

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. Mira-Béjaïa
Faculté des Sciences Exactes
Département de Physique

Spécialité : Biophysique et Imagerie

Mémoire présenté par

HAMITOUCHE Hassen et SAOUDI Fayçal

*Dans le cadre de l'obtention du diplôme de
Master en Biophysique et Imagerie*

Intitulé

**Encapsulation des protéines
dans une matrice de silice
par le procédé sol-gel**

Soutenu publiquement le 30/06/2015 devant le jury :

Président	M. MAHTOUT S.	MCA	U.A.M.	Béjaïa
Examineur	M. KEMIHA M.	MCA	U.A.M.	Béjaïa
Invité	M. BOUDJOUAN F.	Doctorant	U.A.M.	Béjaïa
Rapporteur	M. AKSAS A.	MCA	U.A.M.	Béjaïa

Table des figures

1.1	Structure d'un acide aminé	14
1.2	Formation d'une liaison peptidique entre deux acides aminés	15
1.3	La liaison hydrogène formée entre l'oxygène et l'azote	15
1.4	Les angles présents dans un groupe peptidique	16
1.5	Illustration d'une chaîne polypeptidique	17
1.6	Représentation des angles Ψ et Φ	17
1.7	Le graphique de Ramachandran	18
1.8	La structure secondaire de la liaison peptidique	19
1.9	Représentation d'une unité peptidique planaire	19
1.10	Types d'interaction électrostatiques	21
1.11	Liaisons covalentes et ponts disulfures	21
1.12	Hémoglobine (structure quaternaire)	22
1.13	Alignement des acides aminés dans L' α -kératine	23
2.1	Schéma d'une microcapsule (Ra : rayon du noyau ; Rb : rayon de la microcapsule)	25
2.2	Vue au SEM d'une microcapsule coupée en deux	25
2.3	Morphologie des microcapsules	26
2.4	Microscopie électronique sur des microcapsules dans un produit textile	27
2.5	Réaction polyamide	27
2.6	Structure d'une membrane polyamide	27
2.7	Vue au SEM de microcapsules produites par polymérisation in-situ	28
2.8	Représentation du processus de coacervation	29
2.9	Microcapsules de gélatine contenant un matériau changeant de phase préparée par la méthode de coacervation	29
2.10	Microencapsulation par expansion rapide de la solution supercritique (RESS)	31
2.11	Représentation schématique du processus de co-extrusion	33
2.12	Schéma du processus de microencapsulation par spray-drying	33
2.13	Représentation de la formation de microcapsules par centrifugation	34
2.14	Représentation des deux familles de modes de libération des PA	36
3.1	Les produits de la transition sol-gel	41

3.2	Mécanisme d'hydrolyse des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$	43
3.3	Mécanisme d'hydrolyse des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$ dans un milieu acide	43
3.4	Mécanisme d'hydrolyse des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$ dans un milieu basique	44
3.5	Catalyse d'un alcoxyde de silicium par fluorure	44
3.6	Exemple de réaction hydrolyse du TEOS	45
3.7	Mécanisme d'alcoxolation d'un alcoxydes métallique $M(OR)_n$	46
3.8	Mécanisme d'oxolation d'un alcoxydes métallique $M(OR)_n$	46
3.9	Exemple de condensation pour le silicium	47
3.10	Variation de la viscosité et de l'élasticité en fonction du temps pour un gel de silice synthétisé à partir du TMOS	47
3.11	Les étapes de formation du gel	48
3.12	Schématisation du processus de polymérisation durant le procédé sol-gel . .	49
4.1	Xerogel + colorant	55
4.2	Gel + albumine	55
4.3	Xerogel + asparaginase	56
4.4	Albumine en poudre	56
4.5	Autoclave	56
4.6	Gel + albumine séchés	57
4.7	Gel + albumine séché et broyé (poudre)	57
4.8	Représentation du principe de la DRX	58
4.9	Schéma de fonctionnement d'un diffractomètre de rayons X	58
4.10	Diffractomètre à rayons X (PANalytical)	59
4.11	Paramètre β à partir du pic de DRX	59
4.12	FT-IR (IRAffinity)	60
5.1	Albumine pure	62
5.2	Monolithe SiO_2 /albumine	62
5.3	Spectre FT-IR obtenu de l'albumine.	63
5.4	Spectre FT-IR obtenu de l'aérogel SiO_2 /albumine	64
5.5	Zone de 4000 à 1400 cm^{-1}	65
5.6	Résultats obtenus par Peng Huang et al sur la transmittance de l'albumine bovine	65
5.7	Spectre FTIR à transmittance lié aux vibrations caractéristiques du réseau de silice.	66
5.8	Transmittance de l'aérogel SiO_2 /Albumine	67

Liste des tableaux

1.1	Classification de certaines protéines selon leurs fonctions	13
3.1	Propriétés physiques des tetraalkoxysilanes	42
3.2	Temps de gélification et pH de la solution pour différents systèmes de TEOS utilisant différents catalyseurs	45
3.3	Vitesse d'hydrolyse de différents alkoxydes en fonction de l'électronégativité et du nombre de coordination du métal correspondant	51
3.4	Propriétés physiques des solvants les plus utilisés	52

Liste des abréviations

°C : degrés celsius

μm : micromètre

AcacH : acetylacetone

ADN : acide désoxyribonucléique

CNP : composés non protéiques

da : dalton

DRX : diffraction des rayons X

EGF : epidermal growth factor

FSH : folliculostimulating hormoliulne

FT-IR : Fourier transform infra red

GAP : GTPase activating protein

L-B-L : layer-by-layer

M : métal

min : minute

PA : principe actif

pH : potentiel hydrogène

POM : polyoxométallate

RESS : rapide expansion of supercritical solution

SEM : scanning electron microscopy

SN₁ : substitution nucléophile type I

SN₂ : substitution nucléophile type II

T : température

TEOS : tétraéthylorthosilicate

TMOS : tétraméthylorthosilicate

uma : unité de masse atomique

UV : ultraviolet

Table des matières

Introduction	10
1 Protéines	11
1.1 Généralités sur les protéines	11
1.2 Classification des protéines	12
1.2.1 Selon la forme	12
1.2.2 Selon la fonction	12
1.2.3 Selon la composition	13
1.3 Les acides aminés	14
1.3.1 Formule générale	14
1.3.2 Enchainement des acides aminés (La liaison peptique)	14
1.4 Les différentes structures des protéines	15
1.4.1 Structure primaire	16
1.4.2 Structure secondaire	17
1.4.3 Structure tertiaire	20
1.4.4 Structure quaternaire	22
1.5 Quelques exemples de protéines	22
1.5.1 L' α -kératine	22
1.5.2 L'albumine	23
1.5.3 L'asparaginase	23
2 Microencapsulation	24
2.1 Microencapsulation	24
2.2 Morphologie des microcapsules	26
2.3 Techniques de microencapsulation	26
2.3.1 Methodes chimiques	27
2.3.2 Méthodes physico-chimiques	29
2.3.3 Méthodes physico-mécaniques	32

2.4	Facteurs influençant l'efficacité de la microencapsulation	35
2.4.1	Faible efficacité	35
2.4.2	Grande efficacité	36
2.5	Modes de libération du principe actif	36
2.6	Les avantages et les domaines d'application de la microencapsulation	37
2.7	Les limites de la microencapsulation	38
3	Procédé sol-gel	39
3.1	Principes physico-chimiques	40
3.2	Les précurseurs	41
3.3	La réactivité des alcoxydes	42
3.4	Mécanismes réactionnels	42
3.4.1	L'hydrolyse	42
3.4.2	La condensation	45
3.5	Contrôle de la réactivité des alcoxydes	46
3.6	Formation du gel (Gélification)	47
3.7	Vieillessement du gel	48
3.8	Séchage	49
3.8.1	Séchage en conditions atmosphériques	49
3.8.2	Séchage en conditions supercritiques	49
3.8.3	Influence du séchage	50
3.9	Recuit	50
3.10	Paramètres influençant la vitesse des réactions	50
3.10.1	La température	51
3.10.2	La nature du groupe alkyl ($-C_nH_{2n-1}$)	51
3.10.3	Le choix de l'alcoxyde et de sa concentration	51
3.10.4	La nature du solvant :	52
3.10.5	Le pH du sol (choix du catalyseur) :	52
3.10.6	Le taux d'hydrolyse W (quantité d'eau)	53
3.11	Avantages et inconvénients du procédé sol-gel	53
4	Elaboration et caractérisation	54
4.1	Les réactifs utilisés	54
4.2	Elaboration du monolithe de silice	54
4.3	Encapsulation de la protéine par la silice	55
4.4	Séchage	56
4.5	Caractérisation	57
4.6	Diffraction des rayons X (DRX)	57
4.7	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)	60

5 Résultats et discussion	61
5.1 Diffraction des rayons X	61
5.2 Spectroscopie FT-IR	63
Conclusion	68
Bibliographie	69

**Au nom d'Allah,
le tout miséricordieux,
le très miséricordieux,**

Remerciements

Nous adressons nos louanges à Allah tout puissant de nous avoir donné le courage et la force nécessaires à mettre au point ce modeste travail que nous espérons bénéfique.

En premier lieu, nous tenons à remercier notre encadreur, Mr AKSAS Ali, qui nous à fait l'honneur de diriger ce travail, et qui nous à guidé le long de sa réalisation, ainsi que pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité, ses conseils et sa gentillesse.

Nous remercions aussi Mr MAHTOUT Sofiane qui nous à honorés de sa présence en tant que président du jury de soutenance, et monsieur KEMIHA Mohammed pour nous avoir accordé de son temps afin de faire une évaluation et une appréciation du mémoire présenté en tant que jury.

Nous n'oublions pas non plus d'exprimer notre gratitude à nos enseignants de l'université de Béjaia qui ont été les batisseurs de notre savoir durant notre formation. Plus particulièrement, Mr MOSTEFAOUI, Mr OUHNIA, Mme OULEBSIR, Mlle ALLOUACHE et Mr KENNOUCH.

A nos amis, avec lesquels on a passé des moments inoubliables. Singulièrement, Yacine le Kertoussien, Kamel Barros, Jugo Boss ainsi que toute notre promotion de biophysique et imagerie. Et à Fares BOUDJOUAN, un grand merci pour l'aide que tu nous a apporté, en tant qu'ami et invité à notre soutenance.

Pour finir, on exprime nos sentiments les plus profonds à nos parents respectifs et à nos frères et sœurs qui sont les membres à parts entières de nos vies.

Et à ceux qui nous ont apporté soutien de près ou de loin, merci.

Introduction

Sans citer la microencapsulation naturelle, l'histoire des microcapsules synthétiques commence dans les années 30 lorsque BARRETT Green, un chimiste du comté de l'Ohio aux USA, s'intéresse au domaine des colloïdes (substances non miscibles) dont il remarque la grande utilité, et dans les années 40, il inventa une variété de papier différent du papier carbone utilisé à l'époque, et ce fut une révolution dans le domaine de la microencapsulation. L'une des premières techniques découvertes fut la coacervation [1].

Après cela, de nombreux domaines industriels se sont intéressés à la microencapsulation, notamment les domaines : pharmaceutique, textile, agricole et plus tard le domaine cosmétique, et à l'heure actuelle, on remarque un développement considérable, et de grands investissements chaque année dans la recherche [2].

Le but de la microencapsulation est, généralement, la protection du principe actif de l'environnement externe et avoir le contrôle sur sa libération. Au cours de cette étude, on a choisi le procédé d'encapsulation nommé 'sol-gel' pour certains avantages qu'il offre comparé aux autres (on élabore le matériau à température et pression ambiantes).

Notre but, à travers ce mémoire, est d'essayer de combiner deux phénomènes (le premier est biologique, et le second est physico-chimique) expérimentalement afin de synthétiser un matériau (silice) ayant une structure poreuse, à l'intérieur duquel est confinée une protéine spécifique. Le défi qu'impose ce travail, est de garder la protéine intacte sans qu'il y ait dégradation partielle ou totale.

On commencera donc par la première partie où est défini ce qu'est une protéine ainsi que ses composants, les structures qu'elle peut prendre et on finira par des exemples. Pour la deuxième partie, on introduira la microencapsulation et les diverses techniques permettant de produire des capsules, puis, dans le chapitre qui suit, on détaillera la technique qu'on a utilisé (sol-gel) lors de l'élaboration. Puis on discutera des résultats de cette dernière. Et pour finir, on donnera une conclusion et quelques perspectives.

Chapitre 1

Protéines

1.1 Généralités sur les protéines

Selon l'analyse chimique effectuée en 1835 par Gerrit Mulder à Rotterdam, Pays-Bas, le blanc d'œuf est une substance constituée d'une base ("wortelstof") de carbone, hydrogène, oxygène et azote, auxquels s'ajoute un peu de phosphore et de soufre. Mulder poursuivit en montrant que des substances d'une composition identique, "eiwitagtige ligchamen", étaient présentes dans des tissus variés, aussi bien animaux que végétaux. Selon ses propres mots : " Si une chose est sûre, c'est que je suis le premier à avoir montré que la viande est présente dans le pain (blé) et le fromage dans l'herbe " [3].

En 1838, Jöns Jacob Berzelius dans sa lettre à Gerrit Mulder lui suggère de les nommer " protéines ", du Grec " protos " signifiant " premier ". Ainsi, la notion actuelle de protéine était établie.

Les protéines sont des constituantes particulièrement importantes puisqu'elles forment entre 55 et 85% de la matière sèche. Certaines molécules protéiques ont un rôle structural (collagène, osséine, kératine des ongles et des poils ...) d'autres un rôle fonctionnel (hémoglobine) ou régulateur (enzyme, hormone ...), elles peuvent constituer des réserves (ovalbumine de l'œuf), intervenir dans la défense de l'organisme (anticorps) ou dans la motricité (actine, myosine..). Ce sont donc, quantitativement et qualitativement, des constituants essentiels des êtres vivants, dont elles sont, d'ailleurs, caractéristiques [7].

Les protéines sont composées d'au moins vingt acides aminés naturels. Il existe deux types de conformation de la chaîne polypeptidique : une forme repliée en hélice (hélice α), et une forme repliée de manière à former une surface plane (plissée) (feuillet β).

Les protéines sont des polypeptides, c'est-à-dire des polymères non branchés d'acides aminés. Ces derniers sont porteurs de deux fonctions chimiques amine et acide carboxylique.

Il existe vingt acides aminés naturels, qui se différencient par les groupements chimiques R et les chaînes latérales qui leurs confèrent leurs propriétés physico-chimiques. Les atomes lourds au sein des chaînes latérales sont numérotés dans l'ordre de l'alphabet grec, le carbone α étant le carbone aliphatique sur lequel la chaîne latérale se greffe. Les hydrogènes sont numérotés en fonction de l'atome lourd auquel ils sont liés [4].

1.2 Classification des protéines

On peut classer les types de protéines selon leurs formes, leurs compositions et leurs fonctions :

1.2.1 Selon la forme

On distingue trois grandes classes de protéines :

1.2.1.1 Les protéines fibreuses

Elles sont insolubles dans l'eau et constituent la charpente de la cellule.

1.2.1.2 Les protéines membranaires

Elles sont enchâssées dans la bicouche lipidique et la traversent ou elles sont fixées à l'un des feuilletts. Ces protéines sont de formes et de tailles très diverses.

1.2.1.3 Les protéines globulaires

Elles ont une structure tridimensionnelle assimilable à une sphère (un "globule"). On les trouve essentiellement dans le cytosol et les fluides cellulaires. Elles ont des séquences en acides aminés non répétitives. Elles ont des tailles de 100 à plusieurs centaines d'acides aminés et adoptent une structure compacte.

1.2.2 Selon la fonction

Résumé dans le tableau qui suit :

TABLE 1.1 – Classification de certaines protéines selon leurs fonctions

Fonctions	Exemples de protéines
-La structure et le soutien	-C'est le cas du collagène, de l'élastine, des glycoprotéines membranaires...
-La contraction	-Actine, myosine...
-L'adhésion cellulaire	-Les protéines des GAP junctions et les protéines telles que la cadhérine.
-La réception de signaux	-Les récepteurs membranaires de l'insuline ou les récepteurs intracellulaires des stéroïdes.
-La transduction de signaux	-L'exemple type étant constitué par les protéines G membranaires.
-Le signal	-Elles peuvent être la molécule informative comme les facteurs de croissance (EGF) ou les hormones protéiques (FSH).
-L'immunité	-Les immunoglobulines.
-Le transport	-L'hémoglobine (O_2) et la transferrine (fer).
-Les catalyses	-Les protéines qui joueront un rôle dans le métabolisme, la réplication et la transcription de l'ADN, la contraction musculaire, la signalisation cellulaire...

1.2.3 Selon la composition

Les protéines sont divisées en deux catégories :

- Les holoprotéines qui sont formées seulement d'acides aminés.
- Les hétéroprotéines qui sont formées d'acides aminés + composés non protéiques (CNP).

Selon la nature de ces derniers on a plusieurs classes :

- Métalloprotéines, qui sont des ions minéraux ou métalliques.
- Nucléoprotéines, qui sont des acides nucléiques.
- Glycoprotéines, qui sont des protéines contenant une partie glucidique.
- Lipoprotéines, qui sont des protéines contenant une partie lipidique.

Toutes les protéines de tous les êtres vivants connus ne sont constituées (à quelques exceptions près) que de 20 acides aminés différents. Les chaînes d'acides aminés de masse moléculaire inférieure à 10 kilodaltons sont des peptides (1 acide aminé : 110da et 1da=1uma) [5], parfois légèrement modifiés. Parmi eux, 18 acides aminés ne contiennent que quatre éléments chimiques : le carbone, l'hydrogène, l'oxygène et l'azote. Deux acides aminés contiennent en plus un atome de soufre. La séquence de ces acides aminés dans les protéines est déterminée par les gènes à travers le code génétique, qui établit une relation entre les codons de trois bases nucléiques et chacun de ces acides aminés.

1.3 Les acides aminés

Ce sont les unités structurales (monomères) des protéines, on en trouve 20 différents dans la protéine eucaryote : ce sont les acides aminés courants et leurs noms se terminent souvent par le suffixe "ine". C'est avec ces vingt acides aminés que sont construites toutes les protéines. C'est la diversité des arrangements possibles qui permet des constructions moléculaires variées [7].

1.3.1 Formule générale

Leurs molécules contiennent toujours une fonction acide (-COOH) et une fonction amine (-NH₂). Celle-ci est généralement située dans les acides aminés naturels, en position α . Ce sont donc des acides α -aminés dont la formule générale est représentée sur la figure 1.1.

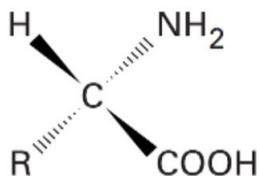


FIGURE 1.1 – Structure d'un acide aminé

1.3.2 Enchaînement des acides aminés (La liaison peptique)

Les acides aminés peuvent s'associer par l'intermédiaire d'une liaison covalente, établie entre le carboxyle d'un acide aminé et l'amine d'un autre acide aminé, avec élimination d'une molécule d'eau (figure 1.2).

