comparison with those of pure oil *S. aureus* (62 mm), *E. coli* (44 mm), *B. subtilis* (68 mm), and *P. aeruginosa* (12 mm).

The essential oil capsules showed a broad spectrum of activity and identical strong inhibition compared to the pure essential oil studied. These results highlight the strong antibacterial and antioxidant activities of the oil of *Thymus vulgaris*, which allows us to propose the encapsulation by complex coacervation of this essential oil as an excellent preservation process for possible biotechnological applications.

Keys words: Essential oils, *Thymus vulgaris*, complex coacervation, direct emulsion, structural features, physical proprieties, antioxidant potent, antimicrobial activity.

الملخص

التغليف هو تقنية لاحتجاز السوائل أو المواد الصلبة في غلاف يعزلها لحمايتها من البيئة الخارجية ، أو للتحكم في إطلاقها في بيئة مختارة. إن تطوير أنظمة التغليف يجعل من الممكن حماية المواد الفعالة من التدهور الفيزيائي (الترسيب ، التبلور)، التحلل الكيميائي (الأكسدة) الناجم عن التعرض للأكسجين ، الضوء ، الرطوبة ، درجة الحرارة أو تغيرات القوة الأيونية أو التحكم في إطلاقها في ظل الظروف المرغوبة . تحقيقاً لهذه الغاية ، تهدف هذه الدراسة إلى استكشاف قدرة التقنيتين (الحفظ المعقد والمستحلب المباشر) على تثبيت وتغليف المركبات الطيارة من زيت الزعتر الأساسي. بالإضافة إلى ذلك يهدف هذا العمل إلى تقييم الطريقتين وفقاً لأدائهما وكفاءة التثبيت ووصف الجسيمات التي تم الحصول عليها.

نسبة الزيت العطري 1.64%. يُظهر تحليلها الكروماتوغرافي إلى جانب قياس الطيف الضوئي الكتلي أن الثيمول (56.38%) والكارفاكرول (23.84%) هما المكونان الرئيسيان، يتم تنفيذ بروتوكول صناعة الجسيمات الدقيقة بنسب (كتلة البروتين / متعدد السكريات) وكميات من الزيوت الأساسية وعامل التشابك حيث أظهرت صور المجهر الضوئي للكبسولات الدقيقة شكلاً كروياً لجزيئات ذات قطر يتراوح بين 5 و 50 ميكرومتر. يشير التحليل انه أفضل الجسيمات تم الحصول عليها بنسبة 7: 8% (البروتين / متعدد السكريات) والفورمالديهايد كعامل ربط. يبلغ مردود التغليف 65% 98% على التوالي للتماسك المعقد والمستحلب المباشر، تكشف كفاءة التغليف أن كمية أحادي التربينات المؤكسجة تمثل ما بين 74.31-78.34% من إجمالي الكمية، بينما تبلغ نسبة الهيدروكربونات أحادية التربين 16.03 و 19.77% تليها تلك الخاصة بالهيدروكربونات سيسكويتربينية 3.7-4.2 % للطريقتين على التوالي. هذه النتيجة تدل على أن كفاءة التغليف مرتبطة بقطبية مكونات الزعتر و تؤكد جميع النتائج نجاح تغليف الزعتر من حيث التخزين والحماية والإطلاق مع ثبات حراري . حركية إطلاق أسرع تميز الزيت العطري المغلف بالمستحلب المباشر مقارنةً بتلك الموجودة في الحشو المعقد الذي يتميز بمظهر إطلاق أبطأ واستقرار حراري أفضل.

يعتبر النشاط المضاد للأكسدة للزيت المغلف مهماً جداً بنسبة 90.81 و 90.93% للتماسك المعقد والمستحلب المباشر، على التوالي ، وهو مطابق للزيت النقي بنسبة 95.88%. بالإضافة إلى ذلك ، لوحظ أن الزيت المغلف يمنع نمو الكائنات الحية الدقيقة مثل *S.aureus* (60 و 64 مم)، *E.coli* (41 و 41 مم)، *B.subtilis* (66 و 61 مم)، *Ps.aeruginosa* (12 و 12 مم) للتماسك المعقد والمستحلب المباشر ، على التوالي ، بالمقارنة مع تلك الخاصة بالزيت النقي *S.aureus* (62 مم) ، *E.coli* (44 مم)، *B.subtilis* (68 مم) *Ps.aeruginosa* (12 مم). كما أظهرت كبسولات الزيت العطري طيفاً واسعاً من النشاط وتثبيتاً قوياً مماثلاً مقارنة بالزيت العطري النقي الذي تمت دراسته. تسلط هذه النتائج الضوء على الأنشطة القوية المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة لزيت الزعتر. مما يسمح لنا باقتراح التغليف عن طريق التماسك المعقد لهذا الزيت العطري كعملية حفظ ممتازة لتطبيقات التكنولوجيا الحيوية المحتملة.

الكلمات المفتاحية: الزيت العطري ، التماسك المعقد ، المستحلب المباشر ، الخصائص التركيبية ، الخصائص الفيزيائية ، القوة المضادة للأكسدة ، النشاط المضاد للميكروبات.