C'est à partir du moment où n (nombre d'acides aminés) est supérieur à 60 que l'on parle de protéine (en dessous de 60 on parle de polypeptide) ; la molécule, très volumineuse, n'est

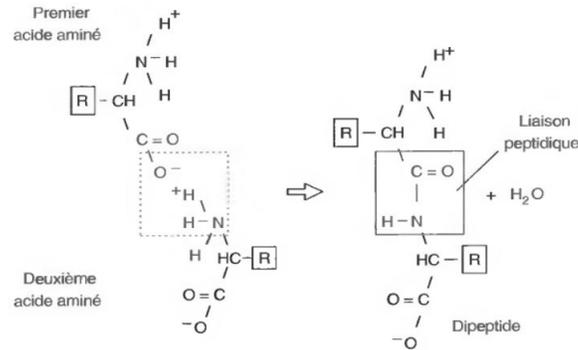


FIGURE 1.2 – Formation d’une liaison peptidique entre deux acides aminés

alors plus dialysable, c’est-à-dire susceptible de traverser une membrane hémiperméable.

Quelques points méritent d’être soulignés :

Quelle que soit la longueur de la chaîne, 10 ou 100 aminoacides, le groupement NH_3^+ est toujours terminal, c’est l’extrémité N-terminal, le COO^- situé à l’autre bout du polypeptide constitue le C-terminal (la localisation d’un acide aminé est toujours affectée par rapport à l’extrémité N-terminal du polypeptide) (figure 1.3).

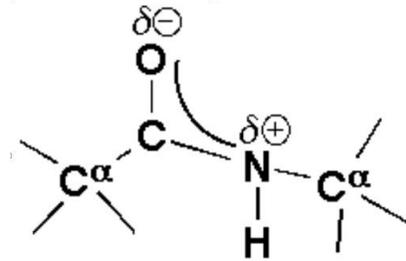


FIGURE 1.3 – La liaison hydrogène formée entre l’oxygène et l’azote

[6]

1.4 Les différentes structures des protéines

La structure des protéines peut être considérée à trois rangs ; la succession des acides aminés par des liaisons peptidiques ou structure primaire ; l’enroulement de ces chaînes sur elles-même formant une structure hélicoïdale ou structure secondaire et le repliement des hélicoïdes et leur association déterminant l’architecture tridimensionnelle de la molécule protéique ou structure tertiaire [9], sans oublier une structure plus complexe et rare qu’on

appelle structure quaternaire.

Le caractère partiellement double de la liaison peptidique empêche la rotation autour de la liaison C-N.

En conséquence, le groupe peptidique est confiné dans un plan. Il existe cependant une liberté de rotation autour des liaisons C α -C et N-C α (figure 1.4).

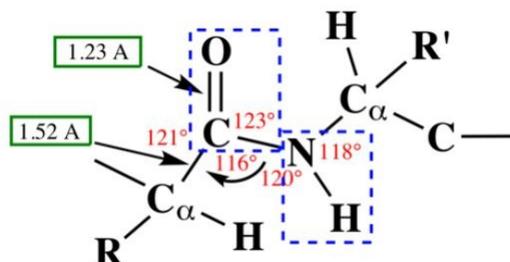


FIGURE 1.4 – Les angles présents dans un groupe peptidique

[6]

1.4.1 Structure primaire

Elle renvoie à l'ordonnance des acides aminés depuis l'extrémité N-terminale jusqu'à l'extrémité C-terminale; c'est-à-dire, la séquence des acides aminés [7].

La séquence du premier polypeptide ayant été découverte est celle de l'insuline, constituée par 51 acides aminés (travaux de Sanger 1953).

Chaque acide aminé est lié au suivant par un lien peptidique, qui se forme quand le groupement carboxylique d'un premier acide aminé réagit avec le groupement aminé d'un second, avec élimination d'eau. Quand les acides aminés sont incorporés dans une chaîne (qu'on appelle chaîne polypeptidique), on les appelle des résidus. La chaîne polypeptidique n'est pas branchée; elle forme un unique filament étiré. Par convention, on désigne le premier acide aminé de la chaîne comme étant celui dont le groupement aminé reste libre; on dit qu'il est en 5' ou encore qu'il constitue l'extrémité N-terminale ou le N-terminus. On désigne comme étant le dernier résidu de la chaîne celui dont le groupement carboxylique reste libre; on le dit en 3', ou à l'extrémité C-terminale. (Figure 1.5)

Cette conformation est généralement plus stable car elle positionne les chaînes latérales loin l'une de l'autre. Qui plus est, les ribosomes synthétisent tous les liens peptidiques en trans.

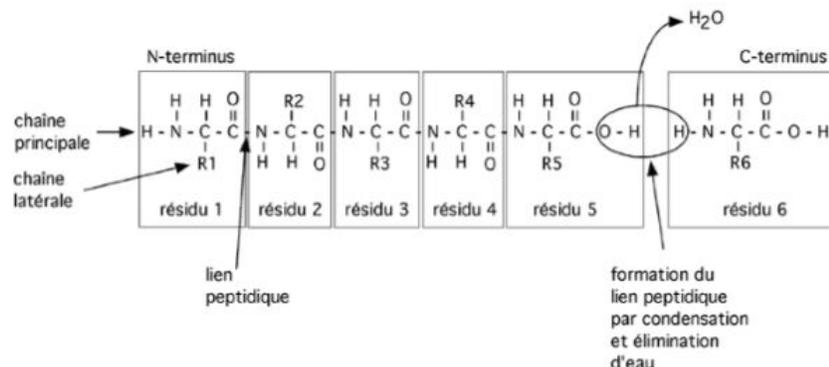
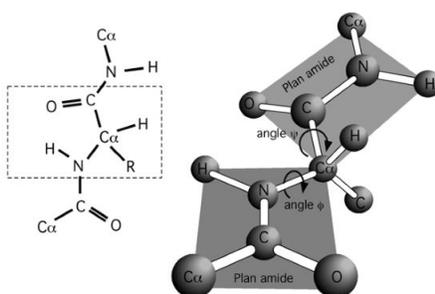


FIGURE 1.5 – Illustration d’une chaîne polypeptidique

Un effet de résonance cause le partage d’électrons entre les atomes du groupe carboxylique d’un résidu et l’azote du groupe aminé du résidu suivant. Cet effet de résonance coince le lien peptidique en une structure planaire, le plan amide.

Chaque lien peptidique est donc rigide, mais de part et d’autre les liens peuvent effectuer une rotation. L’angle de rotation d’un plan amide par rapport au carbone α en 5’ est noté angle Ψ ; l’angle entre le plan amide précédent et ce même carbone α est noté angle Φ . (figure 1.6)

C’est la succession de ce genre de structures régulières, hélices, feuillets ou tours qu’on appelle la structure secondaire d’une protéine.

FIGURE 1.6 – Représentation des angles Ψ et Φ

1.4.2 Structure secondaire

La chaîne polypeptidique adopte plusieurs types de structures régulières, mais il n’en existe qu’un petit nombre qu’on retrouve souvent (on pourrait dire que ce sont des modèles

éprouvés par la nature).

Le biologiste G.N Ramachandran, qui découvrit entre autres la structure en triple hélice du collagène, se rendit compte en travaillant avec des modèles de polypeptides que certains angles Ψ et Φ ne pouvaient pas être combinés parce que certains groupements chimiques se rentraient dedans. Son graphique (Figure 1.7) nous permet de voir d'un seul coup d'œil quelles sont les combinaisons toujours permises (en noir) et celles qui sont non-favorisées mais possiblement tolérées (en pointillés). Ces derniers angles assument que les atomes du polypeptide, qui ne sont pas réellement des sphères solides, peuvent voir leurs rayons de contact se superposer légèrement. Les structures secondaires les plus souvent retrouvées dans les protéines sont l'hélice alpha et le feuillet beta ; on voit ci bas quelles combinaisons d'angles peuvent y conduire.

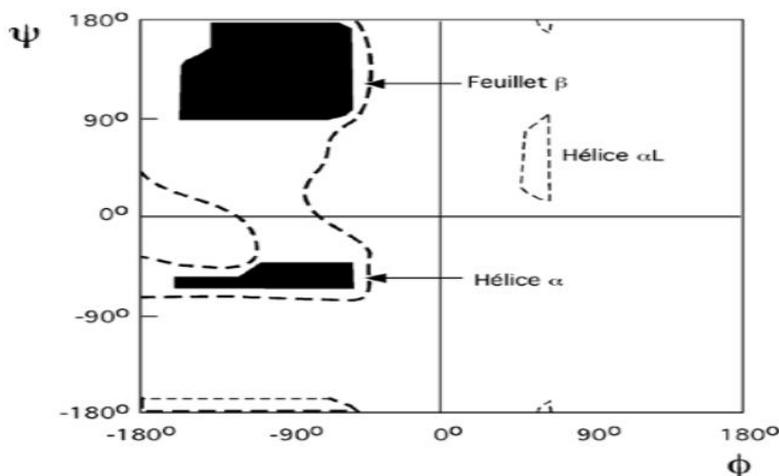


FIGURE 1.7 – Le graphique de Ramachandran

[8]

Les angles de torsion et les diagrammes de Ramachandran :

La structure secondaire de la liaison peptidique est déterminée par trois angles de torsion (figure 1.8 [10]) :

- Φ entre l'atome N_i et l'atome $C_{\alpha i}$
- Ψ entre l'atome $C_{\alpha i}$ et l'atome $C' i$
- Ω pour la liaison entre l'atome $C' i$ et l'atome N_{i+1}

La liaison peptidique a le caractère d'une liaison double partielle (40%). Elle est presque exclusivement trouvée dans la conformation trans dans les protéines car cette conformation

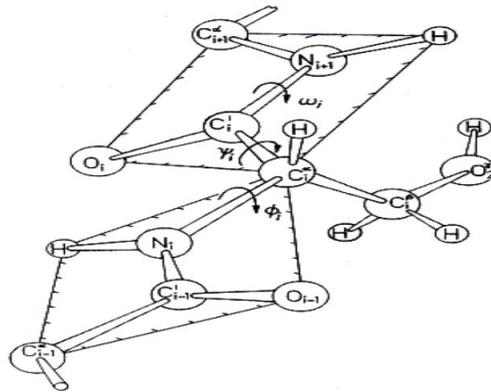


FIGURE 1.8 – La structure secondaire de la liaison peptidique

est plus favorable stériquement.

En conséquence, l'angle Ω est fixe et l'aire entre 2 carbones α consécutifs peut être considéré comme une unité peptidique plane et rigide (figure 1.9).

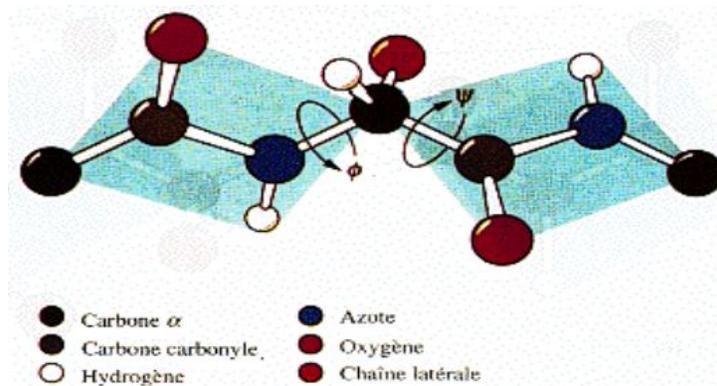


FIGURE 1.9 – Représentation d'une unité peptidique plane

- l'angle de torsion vaut zéro quand l'atome voisin est dans une conformation cis
- une valeur positive correspond à une torsion de cet angle dans le même sens que la flèche (figure ci-contre)
- quand les atomes du squelette carboné sont dans une conformation trans, l'angle de torsion vaut : $+180^\circ$ ou -180°

Parfois l'angle diédral est utilisé à la place de l'angle de torsion.

Il est défini comme l'angle de torsion $+180^\circ$: $\Phi_{diédral} = \Phi_{torsion} + 180^\circ$.

Comme l'angle ω est fixe, la structure secondaire de la liaison peptidique peut, en principe, être décrite par les 2 autres angles Φ et Ψ . C'est la méthode du diagramme de Ramachandran. Un tel diagramme permet de représenter sous forme d'aires, les différentes combinaisons d'angles tolérées pour la structure secondaire de la liaison peptidique.

1.4.3 Structure tertiaire

La structure tertiaire d'une protéine fait référence à l'organisation dans l'espace de ses structures secondaires. La structure en 3D adoptée par tous ces feuilletts et toutes ces hélices est la structure tertiaire de la protéine. Les liaisons de la structure tertiaire sont plus ou moins stables : il y a des liaisons faibles de type liaisons hydrogène ou liaisons hydrophobes.

Cette structure est définie par le plissement, l'enroulement et les autres processus d'agrégation des polypeptides. Par exemple, pour les protéines ayant une structure secondaire en hélice, l'axe de l'hélice n'est pas rectiligne. Les pliures, ou l'enroulement de l'hélice sur elle-même constitue la structure tertiaire.

Plusieurs interactions entre différents résidus de la chaîne polypeptidique repliée dans l'espace maintiennent la structure de la protéine.

1.4.3.1 Interactions électrostatiques

1. Interactions charge-charge entre résidus de charge inverse ($-NH^{3+}$ vs COO^-).
2. Interactions charge-dipôle quand une chaîne latérale ionisée interagit avec le dipôle d'une molécule d'eau. Cette interaction aide aussi à l'hydratation et à la solubilité de la protéine.
3. Pont hydrogène entre H d'une part et O ou N d'autre part (il n'y a pas de Fluor dans la composition des acides aminés). Les protéines peuvent bien sûr former des ponts hydrogènes avec des molécules du solvant comme l'eau, et de telles interactions peuvent aussi contribuer à la stabilité de la structure globale. (Figure 1.10)

1.4.3.2 Interactions hydrophobes

Entre groupes hydrophobiques comme les groupements cycliques de la phénylalanine et de la tyrosine. De telles interactions excluent les molécules d'eau.

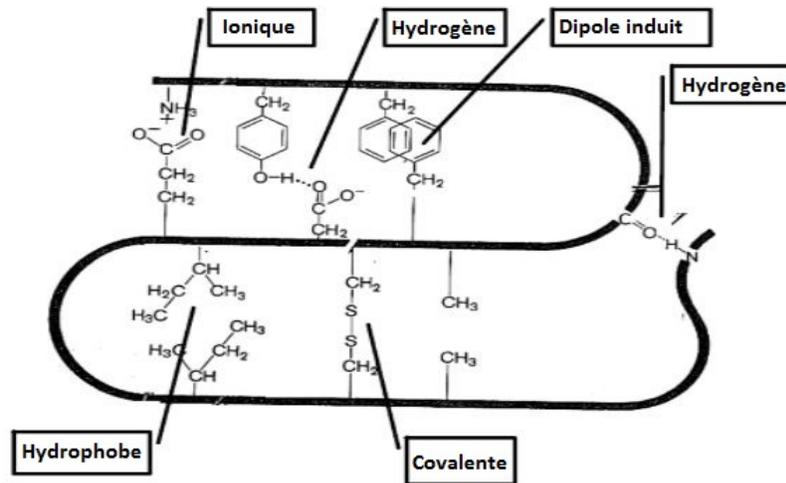


FIGURE 1.10 – Types d'interaction électrostatiques

1.4.3.3 Forces de Van der Waals

Il s'agit de dipôles temporaires de faible force. Ceux-ci peuvent se former parce que les nuages électroniques des atomes individuels peuvent fluctuer, donnant naissance à des dipôles temporaires.

1.4.3.4 Ponts disulfures

Ces ponts ne peuvent se produire spontanément que dans des conditions oxydantes (ce qui n'est pas le cas dans le cytoplasme, qui est légèrement réducteur). Les ponts disulfures se forment donc dans la lumière du réticulum endoplasmique chez les cellules eucaryotes, et dans l'espace périplasmique chez les bactéries (Figure 1.11).

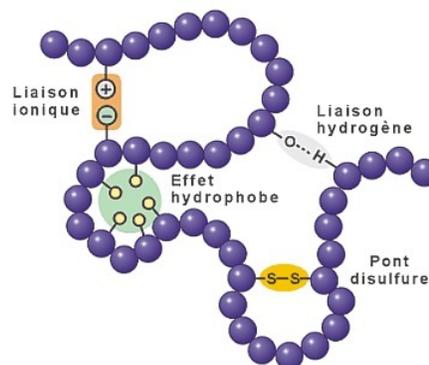


FIGURE 1.11 – Liaisons covalentes et ponts disulfures

1.4.4 Structure quaternaire

Beaucoup de protéines sont constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques indépendantes qui s'associent entre elles de façon non covalentes. Dans de telles protéines, chaque chaîne polypeptidique (qualifiée de sous unité) adopte sa propre structure tertiaire de façon indépendante des autres sous unités. La fonction biologique de la protéine n'est acquise que quand l'édifice a toutes ses sous unités assemblées [7]. La structure quaternaire décrit l'arrangement des sous-unités d'une protéine dans l'espace et l'ensemble des contacts et interactions entre ses sous-unités sans considération de leur géométrie interne. Les sous unités qui constituent la protéine quaternaire peuvent être identiques ou différentes. Leur nombre pourra être variable selon les protéines : l'hémoglobine (première protéine oligomérique dont la structure tridimensionnelle a été publiée en 1959 : 4 sous unités en 2 types = 2 sous unités alpha et 2 sous unités bêta). (Figure 1.12)

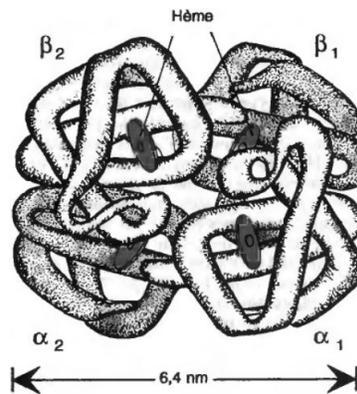


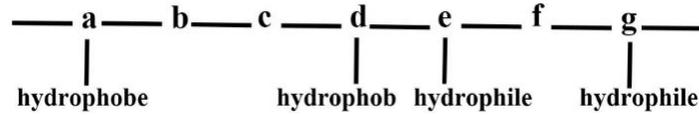
FIGURE 1.12 – Hémoglobine (structure quaternaire)

[7]

1.5 Quelques exemples de protéines

1.5.1 L'α-kératine

Les kératines, nom d'origine grec (keras = corne), qui sont les protéines du cheveu, des ongles, et de la peau ; L'α-kératine est la protéine dominatrice de la composition des cheveux et de la laine. Sa structure primaire est composée de fragments répétitifs de 7 acides aminés. Dans chaque fragment, les 1er et 4eme acides aminés sont hydrophobes, alors que les 5eme et 7eme sont hydrophile (figure 1.13) [7].

FIGURE 1.13 – Alignement des acides aminés dans L’ α -kératine

1.5.2 L’albumine

L’albumine est une protéine fabriquée par le foie.

Le mot ” albumine ” (du latin albus, blanc) est un terme générique qui désigne un type de protéine soluble dans l’eau. Il existe plusieurs types d’albumine dans le milieu naturel, mais les deux types les plus connus se trouvent dans le blanc d’œuf et dans le sang humain. Les albumines sont des classes de protéines très importantes. Elles sont d’ailleurs d’une importance vitale pour la santé et le bien-être de nombreux organismes. Beaucoup de plantes et d’animaux contiennent ou sécrètent de l’albumine.

Comme l’albumine coagule lorsqu’elle est chauffée à 71 °C, elle est utilisée pour supprimer des précipités troubles et clarifier les solutions dans le raffinage du sucre et dans d’autres procédés. L’albumine forme des composés insolubles avec de nombreux sels métalliques tels que le chlorure de mercure(II), le sulfate de cuivre, le nitrate d’argent. Elle est ainsi utilisée comme antidote contre ces poisons. Une pâte d’albumine mélangée à de l’hydroxyde de calcium (chaux éteinte) se transforme en une masse très dure, utilisée comme ciment pour réparer les poteries cassées.

1.5.3 L’asparaginase

Cette enzyme est présente chez tous les êtres vivants. On la trouve en grande quantité dans le sérum du cochon d’Inde et de l’agouti ainsi que chez plusieurs espèces de vertébrés, de même que chez les mycètes et plusieurs souches bactériennes.

L’asparaginase est également un médicament cytostatique antinéoplasique utilisé en chimiothérapie et notamment indiqué contre la leucémie aiguë lymphoblastique, qui produit des blastes incapables de produire leur propre asparagine [11].

Chapitre 2

Microencapsulation

2.1 Microencapsulation

L'encapsulation de matériaux n'est pas chose nouvelle, puisque la nature nous offre d'indénombrables exemples l'illustrant, allant du macroscopique au microscopique. Au niveau macroscopique, les exemples à citer sont les œufs, les graines et certains fruits comme la noix de coco et la pastèque, alors qu'à l'échelle microscopique c'est la cellule ou le noyau cellulaire qui nous illustre l'encapsulation [12]. On peut donc définir l'encapsulation comme un processus dans lequel on piège un matériau à l'intérieur d'un autre [13]. Le développement de la microencapsulation a commencé avec la préparation de capsules contenant des colorants, celles-ci ont été intégrées dans le papier dans le but de faire de la photocopie remplaçant ainsi le papier carbone [14]. Dans l'industrie pharmaceutique, on utilise depuis longtemps la microencapsulation pour contenir des principes actifs (qu'on notera PA) médicamenteux. Au cours des 10 dernières années, cette approche a largement été explorée par les industries agricole, alimentaire, cosmétique et textile. La microencapsulation est une révolution à sa manière dans ce qui est de rendre possible la combinaison des propriétés de différents types de matériaux (par exemple, organiques et inorganiques), un processus difficile à obtenir en utilisant d'autres techniques. Bien que la microencapsulation offre un grand potentiel dans l'industrie du revêtement, il y a eu très peu de développement effectué à ce jour dans ce domaine.

La microencapsulation est alors définie comme un processus pour confiner les microparticules de solides ou des gouttelettes de liquides ou de gaz dans une enveloppe (ou coquille) inerte, qui isole et protège du milieu extérieur.

Le terme 'microcapsule' désigne donc le produit du processus de microencapsulation. La taille des microcapsules varie du nanomètre au millimètre, et elles ont une forme soit sphérique soit irrégulière.

Comme le montre les figures 2.1 et 2.2, la microcapsule est constituée de deux parties :

- Le noyau (partie intrinsèque) contenant le PA.
- L'enveloppe (partie extrinsèque) protégeant le noyau définitivement ou temporairement de l'atmosphère extérieure.

La taille de la matière contenue dans le noyau joue un rôle important pour ce qui est de la diffusion, la perméabilité ou l'application de la libération contrôlée du PA. Selon leurs applications, une large variété de matières servant de noyau peut être encapsulée comme les pigments, les colorants, les monomères, les catalyseurs de durcissement (siccatif), les plastifiants et les nanoparticules. L'abondance de polymères naturels et synthétiques offre une portée plus large pour le choix du matériau servant d'enveloppe, on peut ainsi la rendre perméable, semi-perméable ou imperméable.

Les enveloppes perméables sont utilisées pour des applications de libération, alors que les enveloppes semi-perméables sont généralement imperméables à la matière contenue dans le noyau, mais perméables aux liquides de faible poids moléculaire. Ainsi, ces capsules peuvent être utilisés pour absorber les substances de l'environnement et à les libérer à nouveau lorsqu'elles sont mises sur un autre support.

L'enveloppe entoure la matière active et la protège de l'environnement extérieur. Par conséquent, pour libérer le contenu de la matière du noyau, l'enveloppe doit être soit rompue par des pressions extérieures, fondue, séchée, dissoute dans un solvant ou dégradée sous l'influence de la lumière [15].

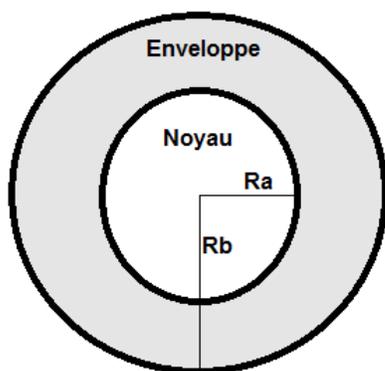


FIGURE 2.1 – Schéma d'une microcapsule (Ra : rayon du noyau ; Rb : rayon de la microcapsule)



FIGURE 2.2 – Vue au SEM d'une microcapsule coupée en deux

2.2 Morphologie des microcapsules

La morphologie ou la forme des microcapsules dépend principalement de la matière contenue dans le noyau et du processus de dépôt de l'enveloppe, elles peuvent alors être classées dans les catégories : mononucléaire, polynucléaire et matricielle comme montré ci-dessous :

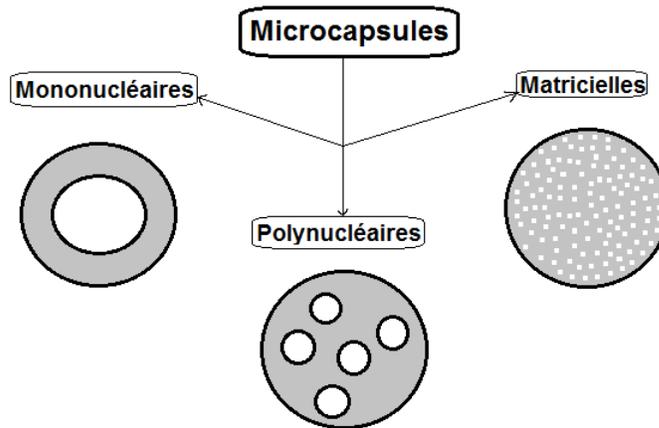


FIGURE 2.3 – Morphologie des microcapsules

La microcapsule mononucléaire ne contient qu'un noyau entouré de l'enveloppe, la microcapsule polynucléaire à de nombreux noyaux enfermés dans l'enveloppe de manière assez chaotique et pour la microcapsule matricielle, la matière contenue dans le noyau est distribuée de manière homogène dans le matériau de l'enveloppe constituant ainsi une matrice de noyaux. Outre ces trois morphologies de base, les microcapsules peuvent également être mononucléaires avec de multiples coquilles, ou bien ils peuvent former des amas de microcapsules.

2.3 Techniques de microencapsulation

En général, les techniques de microencapsulation sont divisés en deux groupes principaux, à savoir chimique et physique, ce dernier, à son tour, est subdivisés en un groupe physico-chimique et un autre physico-mécanique [17] [18] [19]

On verra, dans ce qui suit, différents procédés classés dans leurs catégories, et on donnera les étapes nécessaire à l'élaboration des microcapsules.

2.3.1 Methodes chimiques

Les processus in-situ (au niveau local) tels que l'émulsion, la suspension, la précipitation ou la polymérisation par dispersion et polycondensations inter faciales sont les plus importantes techniques chimiques utilisées pour la microencapsulation. On peut voir un exemple de microcapsules dont le noyau est aqueux et l'enveloppe faite de silice préparée en utilisant un processus in-situ dans la figure 2.4

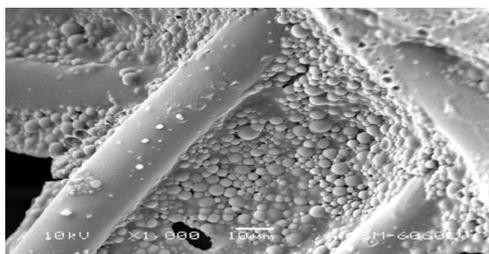


FIGURE 2.4 – Microscopie électronique sur des microcapsules dans un produit textile

[20]

2.3.1.1 Polycondensation interfaciale

Dans cette technique l'enveloppe de la capsule sera formée par polymérisation de monomères réactifs dans les phases huile et eau dans l'interface des gouttes en émulsion (par réaction polyamide), et les étapes se déroulent comme suit :

1. Dissolution du monomère multifonctionnel dans la matière du noyau
2. Ajout d'un groupement amine réactif
3. Polymérisation de l'enveloppe autour du noyau

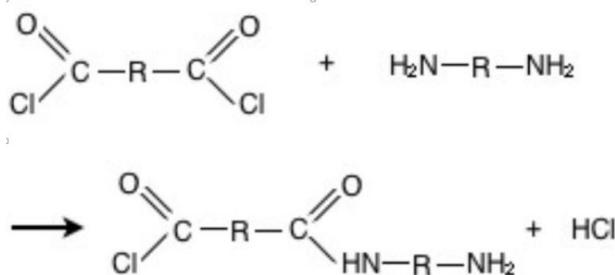


FIGURE 2.5 – Réaction polyamide

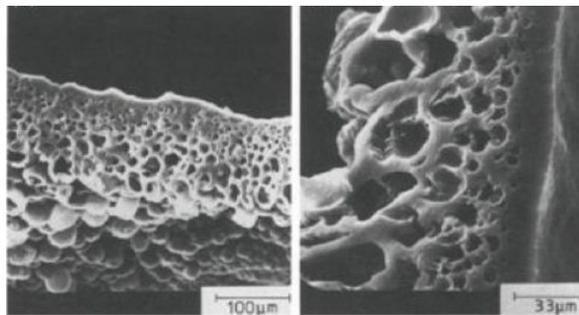


FIGURE 2.6 – Structure d'une membrane polyamide

[20]

Taille des particules : 0.5-1000 μm

2.3.1.2 Polymérisation in-situ (locale)

La polymérisation in-situ est l'un des processus chimiques de microencapsulation prenant place dans une émulsion huile-eau. Il en résulte des microcapsules lisses et sphériques pouvant servir de réservoir, avec un mur transparent, polymérique et sensible à la pression [21]. Voyez les étapes du procédé :

1. Dissolution du monomère multifonctionnel dans la matière du noyau
2. Ajout d'un groupement amine réactif
3. Polymérisation de l'enveloppe autour du noyau

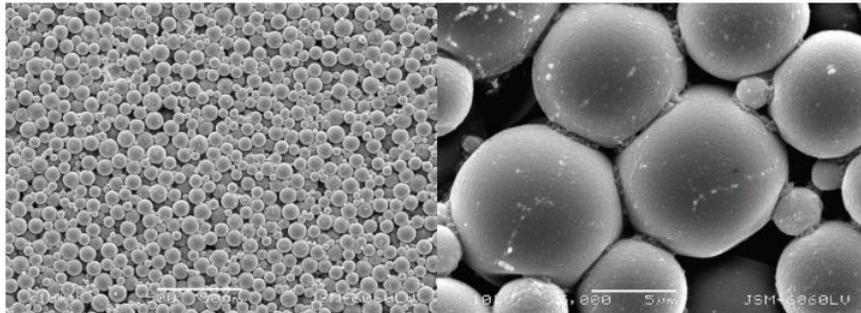


FIGURE 2.7 – Vue au SEM de microcapsules produites par polymérisation in-situ

[20]

Taille des particules : 0.5-1000 μm

2.3.1.3 Emulsification

Pour obtenir des microcapsules par emulsion on procède ainsi :

1. Emulsifier l'eau avec un biopolymère dans la phase d'huile
2. Ajouter le PA

Taille des particules : 10-1000 μm

2.3.2 Méthodes physico-chimiques

2.3.2.1 Coacervation

La coacervation est généralement utilisée pour produire des microcapsules contenant des huiles parfumées, des cristaux liquides, des arômes, des colorants ou des encres. Les microcapsules poreuses peuvent aussi être préparées en utilisant cette technique, mais avant cela, certaines conditions doivent être remplies pour éviter d'éventuels encombrements des capsules préparées [22].

Les étapes de préparation des microcapsules sont énumérées dans la figure ci-dessous :

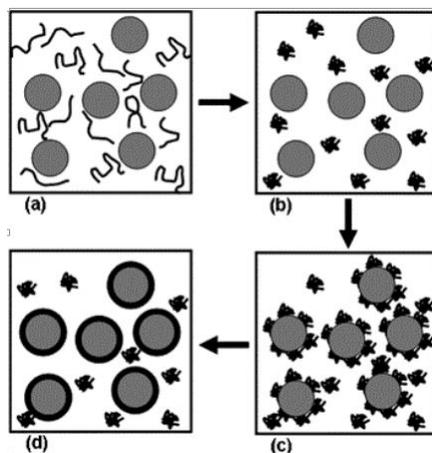


FIGURE 2.8 – Représentation du processus de coacervation

- (a) dispersion du noyau dans une solution d'un polymère d'enveloppes.
- (b) séparation du coacervat de la solution.
- (c) regroupement de micro-gouttes de coacervat autour du noyau.
- (d) formation d'une enveloppe continue autour du noyau par coalescence de coacervats.

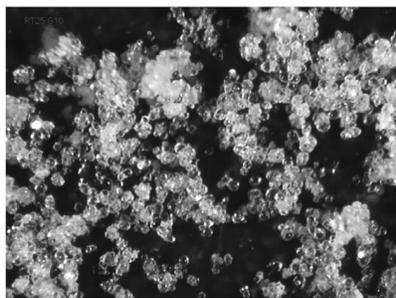


FIGURE 2.9 – Microcapsules de gélatine contenant un matériau changeant de phase préparée par la méthode de coacervation

[23]

Taille des particules : 2-1200 μm

2.3.2.2 Multicouche de polyélectrolyte

Cette technique permet l'assemblage électrostatique couche par couche (L-B-L en anglais) de particules électriquement chargées. En raison de son énorme potentiel dans la préparation de films minces multicouches avec une large gamme de propriétés électriques, magnétiques et optiques, elle a attiré beaucoup d'attention [24]. Les multicouches de polyélectrolyte (assemblage L-B-L le plus largement étudié) sont préparées en plongeant consécutivement un substrat dans les solutions de polyélectrolyte positivement et négativement chargées dans une procédure cyclique. Cependant, d'autres particules chargées telles que les nanoparticules, les colorants ioniques et les ions de métal sont utilisées pour préparer l'assemblage L-B-L.

Taille des particules : 0.02-20 μm

2.3.2.3 Expansion rapide du fluide supercritique

Les fluides supercritiques sont des gaz subissant une haute pression (au-dessus de la pression critique) à haute température (au-delà de la température critique) qui possèdent plusieurs propriétés avantageuses, tant des liquides que des gaz. Beaucoup de composés peuvent être ramenés à cet état comme l'eau, le propane (ainsi que d'autres alcanes tels que le C_2 et le C_4), l'azote et le dioxyde de carbone. Ils ont une solubilité basse semblable à l'hydrocarbure pour la plupart des solutés et sont mêlables avec les gaz communs tels que l'hydrogène (H_2) et l'azote (N_2). Près du point critique, la densité de fluide supercritique est très sensible aux variations de température ou de pression (une propriété très importante dans l'amélioration de leur utilisation industrielle). Le CO_2 supercritique est le plus largement utilisé pour les raisons suivantes :

- température critique basse
- non toxicité
- ininflammabilité
- disponibilité
- rentabilité
- extrême pureté

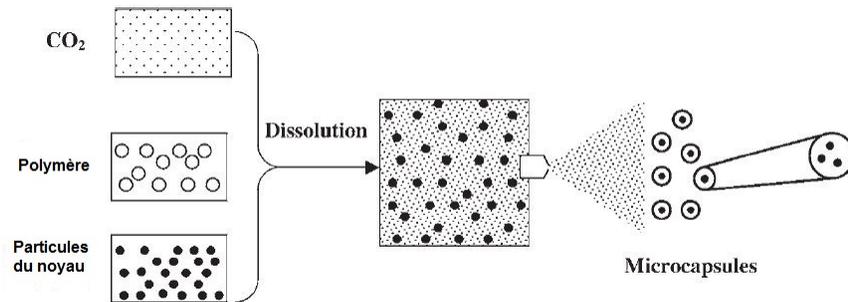


FIGURE 2.10 – Microencapsulation par expansion rapide de la solution supercritique (RESS)

2.3.2.4 Procédé sol-gel

Le procédé sol-gel (popularisé depuis ces dernières années) offre de nombreux avantages dans la production de matériaux ayant une homogénéité et une pureté supérieures à celles produites par d'autres procédés, et les températures sous lesquelles la production se fait sont nettement inférieures à celles des méthodes habituelles. En effet, ce procédé n'utilise ni fusion ni frittage de poudres (chauffer une poudre sans la mener jusqu'à la fusion) pour produire des céramiques, mais il fait appel à une solution faite de précurseurs réactifs (ex : alcoxydes) ou de sels métalliques (ex : SiO_2 , ZrO ...). Le procédé de synthèse passe par l'hydrolyse (réaction initiée par l'ajout d'eau ou d'un mélange eau-alcool) et la condensation (formation d'un réseau par liaisons covalentes).

Ce procédé sera détaillé dans le chapitre qui suivra, mais on vous montre ici les étapes majeures de ce procédé :

1. Hydrolyse et condensation
2. Ajout de la matière du noyau
3. Gélification par ajout de catalyseur

Taille des particules : 2-20 μm

2.3.2.5 Evaporation du solvant

S'élabore comme suit :

1. Dispersion de la phase organique (solvant + polymère + PA) dans la phase aqueuse
2. Diffusion du solvant dans la phase aqueuse

3. Evaporation du solvant formant des microsphères dures de polymères contenant le PA

Taille des particules : 0.5-1000 μm

2.3.2.6 Séparation de phases

Procédé réalisé en suivant les étapes suivantes :

1. Formation de trois phases non miscibles (solution véhicule, matériau du noyau et matériau de l'enveloppe)
2. Dépôt du revêtement sur les particules du noyau
3. Solidification du revêtement

Taille des particules : 0.5-1000 μm

2.3.3 Méthodes physico-mécaniques

2.3.3.1 Co-Extrusion

Le processus de co-extrusion, développé par « Southwest Research Institute » aux États-Unis, compte un certain nombre d'applications commerciales. Comme le montre la figure, on pompe le fluide constitué d'un courant de matériau servant d'enveloppe et d'un autre servant de noyau, puis sous l'influence de vibrations des gouttes se forment. L'enveloppe est alors durcie par liaisons chimique, refroidissement, ou évaporation du solvant [25].