Arabian Journal for Science and Engineering
<https://doi.org/10.1007/s13369-020-05223-w>

RESEARCH ARTICLE-BIOLOGICAL SCIENCES



Preparation of *Thymus vulgaris* Essential Oil Microcapsules by Complex Coacervation and Direct Emulsion: Synthesis, Characterization and Controlled Release Properties

Samira Chaib¹ · Nejib Benali^{2,5} · Rabah Arhab¹ · Insaf Sadraoui Ajmi³ · Houcine Bendaoued^{4,5} · Mehrez Romdhane⁵

Received: 21 July 2020 / Accepted: 7 December 2020
© King Fahd University of Petroleum & Minerals 2020

Abstract

This study examines the preparation and characterization of *Thymus vulgaris* (L.) essential oil (TEO) microcapsules obtained by complex coacervation and direct emulsion techniques. The extraction yield of TEO for this study was 1.64% with Thymol (56.38%) and carvacrol (23.84%) as dominant components. The synthesis protocol was conducted with different polymer/polysaccharide mass ratios, essential oils quantities and cross-linking agent. Optical microscopy images of the microcapsules show spherical shape for particles of different diameters ranging from 5 to 50 μm . SEM analysis shows that the best results were obtained with a polymers ratio of 7%:8% and formaldehyde as cross-linking agent. The encapsulation yield is 65.67 and 98% for complex coacervation and direct emulsion, respectively. The encapsulation efficiency reveals that the amount of oxygenated monoterpenes encapsulated represents 78.34–74.31% of the total coated amount. Monoterpenes hydrocarbons represent 16.03–19.77%, followed by sesquiterpenes hydrocarbons at 3.7–4.2% for complex coacervation and direct emulsion, respectively. This result confirms that encapsulation efficiency can be related to the polarity of each TEO component. All results support the success of TEO encapsulation in terms of storage, protection and release, with lower thermal stability and faster TEO release kinetic for direct emulsion encapsulation. This result contrasts with complex coacervation, which provides a slower release profile and better thermal stability.

Keywords *Thymus vulgaris* · Essential oils · Encapsulation · Physical characterization · Release kinetics



RSDT



TOXICO
MED

Attestation de Communication

Le président du premier congrès national sur

Valorisation des Substances et Matériaux Naturels

organisé par l'équipe MeTox-Toxicomed, Université de Tlemcen du 05 au 06 juin 2021, atteste que :

CHAIB Samira

A présenté une **Communication** Affichée intitulée: **La coacervation complexe d'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.**

Co-auteurs: ARHAB Rabah, BENALI Nejib, SADRAOUI AJMI Insaf.

Le Président

SELKA Mohammed Adil
Maître de Conférences A
En Pharmaco-génie

1^{er} congrès national du
Laboratoire de Recherche
Toxicomed équipe MeTox

Délivrée le : 06/06/2021



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences et de la Technologie HOUARI BOUMEDIENE
Faculté de Génie Mécanique et Génie des Procédés



Laboratoire des Sciences du Génie des Procédés Industriels & Laboratoire de Génie de la Réaction

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Le Comité d'organisation du Séminaire national sur la Sécurité Alimentaire et Développement Durable (SSADD'19) organisé à l'USTHB (Alger) le 23 Avril 2019, atteste que :

M / Mme / Mlle : **CHAIB S.**

a participé à cette manifestation : une communication orale une communication par affiche intitulée :
«PHENOLIC COMPOSITION, NUTRITIVE VALUE AND ANTIMETHANOGENIC ACTIVITY OF OLIVE MILL WASTEWATER (OMWW) ACCORDING TO OLIVE VARIETY AND EXTRACTION PROCESS»

Co-Auteurs : **ARHAB R., AGGOUN M., MIHRAB K.**

La présente attestation est délivrée à l'intéressé pour servir et valoir ce que de droit.

Le Président du Comité Scientifique

Pr Hamid AIT-AMMAR



La présidente du Comité d'organisation

Dr S. AKRETICHE-KELFAT





Third International Symposium
Medicinal Plants and Materials (MPM-2020)



Certificate of Participation

The Organizing Committee of the Third International Symposium **Medicinal Plants and Materials (MPM-2020)** organized in University of Larbi Tebessi- Tebessa (Algeria) on February 25 to 27, 2020, certify that:

Chaib Samira

presented a Poster communication entitled:

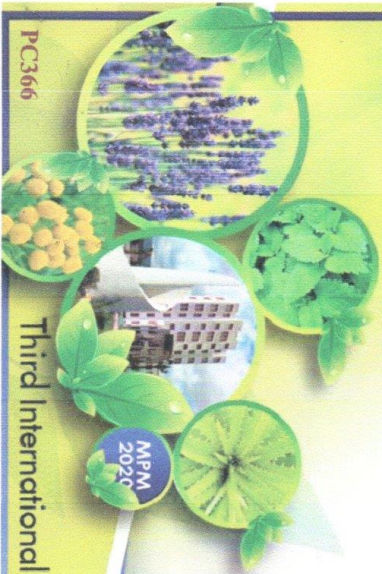
Effect of Camellia Sinensis and Trigonella Foennum-Greacum saponins in vitro Rummen fermentation of VETCH-OAT HAY

Co-author (s) : Arhab Rabah, Aggoun Mouflida, Mitrab Kaouther

تلقى عبد الكليل بن بوعبيد
والبحر واليحيى
الغارجدو
متمسرة فو
مجلس

President of Symposium

Dr. MENACEUR Fouad



PC366

Third International Symposium (MPM - 2020)