Les étapes suivies sont :

1. Dissoudre le PA dans l'huile
2. Préparer une solution de matériau servant d'enveloppe
3. Utiliser un bec concentrique, et presser simultanément la phase d'huile à travers le bec intérieur et la phase d'eau dans le bec extérieur
4. Déposer dans un bain gélifiant ou refroidissant

Taille des particules : 10-800 μm

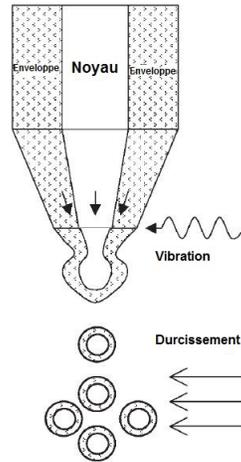


FIGURE 2.11 – Représentation schématique du processus de co-extrusion

2.3.3.2 Spray-drying

La microencapsulation par spray-drying (séchage par atomisation) est l'un des processus les plus anciens d'encapsulation. Il est économique du point de vue commercial et est surtout utilisé pour l'encapsulation de parfums, huiles et arômes.

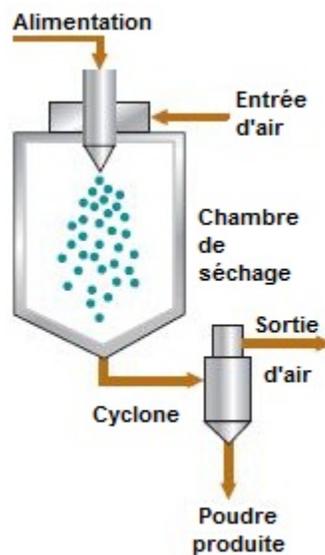


FIGURE 2.12 – Schéma du processus de microencapsulation par spray-drying

On compte trois étapes fondamentales qui sont :

1. Dissoudre le PA dans une solution de matériau de l'enveloppe
2. Pulvériser

3. Déshydrater

Taille des particules : 5-5000 μm

2.3.3.3 Centrifugation

La microencapsulation utilisant un disque tournant a d'abord été développée par le Prof. R.E. Sparks [26]. Un schéma du processus est montré dans la figure 2.13 (le disque n'étant pas aplati dans ce cas). Les particules du noyau sont plongées dans la solution faite de matériau qui servira d'enveloppe. Lorsqu'on applique une gravité (force centrifuge) au système, les particules enduites sont alors éjectées hors du disque. Cependant, une partie des particules reste non-enduite. Après cela, l'enveloppe est solidifiée par des moyens externes (refroidissement par exemple). Cette technologie est rapide, rentable, relativement simple et de haute efficacité de production.

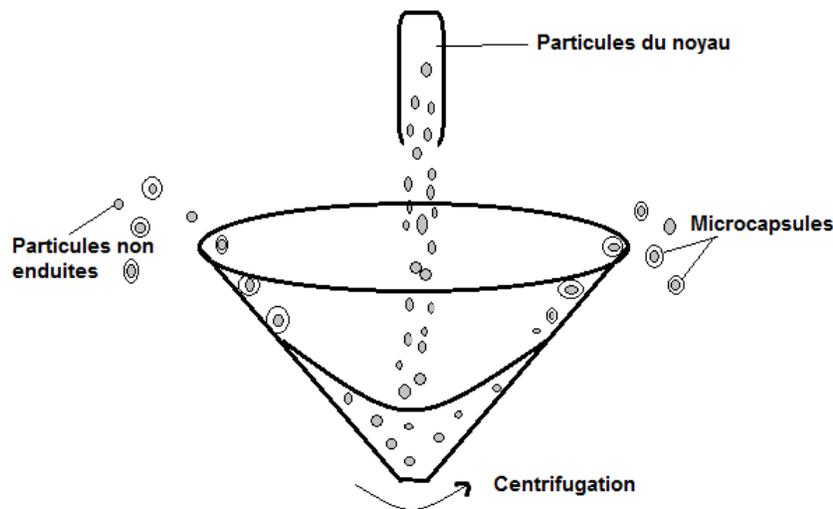


FIGURE 2.13 – Représentation de la formation de microcapsules par centrifugation

Taille des particules : 5-1500 μm

2.3.3.4 Enrobage par lit fluidifié

On dénombre trois étapes pour la production des microcapsules :

1. Fluidifier la poudre (PA)
2. Envelopper par pulvérisation

3. Déshydrater ou refroidir

Taille des particules : 20-1500 μ m

2.3.3.5 Extrusion

Etapes à suivre pour ce procédé :

1. Dissoudre le PA dans une solution d'alginate
2. Déposer dans un bain gélifiant

Taille des particules : 250-2500 μ m

• *Bien qu'une variété alternative de techniques de microencapsulation soit disponible, aucune méthode simple n'est convenable pour renfermer différents types de substances en même temps. On peut donc dire que la meilleure méthode dépendra du type de matière du noyau, de la grandeur des particules exigée, de la perméabilité de l'enveloppe et des différentes propriétés de la microcapsule et par conséquent le processus doit être adapté pour fournir un résultat satisfaisant.*

2.4 Facteurs influençant l'efficacité de la microencapsulation

On compte des facteurs favorisant une faible efficacité et d'autres favorisant une grande efficacité.

2.4.1 Faible efficacité

Cela revient à dire que la solidification se fait lentement, et ces facteurs sont :

1. Faible solubilité des polymères dans les solvants organiques.
2. Grande solubilité des solvants organiques dans l'eau.
3. Grande concentration en polymères.
4. Taux rapide d'évaporation du solvant.

2.4.2 Grande efficacité

Cela revient à dire que la solidification se fait de manière rapide, et ces facteurs sont :

1. Grande solubilité des polymères dans les solvants organiques.
2. Faible solubilité des solvants organiques dans l'eau.
3. Faible concentration en polymères.
4. Taux lent d'évaporation du solvant.

(Données résumées à partir de [27])

2.5 Modes de libération du principe actif

Plusieurs modes de libération existent et sont partagés en deux groupes principaux, eux même répartis comme illustré dans la figure 2.15 qui suit :

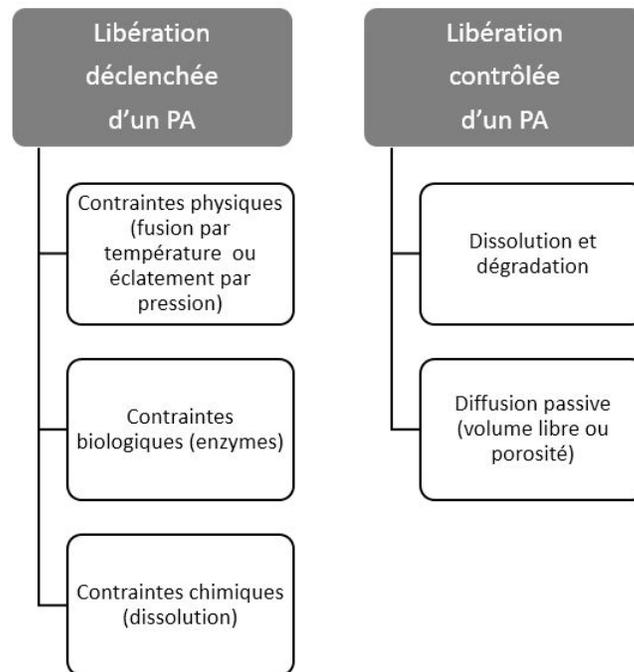


FIGURE 2.14 – Représentation des deux familles de modes de libération des PA

2.6 Les avantages et les domaines d'application de la microencapsulation

Les microcapsules ont un certain nombre d'avantages intéressants, et les principaux buts de la microencapsulation peuvent être résumés comme suit [28] :

1. Protection des matériaux instables ou sensibles de leur environnement avant de les utiliser.
2. Meilleur traitement (amélioration de la solubilité, la dispersion et la fluidité).
3. Amélioration de la conservation en empêchant les réactions de dégradation (oxydation, déshydratation).
4. Contrôle, soutien ou modification au niveau de la libération.
5. Manipulation sûre et pratique de matières toxiques.
6. Masquer les odeurs ou les goûts.
7. Immobilisation des enzymes ou des microorganismes.
8. Délivrance contrôlée et ciblée des PA (médicamenteux).
9. Manipulation des liquides comme des solides.

Quant aux applications, on en dénombre plusieurs telles que ce que l'on trouve par exemple chez les Laboratoires Creathes spécialisés dans la microencapsulation, à savoir :

1. La cosmétique : Protection de PA, libération de PA (pH, T...), filtre UV et protection des pigments de colorants vis-à-vis de la lumière.
2. La pharmaceutique : Libération contrôlée de PA.
3. La signalétique : Pigments, colorants thermochromes encapsulés, bandes réfléchissantes et panneaux de signalisation (pigment photochrome, ou photo luminescent encapsulé et incorporé dans des peintures).
4. L'agroalimentaire : Masquage du goût (alimentation animale et complément alimentaire), protection des arômes (chewing-gum, conserves) et transformation de liquides en poudres (graisse).
5. La détergence : Parfums encapsulés pour adoucissants ou lessives (SOUPLINE de COLGATE).

2.7 Les limites de la microencapsulation

Bien sûr, la microencapsulation compte plusieurs inconvénients, et les principaux sont :

1. Les résidus de monomères peuvent être toxiques pour l'homme et pour l'environnement
2. La durée de vie peut être affectée par le lavage (textiles)
3. Coût très important lié à la recherche et aux technologies nécessaires à une microencapsulation
4. La taille des capsules de chaque technique de microencapsulation est limitée par une plage

Chapitre 3

Procédé sol-gel

Le processus sol-gel est connu depuis plus de 150 ans grâce aux travaux d'Ebelmen qui a été le fondateur à la synthèse de la silice à partir d'un alkoxyde de silicium [30]. Ce procédé qui s'est développé d'une façon sérieuse au cours des trois dernières décennies, consiste à créer un réseau d'oxydes par polymérisation de précurseurs moléculaires en solution. Il est ainsi possible d'obtenir des espèces plus ou moins condensées qui forment des "gels", à partir des "sols", d'où le nom du procédé. La chimie du procédé sol-gel comporte l'hydrolyse et la condensation de précurseurs moléculaires comme les alkoxydes des métaux répandus dans un solvant organique ou bien des ions métalliques hydroxylés dans des solutions aqueuses [31] [32].

L'évolution de la gélification dépend fortement des précurseurs utilisés. Par exemple, dans le cas où le précurseur utilisé est un alkoxyde de silicium, l'ajout d'un catalyseur acide ou basique est nécessaire pour accélérer les réactions d'hydrolyse et de condensation, tandis que dans le cas des autres alkoxydes, ces réactions doivent être pondérées par l'ajout d'un complexant pour éviter leur précipitation. Par conséquent, les cinétiques de gélification et les microstructures finales des gels ne sont pas identiques. De plus, ces gels se différencient des gels préparés par le procédé de Pechini [33]. Dans cette méthode, on utilise l'aptitude de certains acides hydroxycarboxyliques pour former des solutions stables " chélates-ions métalliques ". Ces solutions conduisent par chauffage, en présence de polyol, comme l'éthylène glycol, à des gels par la poly-estérification.

L'usage de ces procédés dépend principalement du matériau final que l'on veut obtenir. Les précurseurs polyvalents les plus utilisés sont les alkoxydes de métaux qui grâce à leur structure moléculaire aident à la formation des gels polymériques [34].

Le procédé sol-gel permet l'élaboration d'une multitude de modèle d'oxydes sous configurations distinctes (monolithes, films minces, fibres, poudres). Cette grande diversité, a rendu ce procédé très attractif dans des domaines technologiques comme l'optique, l'élec-

tronique, Les biomatériaux. Elle présente, en plus l'avantage d'utiliser une chimie douce et de pouvoir conduire à des matériaux très purs et stœchiométriques [35].

Description du procédé sol-gel

Le procédé sol-gel se base sur la réactivité de précurseur en phase liquide, en se transformant en un solide par une chaîne de réaction chimique de polymérisation à température ambiante.

La dénomination sol-gel vient des termes "solution-gélification". Avant la gélification, le système est dans un état liquide : il est constitué d'un mélange d'oligomères colloïdaux et de petites macromolécules. Cette dispersion stable de particules colloïdales au sein d'un liquide est appelé "sol". Le gel est constitué d'un réseau d'oxyde gonflé par le solvant, avec des liaisons chimiques assurant la cohésion mécanique du matériau en lui donnant un caractère rigide, non déformable [36].

Le temps nécessaire au "sol" pour se transformer en "gel" est appelé temps de gel (ou point de gel). Il existe deux voies de synthèse sol-gel, qui sont [36] :

- Voie inorganique ou colloïdale : obtenue à partir de sels métalliques (chlorures, nitrates, oxychlorures) en solution aqueuse. Cette voie n'est pas coûteuse, mais laborieuse, c'est pour cela qu'elle n'est pas très utilisée. Cependant c'est la voie favorisée pour l'obtention des matériaux céramiques.

- Voie métalo-organique ou polymérique : obtenue à partir des alcoxydes métalliques dans des solutions organiques. Cette voie est relativement coûteuse, mais permet le contrôle de la granulométrie. Dans les deux cas, la réaction est enchaînée par une hydrolyse, puis une condensation. Les deux voies de synthèse sont résumées dans la figure 3.1

3.1 Principes physico-chimiques

Le principe consiste à mélanger un précurseur, un solvant (en général un alcool), parfois un catalyseur (acide ou basique) et de l'eau en respectant les doses de façon très précise, car les propriétés du gel en dépendent. La nature du matériau souhaité impose le précurseur. Le choix du solvant et du catalyseur est alors imposé par les propriétés chimiques du précurseur. Ce dernier étant le composé essentiel de la solution.

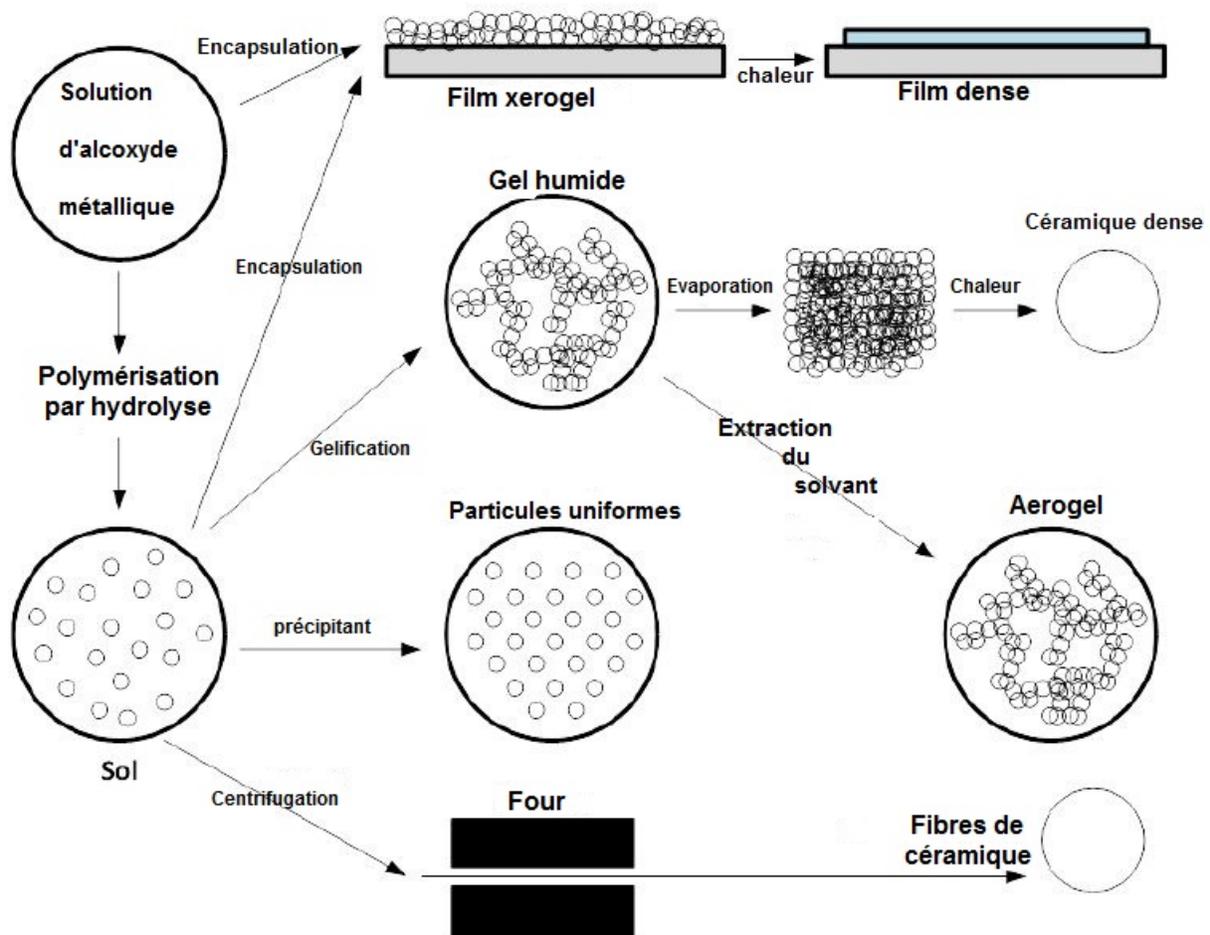


FIGURE 3.1 – Les produits de la transition sol-gel

3.2 Les précurseurs

Dans le procédé sol-gel les précurseurs les plus souvent utilisés sont les alcoxydes métalliques de formules générale $M(OR)_n$ où M est un métal de valence n et R une chaîne alkyle de type $(-C_nH_{2n+1})$. Ils peuvent être d'une très grande pureté et présentent une solubilité élevée dans une grande variété de solvants organiques.

Les précurseurs les plus connus dans le domaine du sol-gel sont le tétraéthoxysilane ($Si(OCH_3)_4$), et le tetraméthoxysilane ($Si(OCH_3)_4$), respectivement appelés TEOS et TMOS. La méthode traditionnelle pour la préparation des tetraalkoxysilanes est par réaction du tetrachlorosilane avec l'alcool [37]. On montre leurs propriétés dans le tableau suivant [38].

TABLE 3.1 – Propriétés physiques des tetraalkoxysilanes

Nom du tetraalkoxysilane	d (à 20 degrés celcius)	Moment dipolaire	Solubilité	Masse moléculaire (g/mol)
Tetramethyloxysilane (TMOS)	1,02	1,71	Alcools	152,2
Tetraéthylloxysilane (TEOS)	0,93	1,63	Alcools	208,3
Tetra-n-popoxysilane	0,916	1,48	Alcools	264,4
Tetra-n-butoxysilane	0,899	1,61	Alcools	320,5
Tetrakis(2-methoxyethoxy)silane	1,079	-	Alcools	328,4

3.3 La réactivité des alcoxydes

Bradley et Mehrotra furent dans les années 60 et 70 parmi ceux qui ont largement étudié les alcoxydes [39]. Les réactions de ces derniers sont décrites comme des réactions de substitution nucléophile (un groupe nucléophile, riche en électrons, attaque une molécule électrophile, ayant un site pauvre en électrons, et remplace un atome ou un groupe d'atomes) d'un groupe -OR par un groupe -OX, où X représente soit H (réaction d'hydrolyse), soit M (réaction de condensation) [33].

3.4 Mécanismes réactionnels

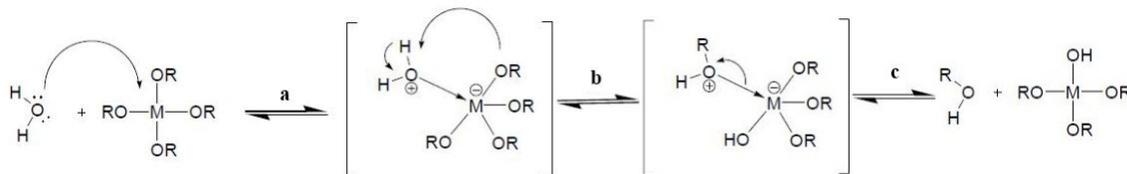
Le procédé sol-gel repose sur deux réactions : l'hydrolyse et la condensation [40].

3.4.1 L'hydrolyse

Afin de condenser les alcoxydes à température ambiante, l'hydrolyse des groupements -OR doit d'abord provoquer le processus réactionnel (Figure 3.2). Une étape nécessaire pour l'engendrement des groupements hydroxyles -OH :



- addition nucléophile d'un groupe -OH sur un centre métallique M. Cette première étape augmente le nombre de coordination du métal dans l'état de transition.

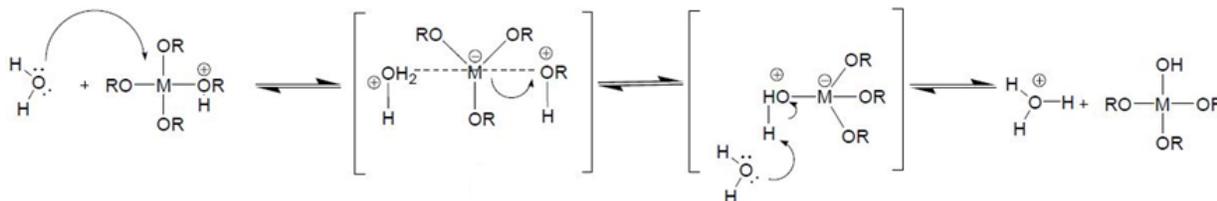
FIGURE 3.2 – Mécanisme d'hydrolyse des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$

- transfert dans l'état de transition d'un proton vers le groupe $-OR$ chargé négativement.
- départ du groupe ROH chargé positivement.

Généralement, pour faciliter l'hydrolyse, on ajoute un catalyseur acide ou basique de nature organique ou inorganique [41].

- Cas d'un catalyseur acide :

Pour un milieu acide (Figure 3.3), un groupe alcoxyde est aisément protoné.

FIGURE 3.3 – Mécanisme d'hydrolyse des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$ dans un milieu acide

La densité électronique du centre métallique est diminuée le rendant plus électrophile. La protonation augmente ainsi le caractère nucléofuge (capacité de se détacher d'une molécule) du groupe partant. Cinétiquement, le transfert de proton entre le groupe entrant et le groupe partant n'est plus nécessaire [42].

- Cas d'un catalyseur basique :

Dans un milieu basique, l'ion hydroxyde remplace la molécule d'eau comme nucléophile étant bien plus réactif, la première étape est alors accélérée (Figure 3.4) :

Les mécanismes des transformations catalytiques sont très variés pour les alcoxydes de silicium. Quelquefois, on remarque l'inversion du tétraèdre [43], qui rend compte d'une substitution nucléophile de type " SN_2 " (acide et basique). Autre part, ce peut être des mécanismes par dismutation (acide) (une espèce chimique joue à la fois le rôle d'oxydant et de réducteur), par attaque de côté (acide) ou par utilisation de médium penta-coordonné stable (base) [44].

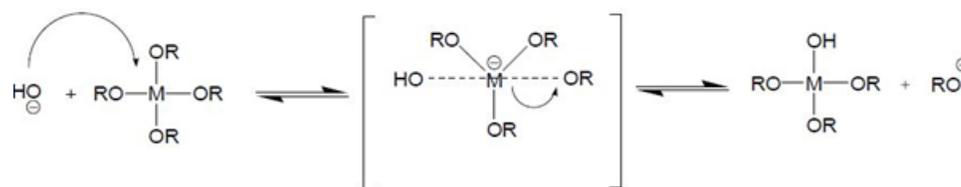


FIGURE 3.4 – Mécanisme d'hydrolyse des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$ dans un milieu basique

En résumé :

- Pour les catalyses acides, le médiateur réactionnel étant chargé positivement, plus les groupes alcoxydes sont remplacés par des groupes hydroxydes, moins l'intermédiaire réactionnel devient stable et plus la vitesse de la réaction d'hydrolyse diminue.
- Pour les catalyses basiques (cas contraire), le médiateur réactionnel étant chargé négativement, plus il y a de groupements hydroxydes, plus le médiateur réactionnel est stable et plus les réactions d'hydrolyse successives seront rapides.

- Exemple de catalyse d'un alcoxyde de silicium par fluorure :

Pour les sol-gel à base de silicium, le temps de gel est le plus long au point isoélectrique (Le point isoélectrique correspond au pH de la solution aqueuse dans laquelle le solide ou la molécule a un potentiel électrique neutre.) du précurseur hydroxyle (pH = 2,2) [45]. L'acte catalytique en présence de fluorures (HF, KF, NaF, NH_4F ...) est semblable à celui des bases dans le cas de silicium (Figure 3.5). Toutefois, ce type de catalyse n'est donné qu'à titre indicatif, à cause de la toxicité que génère le fluorure.

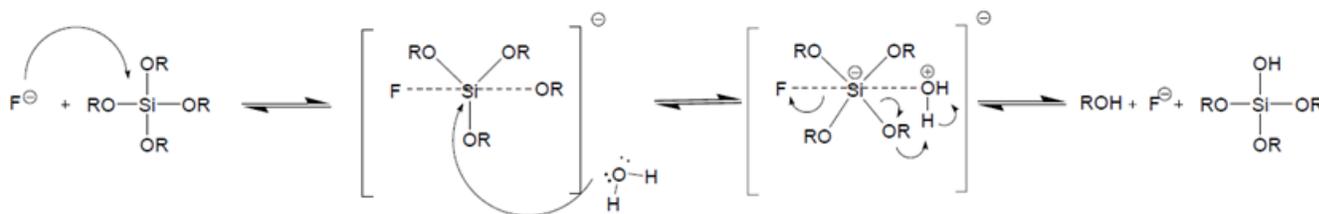


FIGURE 3.5 – Catalyse d'un alcoxyde de silicium par fluorure

Pour la gélification, les fluorures restent les catalyseurs les plus efficaces. L'effet catalytique du fluorure accélère le déplacement d'alcoolate par un mécanisme nucléophile de type SN_2 dans lequel le nucléophile (l'ion fluorure) attaque l'atome (Si) suivi par une hydrolyse de la liaison Si-F [46]. La première étape est la formation rapide d'un intermédiaire pentacoordonné (réversible) [47] (étape 1) où la liaison Si-OR est étirée et fragilisée. L'étape nous donnant la vitesse de réaction est l'attaque nucléophile du H_2O sur le Si pour une

substitution nucléophile (Figure 3.6). Au cours de cette étape, on crée la fonctionnalité du précurseur vis-à-vis de la polycondensation.



FIGURE 3.6 – Exemple de réaction hydrolyse du TEOS

Les effets d'une variété de catalyseurs sur l'hydrolyse totale et les taux de condensation, sont dépendants du temps requis pour gélification, et ils ont été résumés par Pope et Mackenzie pour l'hydrolyse du TEOS avec quatre équivalents d'eau dans un éthanol [47]. Leurs résultats sont représentés dans le tableau 3.2 [32]

TABLE 3.2 – Temps de gélification et pH de la solution pour différents systèmes de TEOS utilisant différents catalyseurs

Catalyseur	Concentration du TEOS	pH initial de la solution	Temps de gélification (heures)
HF	0.5	1.90	12
HCl	0.5	0.05	92
HNO₃	0.5	0.05	100
H₂SO₄	0.5	0.05	106
HOAc	0.5	3.70	72
NH₄OH	0.5	9.75	107
Sans	-	5.00	1000

3.4.2 La condensation

En général, pour avoir une condensation il nous faut au moins une hydrolyse partielle des précurseurs qui génère un groupe hydroxyle qui est bien meilleur nucléophile que le groupe alcoxyde. Il s'en suit une réaction du groupe hydroxyle par substitution nucléophile avec un mécanisme semblable à l'hydrolyse. Il se forme alors un pont " métaloxane " (M-O-M) avec une augmentation provisoire de la coordinence (nombre d'atomes voisins les plus proches) du métal.

Deux mécanismes entrent en compétition :

- **alcoxolation** :

Cette réaction se produit lorsque des molécules d'eau existent dans les complexes (édifice poly atomique constitué d'un ou de plusieurs identités indépendantes : ions ou molécules). La condensation se fait par un changement simple de coordinence du groupe entrant et elle se termine par la formation d'un pont hydroxo ou pont "ol" (figure 3.7).

C'est d'une réaction de condensation entre deux complexes métalliques coordonnés par des ligands (atome, ion ou molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux) aqua (H_2O).

L'alcoxylation se fait par mécanisme dissociatif de type SN_1 mettant en jeu un intermédiaire de coordinence réduite :

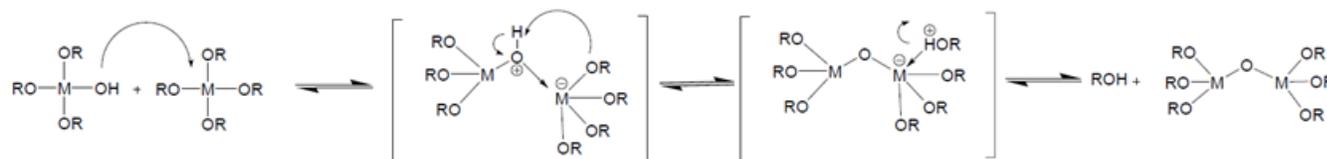


FIGURE 3.7 – Mécanisme d'alcoxylation d'un alcoxydes métallique $M(OR)_n$

- Oxolation :

L'oxolation est une des deux réactions (avec l'olation) conduisant à la formation de polyoxométallates (POM), à la base des synthèses d' (oxyhydr) oxydes métalliques solides à partir d'ions métalliques en solution aqueuse, (pratiqué en chimie douce).

Entre deux alcoxydes partiellement hydrolysés le mécanisme reste le même, sauf que l'eau est le groupe partant et que l'oxolation est plus lente que l'olation (Figure 3.8).

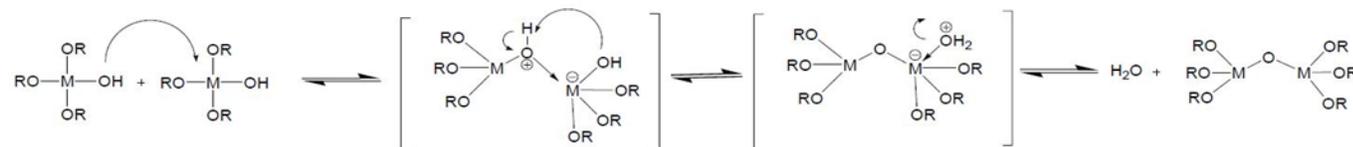


FIGURE 3.8 – Mécanisme d'oxolation d'un alcoxydes métallique $M(OR)_n$

Exemple de condensation pour le silicium (figure 3.9) :

3.5 Contrôle de la réactivité des alkoxydes

A part les alcoxydes de silicium, la majorité des alcoxydes de métaux sont très sensible à l'hydrolyse, leur réactivité dépend principalement de la coordinence ainsi que de l'élec-

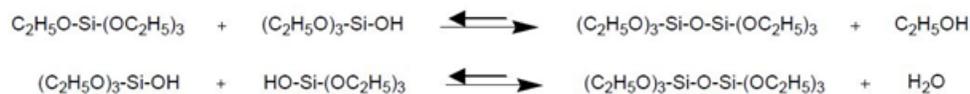


FIGURE 3.9 – Exemple de condensation pour le silicium

tronégativité du métal [48]. Cette réactivité augmente avec la charge positive de l'atome métallique M et avec son aptitude à augmenter sa coordinence N et donc à former des oligomères.

Afin d'éviter des précipitations incontrôlées lors de l'hydrolyse, la manipulation des précurseurs doit se faire dans une atmosphère sèche. De plus, leur réactivité doit être diminuée via une modification chimique (ou complexation) par des agents complexant comme les glycols, les acides organiques, ou les -dikétones. L'alkoxyde modifié obtenu montre un nombre de coordination plus élevé, une structure moléculaire différente et une fonctionnalité réduite. De nombreux travaux, portant sur l'ajout d'agents complexants, ont confirmé que les meilleurs ligands complexants qui sont largement utilisés pour limiter la réactivité des alkoxydes sont les -dikétones. L'acétylacétone (acacH) est un agent appartenant aux -dikétones qui a fait l'objet de plusieurs brevets. Ce ligand, moins hydrolysable que les groupes alkoxy et fortement complexant, modifie significativement la réactivité des alkoxydes.

3.6 Formation du gel (Gélification)

Les réactions précédentes conduisent à la formation d'un gel constituée de chaîne M-O-M (ou M-OH-M), sachant que sa viscosité augmente au cours du temps (Figure 3.10), et que ce gel contient sûrement des particules du solvant et du précurseur qui n'ont pas réagi.

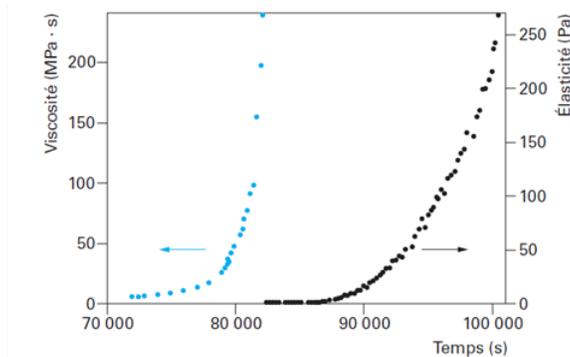


FIGURE 3.10 – Variation de la viscosité et de l'élasticité en fonction du temps pour un gel de silice synthétisé à partir du TMOS

[49]

Le gel est typiquement un sol polymérique condensé, ou les particules se sont entremêlées (enchevêtrées) afin de former un réseau tridimensionnel (Figure 3.11).

Les paramètres qui influencent les réactions sont la température, le pH, la nature du précurseur, et le rapport $[H_2O]/[M]$, qui seront décrits dans ce chapitre.

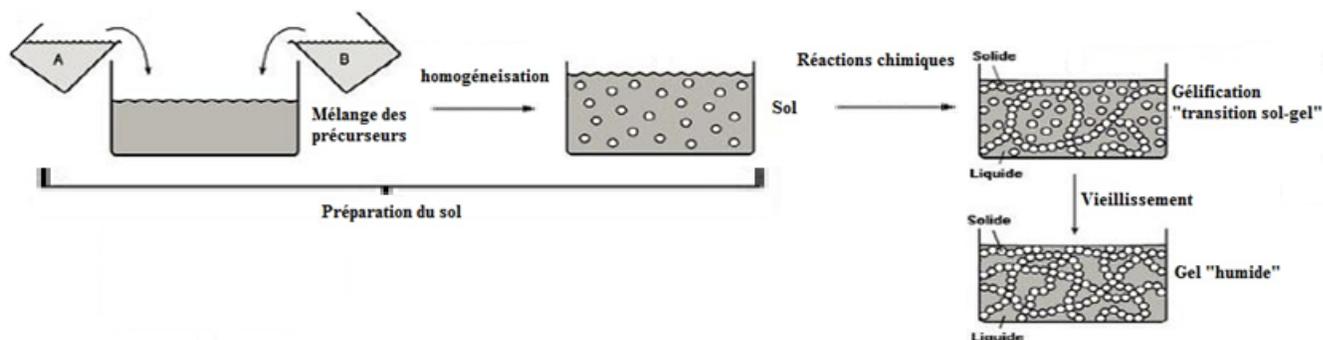


FIGURE 3.11 – Les étapes de formation du gel

[50]

3.7 Vieillissement du gel

Les réactions entraînant la formation du gel ne s'arrêtent pas au point de gel, elle se poursuit. Cette poursuite de réactivité est appelée vieillissement.

Pendant le vieillissement du gel, le phénomène de réticulation conduit au rétrécissement du matériau avec expulsion du solvant, ce phénomène est appelé synérèse.

Durant l'étape de vieillissement, trois processus peuvent se produire :

- la polymérisation (étape de renforcement du réseau grâce à de nouvelles liaisons)
- le mûrissement (processus de dissolution et de re-précipitation)
- la transformation de phase ou synérèse

Il est possible de sécher le gel, soit en conditions atmosphériques, soit en conditions supercritiques [51]. Dans les deux cas, on obtient un réseau plus ou moins dense sans solvant.

3.8 Séchage

Une fois gélifié, le matériau subit le séchage dû aux forces capillaires dans les pores et ce séchage peut entraîner un rétrécissement de volume [49].

Le procédé de séchage permettant l'obtention du matériau sol-gel nécessite que l'alcool ou l'eau puisse s'échapper en même temps que le gel se solidifie.

3.8.1 Séchage en conditions atmosphériques

À température ambiante, sous conditions atmosphériques, le séchage a lieu selon le processus décrit dans la figure 3.12. On observe un rétrécissement important du matériau, dû à la pression capillaire du liquide qui entraîne un effondrement complet de la structure avec une densification considérable, et ce quelle que soit la composition du gel.

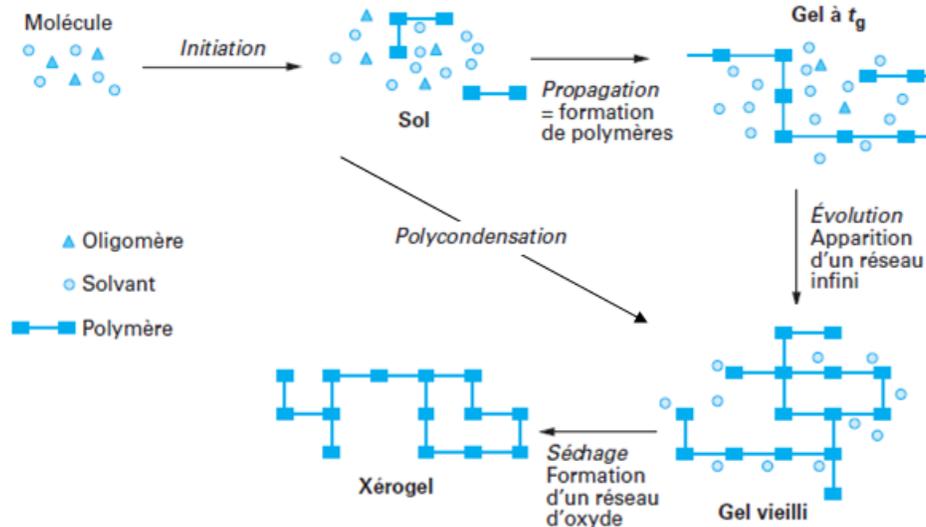


FIGURE 3.12 – Schématisation du processus de polymérisation durant le procédé sol-gel

[49]

3.8.2 Séchage en conditions supercritiques

Pour éviter le rétrécissement et les fissures, il est possible de procéder à un séchage supercritique des gels. Il consiste simplement à amener le gel " frais " à une pression supérieure à la pression critique du solvant, puis à augmenter la température au-dessus de sa température critique. Ainsi, le gel est maintenant mouillé par un solvant supercritique,

sans effet de tension capillaire. La pression est ensuite abaissée jusqu'à l'évaporation du solvant, et le solide est ainsi récupéré. Cependant, tous les solvants ne peuvent pas être utilisés dans ce type de processus car, dans certains cas, les conditions opératoires rendent le solvant trop agressif vis-à-vis du réseau de l'oxyde. C'est notamment le cas avec l'eau et les alcools usuels. Les gels obtenus dans les conditions supercritiques sont appelés " aérogels " [51].

3.8.3 Influence du séchage

Lorsque l'élaboration de la solution est complète, il est possible de préparer le matériau souhaité sous différentes formes, qu'elles soient massives, en couches minces ou en poudre. Les deux types de gels suivants, les xérogels et les aérogels ne sont que deux exemples de gels que l'on peut élaborer en monolithes massifs.

Il est à noter que l'élaboration de matériau sous cette dernière forme est très délicate, le séchage s'accompagne d'une contraction, or cette contraction doit se produire de façon très homogène dans le matériau et très lentement. Dans le cas contraire, des craquelures apparaissent et le matériau peut se rompre en de nombreux fragments.

3.9 Recuit

C'est un traitement thermique effectué après l'élaboration. Il permet d'éliminer les résidus des précurseurs ainsi que ceux de l'eau et de l'alcool, et ça permet également de densifier et de cristalliser les matériaux élaborés [55].

Ce traitement s'effectue dans un four qui se règle de sorte que le gradient de température augmente progressivement. Une fois la température voulu atteinte, les échantillons se refroidissent également avec un gradient de température diminuant progressivement jusqu'à atteindre 25°C.

3.10 Paramètres influençant la vitesse des réactions

Dans le cas des précurseurs alcoxydes, la transition sol-gel n'est pas réversible. La structure finale du gel se met en place au moment des réactions, et par conséquent, détermine déjà ses propriétés à venir.

Seules quelques caractéristiques pourront être modifiées au cours des étapes suivantes (dépôt, séchage, recuit). Les cinétiques relatives de l'hydrolyse et de la condensation, res-

ponsables de la croissance des amas polymériques qui engendrent le réseau, vont imposer les caractéristiques du gel obtenu.

Ces vitesses de réaction, et par suite la viscosité, dépendent de plusieurs paramètres dont il faudra donc tenir compte lors du choix d'un processus d'élaboration :

3.10.1 La température

C'est le premier paramètre à considérer, qui intervient dans toute réaction chimique. Dans notre cas, elle a une influence sur les vitesses d'hydrolyse et de condensation dès la préparation du sol, puis pendant le vieillissement ou le stockage. Evidemment, plus la température est élevée, plus les réactions sont rapides.

3.10.2 La nature du groupe alkyl ($-C_nH_{2n-1}$)

Quand l'encombrement stérique (gêne provoquée par la disposition et le volume d'une partie d'une molécule lors l'approche d'un réactif ou d'une autre partie de la molécule) du groupe alkyl augmente, l'hydrolyse devient ralenti.

3.10.3 Le choix de l'alcoxyde et de sa concentration

Ce choix se fait en fonction de la réactivité de l'alcoxyde, et du type d'échantillon que l'on veut élaborer. Quant à la concentration dans le sol, elle est surtout importante lors de la condensation ; en effet, plus elle est faible, plus les molécules aptes à se lier sont éloignées les unes des autres, ce qui retarde les réactions [34] [48].

TABLE 3.3 – Vitesse d'hydrolyse de différents alcoxydes en fonction de l'électronégativité et du nombre de coordination du métal correspondant

Alcoxyde	Electronégativité	Nombre de coordination N	Vitesse d'hydrolyse
$Ti(O-i-Pr)_4$	1,32	6	Rapide
$Zr(O-i-Pr)_4$	1,33	6	Rapide
$VO(O-i-Pr)_4$	1,56	6	Rapide
$Si(O-i-Pr)_4$	1,74	4	Lente
$Sn(O-i-Pr)_4$	1,89	6	Rapide
$PO(O-i-Pr)_4$	2,11	4	Pas d'hydrolyse

3.10.4 La nature du solvant :

Le solvant joue le rôle important dans le procédé sol-gel, vu que l'eau et les alcoxysilanes sont non-miscibles, il est primordial d'utiliser un solvant comme milieu réactionnel qui permettra la solubilisation des espèces réactives. En variant la concentration du précurseur, on arrive à modifier la densité des gels [52]. Les solvants polaires tels que les alcools sont très efficaces [32]. La plupart des solvants utilisés dans le procédé sol-gel sont classés par catégories [53] : polaire protique, polaire aprotique (Tableau 3.4) [32].

TABLE 3.4 – Propriétés physiques des solvants les plus utilisés

Type de solvant	Le solvant	Masse moléculaire en g/mol	Masse volumique en g/cm ³	Moment dipolaire en Debayes
Polaire protique	H_2O (eau)	18,01	1,00	1,84
	CH_3OH (Methanol)	32,04	0,791	1,70
	C_2H_5OH (Ethanol)	46,07	0,785	1,69
	$C_4H_{10}O_2$ (2-ethoxyethanol)	90,12	0,93	2,08
	CH_3ON (formamide)	45,04	1,129	3,7
Polaire aprotique	C_3H_7NO (diméthylformamide)	73,10	0,945	3,86
	$C_4H_8O_2$ (Dioxane 1,4)	88,12	1,034	0
	C_4H_8O (tetrahydrofuran)	72,12	0,889	1,63

3.10.5 Le pH du sol (choix du catalyseur) :

Il est évident que le pH va jouer un rôle important dans l'évolution des réactions; un pH acide accélère l'hydrolyse et décélère la condensation, contrairement au pH basique. en effet, les ions H_3O^+ et OH^- n'ont pas la même influence sur les deux types de réaction : le cation H_3O^+ , attiré par l'oxygène, facilite la substitution des groupes OR par OH^- (hydrolyse), tandis que l'anion OH^- , attiré par le métal M électropositif, privilégie la formation de liaison M-O-M (condensation) [35].

Donc on peut dire qu'un milieu acide favorise l'hydrolyse, alors qu'un milieu basique accélère la condensation.

3.10.6 Le taux d'hydrolyse W (quantité d'eau)

C'est la fraction $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{M}]$.

- $W < 1$: formation de clusters (ou agrégats atomiques).
- $W \gg 10$: tous les groupes alkoxy sont substitués et un réseau d'oxyde est ainsi formé.
- $W = [1; 10]$, les groupements alkoxy ne sont pas complètement hydrolysés. Ils restent fixés au réseau oxyde formé conduisant à la formation des oxopolymères.

La proportion d'eau ajoutée au sol exerce une grande influence sur la vitesse de gélification et les caractéristiques du gel. Avec un faible nombre de molécules d'eau, le gel reste élastique à basse température et le temps de gélification est long.

Dans le cas inverse, la gélification est rapide et la totalité des liaisons M-OR sont hydrolysées et se polycondensent. On obtient alors un gel dur à forte connectivité. Le frittage à haute température entraîne un retrait important de ce gel [54].

3.11 Avantages et inconvénients du procédé sol-gel

Certains avantages du procédé sol-gel sont énumérés ci-dessous :

- Faible coût énergétique : les gels secs peuvent être vitrifiés ou frittés à une plus basse température que celle utilisée dans l'industrie pour les matières premières conventionnelles.
- Mise en œuvre simplifiée : la viscosité des sols et des gels permet d'élaborer directement les matériaux sous des formes variées : couches minces, fibres, poudres fines et matériaux massifs.
- Des matériaux sur mesure : le contrôle des réactions de condensation permet d'orienter la polymérisation et d'optimiser les caractéristiques du matériau en fonction de l'application envisagée.
- Grande pureté et meilleure homogénéité du matériau.

Malgré ses nombreux avantages, ce procédé possède les limites suivantes :

- Coût des précurseurs alcoxydes élevé.
- Maîtrise délicate du procédé et processus lent.
- Manipulation d'une quantité importante de solvants.

Chapitre 4

Elaboration et caractérisation

On utilise le procédé sol-gel pour la synthèse, à pression et à température ambiante, d'un monolithe de SiO_2 dans lequel on incorpore une protéine.

Dans ce chapitre on va décrire les différentes étapes qu'on a suivi.

4.1 Les réactifs utilisés

Lors de notre élaboration on a utilisé les composés chimiques suivants avec des proportions bien précises :

- Un précurseur métallique, qui est le TEOS [$\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_4$] (8ml pour chaque échantillon élaboré)
- Un solvant, qui est l'éthanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) (12ml pour chaque échantillon élaboré)
- Un catalyseur, qui est l'acide fluorhydrique (HF) (1 ml pour chaque échantillon élaboré)
- De l'eau, qui sert de seconde solution pour l'émulsion et l'hydrolyse (7 ml pour chaque échantillon élaboré)
- La protéine à encapsuler :
 1. Albumine en poudre (50 mg, 2,25 mg)
 2. Asparaginase en liquide

4.2 Elaboration du monolithe de silice

On verse dans un bécher de 25 ml le précurseur métallique (TEOS) avec le solvant (éthanol), et on homogénéise le tout avec un agitateur magnétique tournant à une vitesse

de 300tr/min pendant 5 minutes.

On rajoute de l'eau afin d'amorcer l'hydrolyse et on agite pendant 10 minute. Ensuite on rajoute le catalyseur (HF) graduellement pour accélérer la condensation, puis on verse rapidement, après en avoir fini avec le HF, notre solution dans des boites pétri en plastique (on n'a pas utilisé de boites en verre car le gel colle aux parois). On remarque que la gélification se fait instantanément. On laisse les gels obtenus sécher durant quelques jours dans les boites petri.

4.3 Encapsulation de la protéine par la silice

On verse dans un bécher de 25 ml le précurseur métallique (TEOS) avec le solvant (éthanol), et on agite de 5 à 10 min. En même temps on prépare dans un autre bécher de 25 ml pour le mélange H₂O/protéine (car l'albumine est soluble dans l'eau).

Après que la protéine se soit dissoute, on verse ce mélange dans le bécher contenant le TEOS/Ethanol afin de provoquer l'hydrolyse et on les agite pendant 10 minute. Ensuite, on rajoute graduellement le catalyseur (HF) pour accélérer l'hydrolyse. La gélification se fait en quelques secondes.

On laisse les gels obtenus sécher durant quelques jours.

Voici quelques échantillons obtenus :

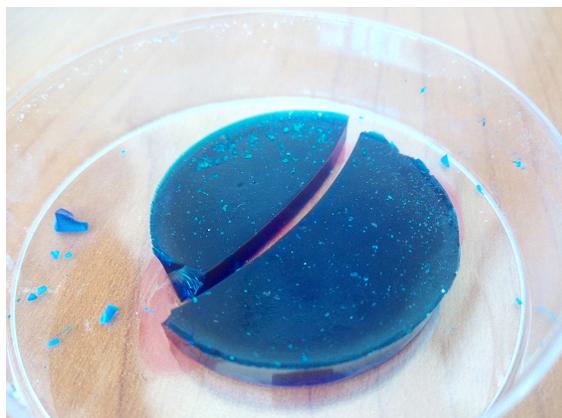


FIGURE 4.1 – Xerogel + colorant



FIGURE 4.2 – Gel + albumine

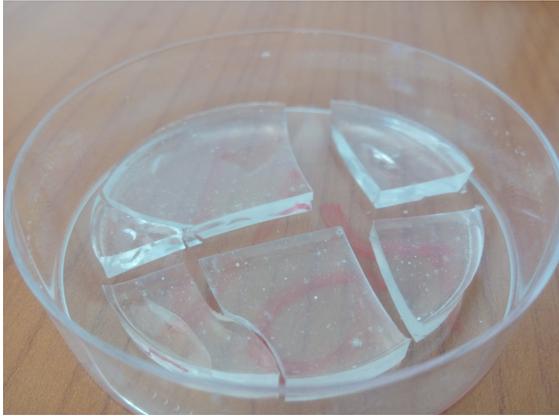


FIGURE 4.3 – Xerogel + asparaginase

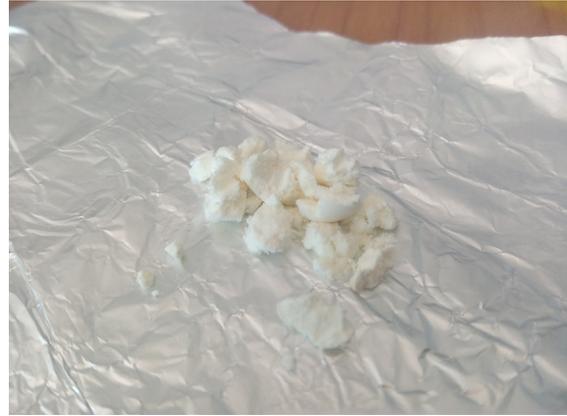


FIGURE 4.4 – Albumine en poudre

4.4 Séchage

Afin d'obtenir des aérogels, on procède à un séchage supercritiques en utilisant un autoclave d'une capacité d'un litre. On utilise de l'éthanol, et la température atteint les 273°C à une pression de 63,9 bar. Le chauffage de l'enceinte est assuré par un four électrique extérieur commandé par un programmeur de température à vitesse variable.



FIGURE 4.5 – Autoclave

Voici le résultat du séchage :



FIGURE 4.6 – Gel + albumine séchés



FIGURE 4.7 – Gel + albumine séché et broyé (poudre)

4.5 Caractérisation

Après passage des échantillons dans les conditions supercritiques, on obtient un aérogel qu'on pourra analyser par DRX et FT-IR.

4.6 Diffraction des rayons X (DRX)

La DRX est une méthode de caractérisation qui a pour but la détermination de la structure des matériaux analysés.

Dans une expérience de DRX, l'échantillon peut être un solide monocristallin, polycristallin ou amorphe. Il est placé dans une enceinte puis irradié. Les photons X diffusés de manière élastiques seront collectés par un détecteur avec une intensité maximale pour les plans cristallins en incidence de Bragg (Figure 07).

La relation entre la longueur d'onde λ l'angle d'incidence du faisceau θ et la distance inter-réticulaire d_{hkl} s'écrit :

$$n\lambda = 2d_{hkl}\sin(\theta)$$

Où n est un entier.

L'angle de diffraction, défini comme l'angle entre le faisceau incident et le faisceau diffracté est égal à 2θ .

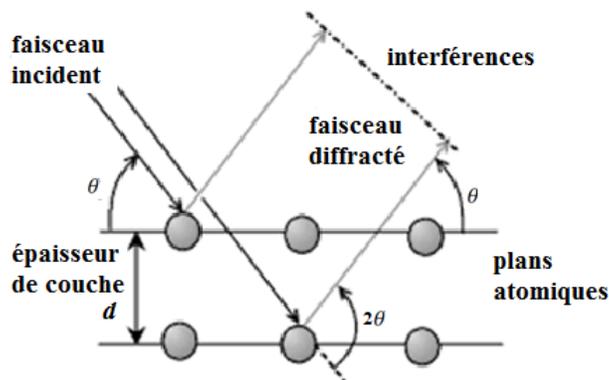


FIGURE 4.8 – Représentation du principe de la DRX

Le dispositif expérimental de la DRX est représenté sur la figure qui suit comprend :

- Un tube à rayons X monochromatique, le porte échantillon et le détecteur des photons X
- Un cercle goniométrique sur lequel se déplace le détecteur des rayons X et un cercle de focalisation sur lequel le rayonnement diffusé est concentré avant la détection

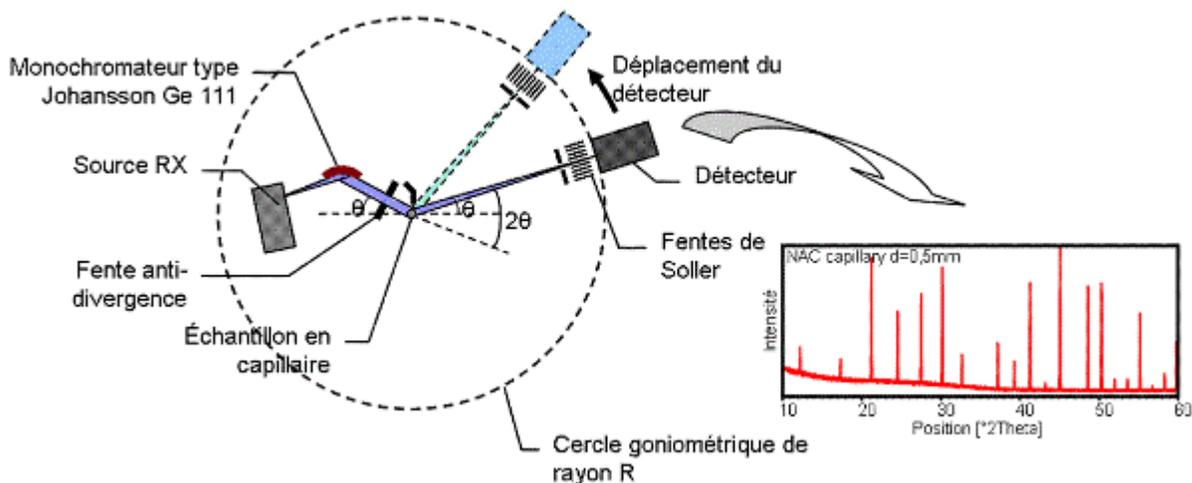


FIGURE 4.9 – Schéma de fonctionnement d'un diffractomètre de rayons X

Les rayons X incidents sont diffractés par l'échantillon et récoltés par le détecteur des photons X. Ce détecteur compte le nombre de photons reçus en fonction de l'angle 2θ formé entre le détecteur et le faisceau de rayons X incidents. On obtient ainsi des diagrammes de diffraction nous donnant l'intensité de photons diffractés (nombre de coups) en fonction de 2θ . La longueur d'onde des rayons X dépend de la nature de l'anticathode utilisée pour leur génération. Dans notre cas le diffractomètre utilisé est de type PANalytical (figure 09) opérant sous produits à partir d'une source de radiation $\text{CuK}\alpha$ de longueur d'onde

$\lambda = 0,154 \text{ nm}$ [36] [56].



FIGURE 4.10 – Diffractomètre à rayons X (PANalytical)

Détermination de la taille des grains :

Afin de déterminer la taille des grains de nos échantillons, on utilise la relation de Scherrer [57] [58] à partir des spectres de diffraction des rayons X :

$$D = (0,89\lambda)/(\beta\cos\theta)$$

β étant la largeur à mi-hauteur montrée dans la figure ci-dessous.

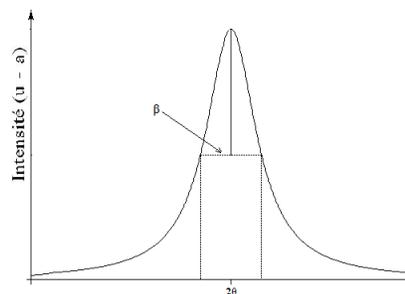


FIGURE 4.11 – Paramètre β à partir du pic de DRX

4.7 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

La spectroscopie infrarouge sert à l'étude de l'interaction rayonnement-matière. Quand on irradie notre molécule, il peut y avoir saut énergétique (c'est à dire transition énergétique d'un état E_1 vers un état supérieure E_2 ou $\Delta E = h\nu$). Si le rayonnement incident est dans l'infrarouge l'énergie vibrationnelle et l'énergie rotationnelle de la molécule sont modifiées. La spectroscopie infrarouge est utilisée pour la caractérisation des liaisons moléculaires. La position des bandes d'absorption est directement liée à la force de liaison entre les noyaux atomiques. Et comme la plupart des fréquences de vibration moléculaires correspondent au domaine infrarouge du rayonnement électromagnétique, il y aura absorption de l'onde incidente à chaque fois que la fréquence de l'onde incidente sera égale à l'une des fréquences de la molécule. L'analyse des bandes d'absorption permettra alors de remonter à la structure des molécules qui constitue notre composé. Un spectre IR représente " l'empreinte digitale" d'un échantillon avec des pics d'absorption correspondant aux fréquences de vibration entre les liaisons des atomes. En règle générale, chaque matériau a une combinaison unique d'atomes et ainsi même un spectre IR qui lui est propre. A partir de l'analyse des bandes d'absorption, leur forme, la fréquence à laquelle l'absorption est maximale et leur intensité, il est possible de connaître les groupements fonctionnels de la molécule ainsi que leur environnement. La fréquence absorbée étant elle-même fonction du type d'atome (sa masse) et du mode de vibration. Dans un spectre, la grandeur portée en ordonnée est la transmittance $T = I/I_0$ (I et I_0 sont respectivement les intensités transmise et incidente) ou l'absorbance $A = -\log(T)$, avec le nombre d'onde k ou la fréquence ν en abscisse ($k = 2\pi/\lambda = 2\pi\nu/c$).

Dans le cadre de notre étude, le spectromètre utilisé, à l'Université de Bejaia est de marque IR Affinity-1 SHIMADZU. Pour les analyse IR on prend 2% (poids %) des échantillons et soigneusement mélangé avec 98% de KBr et pastillé sous vide. Ensuite les pastilles ont été analysées dans la plage de 400 à 4000 cm^{-1} à la vitesse de balayage de 40 coups/minute pour 4cm^{-1} de résolution.



FIGURE 4.12 – FT-IR (IRAffinity)

Chapitre 5

Résultats et discussion

Dans ce chapitre, nous allons exposer et interpréter les résultats des deux types de caractérisation (DRX et FT-IR) sur deux échantillons qui sont l'albumine pure (E1) et l'albumine encapsulée dans la matrice de silice (E2). Le traitement et l'affinement des résultats sont faits par des logiciels tels que IRsolution, Origin et X'pert HighScore. Ensuite, nous ferons la comparaison entre les deux échantillons pour détecter la présence de pics d'albumine dans E2 et ainsi, voir si certaines macromolécules (caractéristiques à l'albumine) sont effectivement présentes dans E2.

5.1 Diffraction des rayons X

Après traitement avec 'Origin' sur les deux graphes originaux de l'albumine et du monolithe, on obtient les deux spectres montrés dans les figures 5.1 et 5.2.

En premier lieu, on observe sur le spectre de l'albumine pure certains pics qui se distinguent. On a noté les pics (1) à 15° , (2) à $22,5^\circ$, (3) à 44° et (4) à 51° . Et vu qu'il a manque de référence pour les pics caractéristiques de l'albumine à cause de sa taille (macromolécule), les résultats obtenus sont satisfaisants.

On a donc postulé que ces quatre pics sont représentatifs de l'ordre structural qui règne dans la macromolécule (structure quaternaire).

En analysant le deuxième graphe, on constate une seule bande aux alentours de $22,5^\circ$ qui est plutôt large et qui correspond au pic (2) de l'albumine dans la figure 5.1. Seulement, en consultant certaines références, on trouve le même pic qui est généralement interprété par la structure en verre de la silice cristallisée.

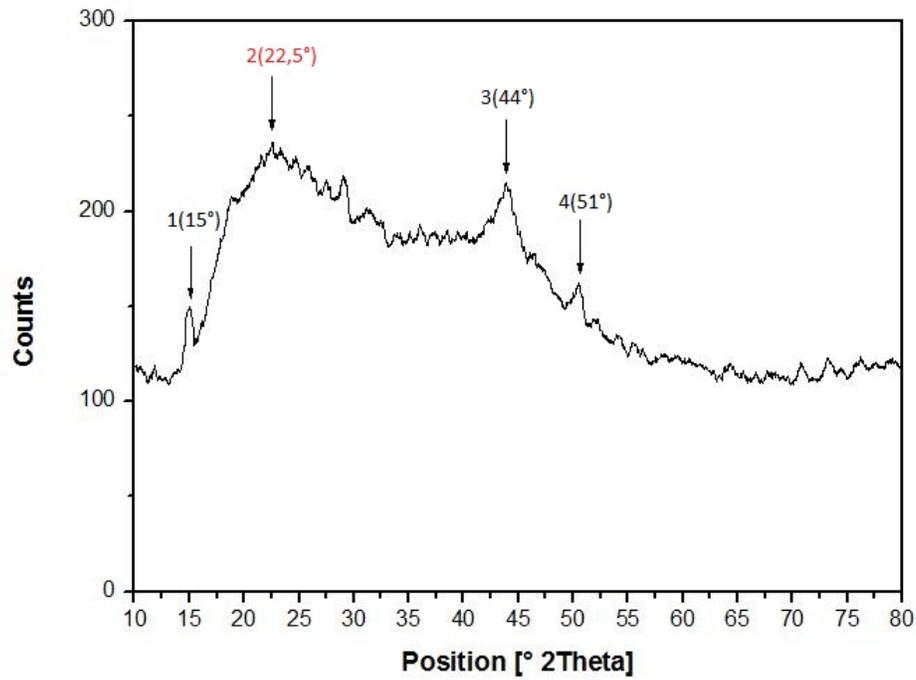
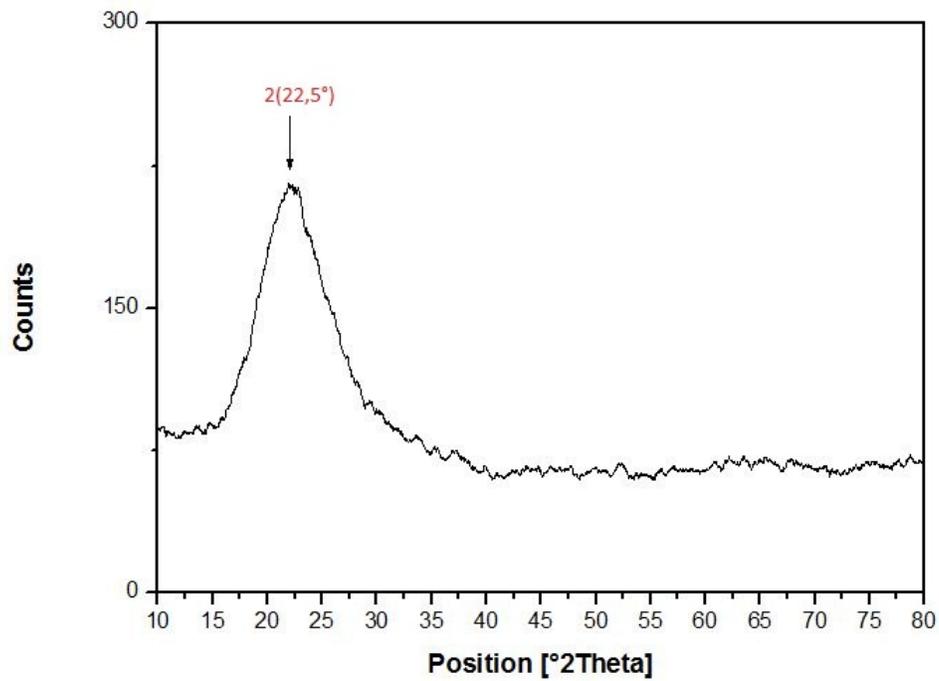


FIGURE 5.1 – Albumine pure

FIGURE 5.2 – Monolithe SiO₂/albumine

La disparition des trois pics caractéristiques de l'albumine pure ((1), (3) et (4)) s'explique par la détente (dénaturation) de la protéine dans la matrice de silice, c'est à dire que l'albumine initialement ordonnée devient désordonnée (dénaturée), cela étant probablement dû aux conditions d'élaboration, tel que l'augmentation de la température lors de l'ajout du catalyseur (HF), ou bien lors du séchage supercritiques. Ce peut être causé aussi par les interactions avec la matrice de la capsules.

5.2 Spectroscopie FT-IR

Dans le but d'étudier la formation des microcapsules de SiO₂/Albumine dans l'aérogel, les spectres FT-IR de l'albumine pure (Figure 5.3) et celui de l'aérogel SiO₂/albumine (Figure 5.4) ont été déterminés.

A noter que nous avons effectué des traitements sur le graphique original (smoothing 'lissage') avec IR solution.

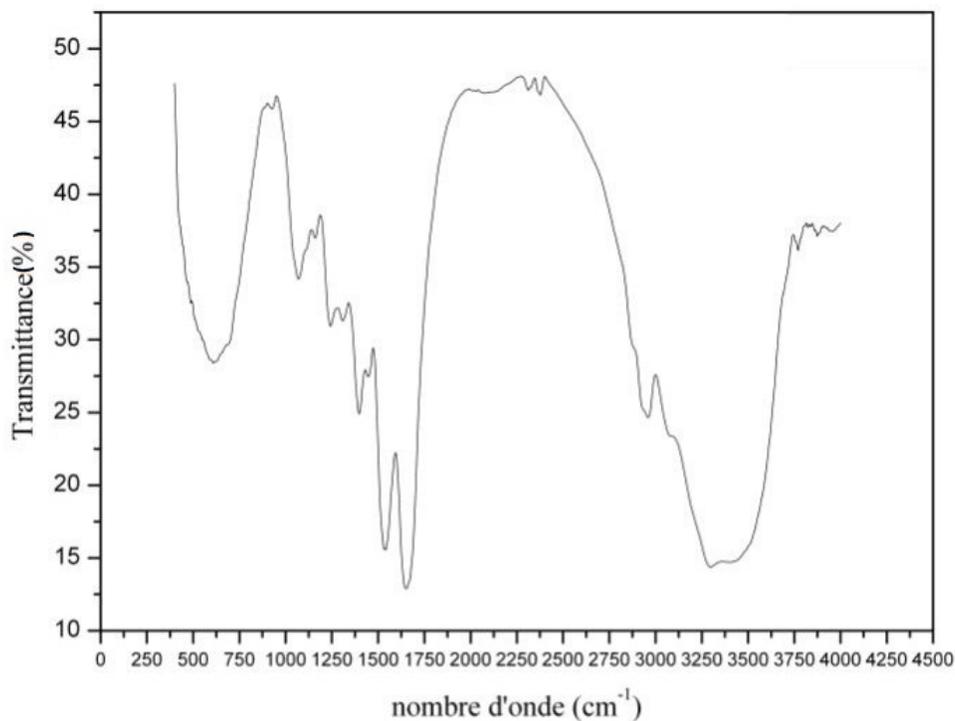
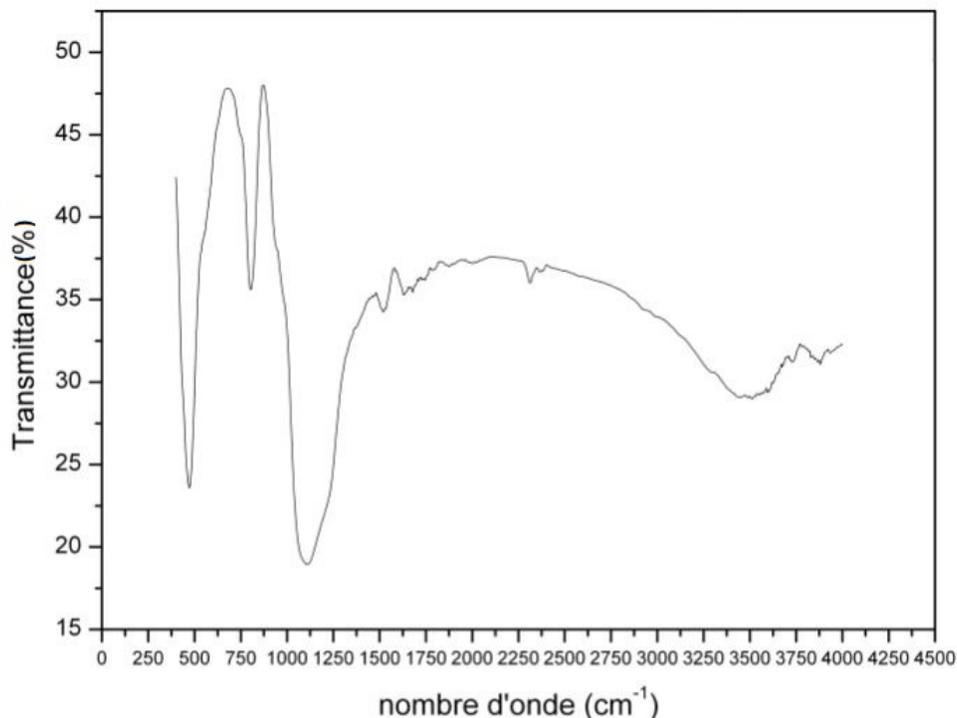


FIGURE 5.3 – Spectre FT-IR obtenu de l'albumine.

FIGURE 5.4 – Spectre FT-IR obtenu de l'aérogel SiO₂/albumine

L'étude de nos résultats de transmittance peut être subdivisée en deux parties :

- 400-1400 cm⁻¹ : vibrations caractéristiques du réseau de silice.
- 1400-4000 cm⁻¹ : Vibrations associées aux groupements organiques et à l'eau.

Commençons par la zone qui contient les vibrations associées aux groupements organiques (figure 5.5).

On remarque que les différentes liaisons présentes dans l'albumine sont affectées à certaines vibrations ; 3430 cm⁻¹ qui correspondent à la vibration de valence (-OH), 3062 cm⁻¹ qui correspondent la vibration d'étirement du groupement amide (-NH), 1652 qui correspondent à la vibration d'étirement de la liaison (C=O), 1531 cm⁻¹ qui correspondent au couplage des vibration d'étirement des liaisons (N-H) et (C-N) [59].

En comparant les résultats obtenus avec ceux de Peng Huang et al effectué sur une albumine bovine (figure 5.6), on remarque que les pics correspondent. Ceci nous révèle la fiabilité et la pureté de l'albumine utilisé.

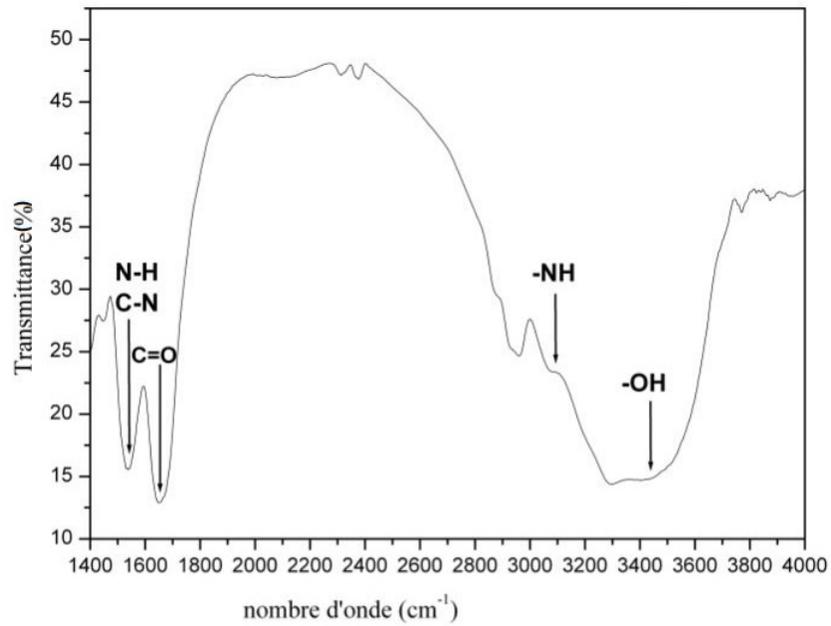
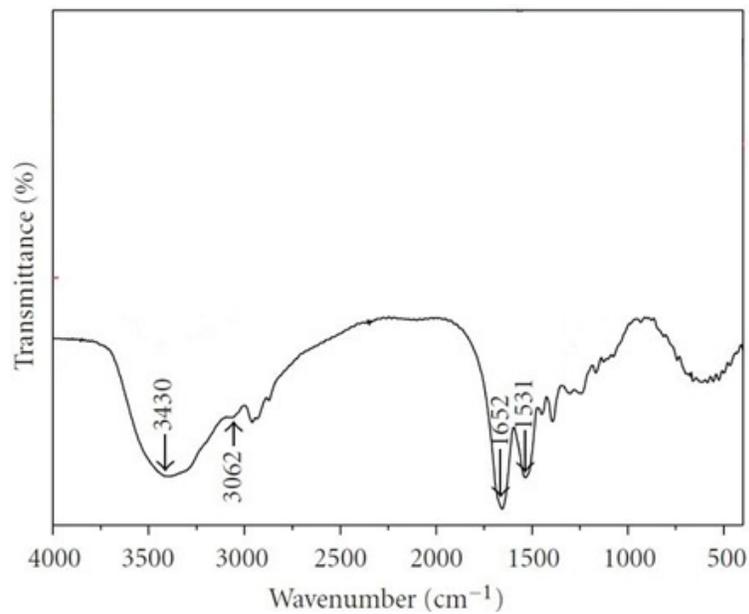
FIGURE 5.5 – Zone de 4000 à 1400 cm⁻¹

FIGURE 5.6 – Résultats obtenus par Peng Huang et al sur la transmittance de l'albumine bovine

[59]

On passe maintenant à la partie du spectre entre 1400 et 400 cm⁻¹.

Un même groupe peut donner lieu à plusieurs types de vibrations et donc à des transmittances (ou absorbances) à différentes fréquences. Ainsi le silicium lié à 4 atomes d'oxygène de la silice donne trois types de vibrations : Si-O stretching (1080 cm^{-1}), Si-O bending (805 cm^{-1}), Si-O rocking (450 cm^{-1}) qui veulent dire respectivement (étirage, fléchissement, balancement) , comme le montre la figure 5.7.

Dans notre spectre FTIR à transmittance du SiO_2 /Albumine, on observe une intensité dans la zone $1050 - 1115\text{ cm}^{-1}$ $950-1150\text{ cm}^{-1}$, qui correspond à la déformation de la liaison Si-O-Si [60].

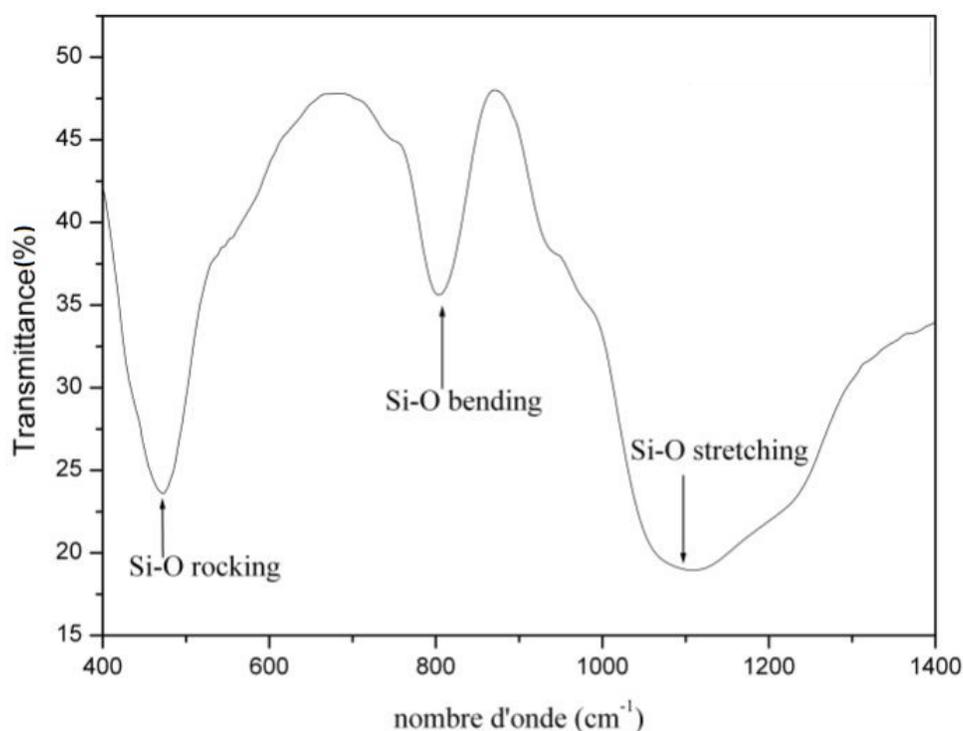


FIGURE 5.7 – Spectre FTIR à transmittance lié aux vibrations caractéristiques du réseau de silice.

On déduit que notre aérogel de silice a bien été élaboré.

L'analyse IR du gel de silice permet de mettre en évidence la présence d'eau adsorbée et de silanols à la surface du solide. Ainsi, le spectre IR d'un gel de silice est caractérisé par les pics suivants [60] :

- $465 - 475\text{ cm}^{-1}$: rotation plane de la liaison Si-O,
- $800 - 870\text{ cm}^{-1}$: déformation angulaire des groupes OH (silanols),
- $935 - 980\text{ cm}^{-1}$: vibration d'élongation des liaisons Si-OH,
- $1050 - 1115\text{ cm}^{-1}$: élongation antisymétrique des liaisons Si-O-Si dans le tétraèdre SiO_4 ,

- 1625 cm^{-1} : déformation angulaire des liaisons O-H des molécules d'eau,
- $3000 - 3800\text{ cm}^{-1}$: bande large correspondant aux vibrations d'élongation des différentes liaisons O-H des silanols et des molécules d'eau adsorbées.

On va étudier maintenant la zone $1400 - 4000\text{ cm}^{-1}$ afin de déterminer les groupements organiques présent dans notre aérogel ($\text{SiO}_2/\text{Albumine}$).

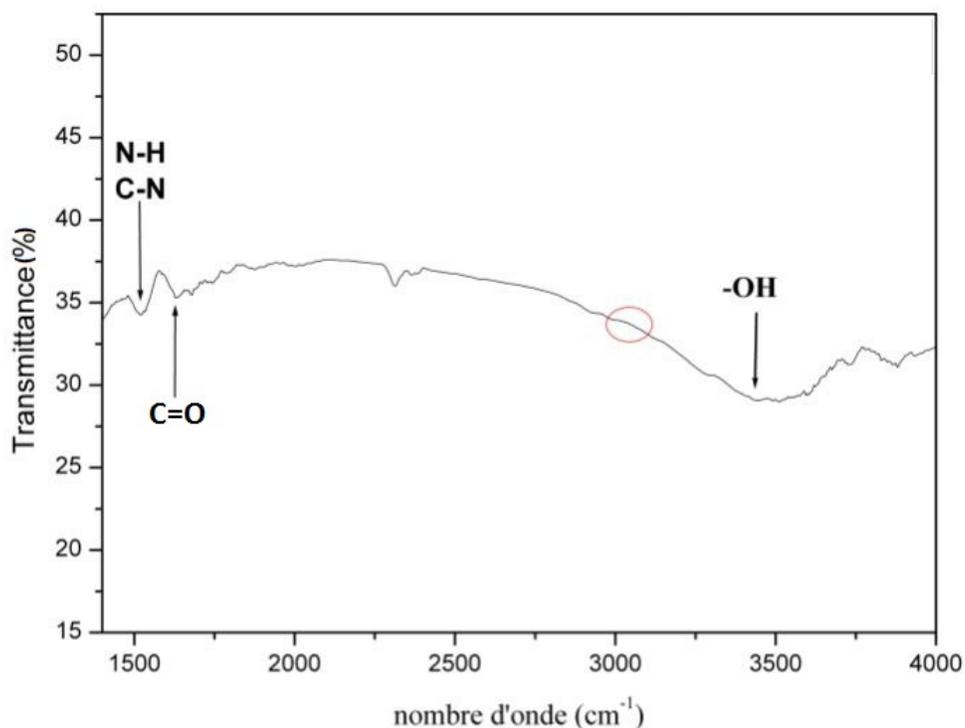


FIGURE 5.8 – Transmittance de l'aérogel $\text{SiO}_2/\text{Albumine}$

On remarque que les pics correspondant à la vibration des liaisons -OH (3430 cm^{-1}), et les vibrations d'étirement de la liaison (N-H) et (C-H) (1531 cm^{-1}) sont conservés, mais sans négliger la diminution de leurs intensités, cause due aux interactions entre d'autres liaisons présentes dans la silice.

Le pic caractéristique de groupes C=O se déplace à un nombre d'onde diminué d'environ 21 cm^{-1} et le pic caractéristique des groupes -NH disparaît pratiquement (zone encadrée en rouge dans la figure 5.8). Les résultats indiquent qu'il pourrait y avoir des liaisons conjuguées entre SiO_2 et les groupes -OH et -NH de l'albumine [59].

Conclusion

Les monolithes SiO_2 et SiO_2 /Albumine ont été élaborés par la méthode sol-gel, une méthode qui s'est distinguée par ses nombreux avantages comparée aux autres techniques de microencapsulation connues. La préparation de nos échantillons a consisté, d'abord, à élaborer les xerogels SiO_2 et SiO_2 /Albumine, puis à les sécher dans les conditions super-critiques de l'éthanol afin d'obtenir les aérogels et les monolithes désirés.

L'analyse par diffraction des rayons X nous a confirmé la perte de l'ordre structural initial qu'avait l'albumine.

L'analyse par FT-IR a démontré la présence de quelque liaisons caractéristiques à l'albumine dans l'aérogel élaboré. Les pics d'élongation antisymétrique des liaisons Si-O-Si dans le tétraèdre SiO_4 présent entre $1050 - 1115 \text{ cm}^{-1}$ montre clairement la formation de la matrice de silice, et les pics correspondant à la vibration des liaisons -OH (3430 cm^{-1}), les vibrations d'étirement de la liaison (N-H) et (C-H) (1531 cm^{-1}), et la vibration d'étirement de la liaison (C=O) (1631 cm^{-1}) montrent nettement la présence de l'albumine dans la matrice de silice, malgré la disparition du pic caractéristique du groupement amide (-NH) due probablement à la formation des liaisons conjuguées entre le SiO_2 et les groupes -OH et -NH de l'albumine.

A l'avenir nous entrevoyons la variabilité de la concentration de la protéine à encapsuler ainsi que le type du solvant afin de suivre les changements s'opérant lors de la formation de la matrice de silice, et même contrôler la réactivité de l'alcoxyde utilisé afin de conserver la forme initiale.

Et dans le but d'éviter la dénaturation des protéine, l'étude de l'effet du séchage sur cette dernière entrainera la possibilité d'élaborer des microcapsule contenant des protéines actives. Nous envisageons aussi d'étudier les microcapsules formé dans les xerogels vieillis pendant une longue période afin de déterminer la différence entre les microcapsule des aérogels et celle des xerogels. Dans l'attente des résultats de l'analyse thermogravimétrique et du microscope électronique à balayage, il est recommandé de compléter notre étude par d'autres types de caractérisation (MET, BET, RMN...) afin de vérifier la fiabilité de notre processus d'élaboration.

Bibliographie

- [1] Gene O. Fanger, *Microencapsulation : A Brief History and Introduction*, Springer, 1974.
- [2] Mykien Tran. *Microencapsulation de protéines dans des systèmes polymériques par des procédés sans solvants toxiques, en particulier la technologie des fluides supercritiques*. Pharmacology. Université d'Angers, 2013. French.
- [3] Hoppe-Seyler EF. Ueber den chemischen und optischen Eigenschaften des Blutfarbstoffs. *Virchows Arch path Anat* 1864.
- [4] Thérèse MALLIAVIN et Frédéric DARDEL , *Structure des protéines par RMN*, Techniques de l'Ingénieur.
- [5] A. Raisonnier, *Structures Biologiques*, université Pierre et Marie CURIE, 2010.
- [6] E. Jaspard, G. Hunault et J. M. Richer, *DBDB : a Disulfide Bridge DataBase for the predictive analysis of cysteine residues involved in disulfide bridges*, JOBIM, 2005.
- [7] D. Robert et B. Vian, *Éléments de biologie cellulaire*, Doin éditeurs, 2004.
- [8] G.N. Ramachandran, Sasisekharan, V. et Ramakrishnan, C. (1963) *J. Mol. Biol.*
- [9] E. Relyveld et J.C. Chermann, *Les protéines*, édition presse universitaire de France, 1970.
- [10] Horton et al, *Principes de Biochimie*, Edition DeBoeck Universités, 1994.
- [11] *British National Formulary (BNF 57)*, BMJ Group et RPS Publishing, 2009.
- [12] A.R. Hemsley et Griffiths P.C, *Philos*, 2000.
- [13] Nicolas Jan Zuidam and Victor A Nedovic, *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*, SPRINGER, 2010.
- [14] L. Schleicher, Green B.K, *US Patent*, 1956.
- [15] W. Sliwka, *microencapsulation*, *Angewandte Chemie International Edition*, 1975.
- [16] *Les techniques de microencapsulation et leurs applications*, *Revue CREATHEs*.
- [17] S. Benita, *Microencapsulation : Methods and Industrial applications*, Marcel Dekker, 1996.
- [18] R. Arshady, *Microspheres, Microcapsules and Liposomes*, Citrus Books, 1999.

- [19] M.W. Ranney, Microencapsulation Technology, Noyes Development Corporation, Park Ridge, 1969.
- [20] Bioencapsulation Innovations, Bioencapsulation research group, 2013.
- [21] Bojana Boh et Bostjan Sumiga, IN SITU POLYMERISATION MICROCAPSULES Université de Ljubljana, Slovenie.
- [22] J. Okada, A. Kusai, S. Ueda, Microencapsulation, 1985.
- [23] G. Habar, laboratoires Microcapsules-Technologies.
- [24] D. Lee, M.F. Rubner et R.E. Cohen, Chemistry of Materials, 2005.
- [25] J.T. Goodwin, G.R. Somerville, Chemtech, 1974.
- [26] R.E. Sparks, M. Norbert, US Patent, 1987.
- [27] Yoon Yeo and Kinam Park, Characterization of Reservoir-Type Microcapsules Made By the Solvent Exchange Method, PharmSciTech, 2004.
- [28] Swapan Kumar Ghosh, Functional Coating by Polymer Microencapsulation, WILEY-VCH, 2006.
- [29] Mickael DEVASSINE, LA MICROENCAPSULATION : UNE NOUVELLE APPROCHE, Conférence CARMA - IB SUD, 13.10.2005.
- [30] J.J. Ebelmen, Academic Science 19, 398, 1844.
- [31] D.L. Segal, Sol-gel processing : Routes to oxide ceramics using colloidal dispersions of hydrous oxides and alkoxide intermediates, Journal of Non Crystalline Solids 63, 183, 1984.
- [32] J. Brinker, G.W. Scherer, The physics and chemistry of sol-gel processing, Sol-gel science Academic Press, 1990.
- [33] M.P. Pechini, US Patent, 3 330, 697, 1967.
- [34] J. Livage, M. Henry, C. Sanchez, Sol-gel chemistry of transition metal oxides, Progr. In Sol. State Chem. 18, 259, 1988.
- [35] J. Livage, Chimie de la Matière Condensée, Fayard, 2003.
- [36] K. Mouhli, K. Taraft, élaboration des couches minces de ZnO et de ZnO :Al par le procédé sol-gel”, mémoire DEA, université de Bejaia, 2010.
- [37] K.A. Andrianov, Organic silicon compound, States scientific publishing house for chemical literature, Moscow, 1955.
- [38] R. Anderson, B. Arkles et C.L. Larson, petrarch systems silane and silicones, petrarch Système, 1987.
- [39] D.C. Bradley, R.C. Mehrotra, D.P. Gaur, Metal Alkoxides, Academic Press, London, 1978.
- [40] D.C. Bradley, nature 182, 1211, 1958.
- [41] A. Rbah, Elaboration de nouveaux nanomatériaux photocatalytiques actifs sous rayonnement visible, mémoire de doctorat, univ de Paris 13, 2009.

- [42] E.R. Pohl, F.D. Osterholtz, *Molecular Characterisation of Composites Interfaces*, Kruna G Ishida H, Plenum, New York, 1985.
- [43] R.K. Iler, *The Chemistry of Silica*, Wiley, New York, 1979.
- [44] R.E. Timms, *Journal of Chemical Society*, 1972, A, 1969.
- [45] B.K. Coltrain, S.M. Melpolder, J.M. Salva, *Proc. IV Int. Conf. Ultrastructure Processing of Ceramics, Glasses and Composites*, D.R. Ulmann et D.R. Ulrich, Wiley, New York, 1989.
- [46] K.A. Andrianov, *Metal Organic Polymers*, Wiley, New York, 1965.
- [47] R.J.P. Corriu, J.C. Young, *The Chemistry of Organic Silicon Compounds*, *The chemistry of Organic Silicon Compounds*, ed. Patai S, Rappoport Z, Wiley, New-York, 1989.
- [48] J. Livage, C. Sanchez, F. Babonneau, *Molecular Precursor Routes to inorganic solids*, *Chem. Adv. Mat : An overview*, Edité par Leonard V Interrante et Mark J. Hampden-Smith , 389, 1998.
- [49] A. Pierre, M. Fabien, *procédé sol-gel de polymérisation*, *Technique de l'ingénieur*, 2005.
- [50] F. AOUDJIT, "synthèse et caractérisation des catalyseurs xérogels et aérogels à base de molybdène et de tungstène et leur application dans l'isomérisation des paraffines C5-C6", thèse magister, Boumerdes 2008.
- [51] J ; PHALIPPOU et L. KOCON, *Aérogels, Aspects fondamentaux [AF 3 609]*. *Traité Sciences fondamentales*, 2004.
- [52] D. Gallagher and T.A. Ring, *Solgel processing of ceramic films*, *Chimia* 43, 298, 1989.
- [53] R. MORRISON, R. BOYD, *Organic chemistry*, 1970.
- [54] J. PHALIPPOU and J.C. DROGUET, *Sol-Gel Science and Technology : Topics in Fundamental Research and Applications Vol.1*.
- [55] L.C. KLEIN, *Sol-gel Optics : Processing and applications*, Kluwer academic publishers, London, 1994.
- [56] E. DEFFAY, *Elaboration et caractérisation des couches minces piezoélectriques de Pb (Zr, Ti) O3 sur silicium pour applications aux microsystèmes*, institut national des sciences appliquées de Lyon, 1999.
- [57] L.A. GOODMAN, *RCA Rev.* 35.613, 1974.
- [58] C.M. LAMPERT, *So Energy Mater*, 6-11, 1981.
- [59] P. HUANG, Z. LI, H. HU, and D. CUI , *Synthesis and Characterization of Bovine Serum Albumin-Conjugated Copper Sulfide Nanocomposites* ,Hindawi Publishing Corporation *Journal of Nanomaterials*, 2 April 2010.
- [60] P.K. JAL, M. SUDARSHAN, A. SAHA, S PATEL, B.K. MISHRA, *Synthesis and characterization of nanosilica prepared by precipitation method*, *Colloids and Surfaces A : Physicochem. Eng. Aspects* 240, 2004.

Résumé :

Le présent travail rassemble un aperçu ainsi que les résultats concernant l'encapsulation des protéines dans une matrice de silice. Pour ce faire, la matrice est obtenue par le procédé sol-gel vu les avantages qu'il offre, et l'albumine est utilisée comme protéine à encapsuler. Les spectres de la DRX révèlent l'incorporation de l'albumine dans le réseau de silice, et ceux de la FT-IR démontrent la présence de certaines liaisons caractéristiques à l'albumine et aux ponts Si-O-Si. On conclut que l'albumine est encapsulée dans la silice.

Abstract :

This work gathers a preview and results concerning the encapsulation of proteins in a silica matrix. In order to do so, silica matrix is obtained by using sol-gel process for some of the advantages that it offers, and the albumin is used as the protein to encapsulate. XRD spectrums show us the incorporation of the albumin inside the silica lattice, and those of FT-IR show the presence of some characteristic chemical bonds of albumin and of Si-O-Si bridges. It is concluded that the albumin is encapsulated inside the silica.