

**DOSSIER UNIQUE DE CANDIDATURE  
A UNE ALLOCATION DE RECHERCHE  
POUR LA RENTREE 2017**

Dossier complété et revêtu des signatures à transmettre impérativement pour le :  
**15 décembre 2016 17h00, au plus tard,**  
au Service Recherche et Valorisation de la Recherche  
[secretariat.recherche@univ-littoral.fr](mailto:secretariat.recherche@univ-littoral.fr)

**Titre de la thèse : Encapsulation de composés bioactifs : effet sur leurs propriétés physico-chimiques et biologiques**

**Laboratoire d'accueil ULCO : UCEIV (EA 4492)**

**Priorité du laboratoire :** 1<sup>er</sup>/1 sur le dispositif Université Libanaise/ULCO

**Directeur de thèse ULCO : Pr Sophie Fourmentin**

**Merci de renseigner l'ensemble des demandes de financements envisagées pour ce sujet (NB : Les demandes peuvent porter sur plus de deux cofinanceurs envisagés):**

Région 50 % (Dans ce cas, ne pas oublier de remplir également le dossier « Région »)

PMCO 50 %

ULCO 50 %

ULCO 100 %

ADEME 50 %

ADEME 100 %

Dispositif AUF/CNRS Libanais / Université Libanaise 100 %

Pour ce dispositif, merci d'indiquer en plus :

- partenaire étrangers si identifié (noms de la structure de recherche et du codirecteur étranger) : **Laboratoire des Molécules bioactives, Pr Hélène Greige-Gerges**
- Thématique : **(3) obésité, nutrition et activités sportives**

Autre Financeur 50 %, préciser le financeur :

Autre Financeur 100 %, préciser le financeur :

## \*LABORATOIRE D'ACCUEIL

Nom du laboratoire d'accueil : UCEIV, EA 4492

Nombre de HDR dans le laboratoire : 13

Nombre de thèses encadrées dans le laboratoire (rentrée 2014) : 22

Durée moyenne des thèses soutenues dans le laboratoire, sur la période 2010-2014 : 38,5 mois

## ENCADREMENT

Nom, Prénom du directeur de laboratoire : Pr Dominique Courcot

Nom, Prénom du directeur de thèse (si différent du directeur de laboratoire) : Pr Sophie Fourmentin

Nombre de doctorats en préparation sous la direction du directeur de thèse : 2 (1 en co-tutelle et 1 en co-direction)

Avis détaillé du directeur de thèse :

Ce sujet de thèse s'inscrit dans la continuité des projets développés en partenariat entre l'équipe chimie supramoléculaire de l'UCEIV et le laboratoire des Molécules Bioactives de l'Université Libanaise. Il associe les compétences des deux équipes dans le domaine de la chimie supramoléculaire (cyclodextrines et liposomes). Cette étude devrait permettre de mieux comprendre les phénomènes régissant l'encapsulation et la libération des composés inclus, ainsi que l'effet de co-solvants. Des premiers résultats ont montré l'intérêt du système mixte DCL par rapport aux systèmes d'encapsulation simples et nécessitent de plus amples investigations. Dans ce projet nous envisageons également d'étudier les effets biologiques de diverses molécules bioactives libres ou encapsulées (antioxydant, antibactérien, antifongiques et SDP) avec des applications potentielles en agroalimentaire.

Signature du directeur de thèse



Avis détaillé du directeur de laboratoire :

Ce sujet s'inscrit dans la thématique prioritaire de l'équipe « Chimie Supramoléculaire » de l'UCEIV. Il porte sur l'utilisation de supramolécules pour l'encapsulation de composés bioactifs. Cette demande entre dans le cadre d'une collaboration suivie depuis plusieurs années avec le Laboratoire des Molécules Bioactives de l'Université Libanaise.

La demande a obtenu un avis très favorable du Conseil d'Unité de l'UCEIV, réuni le 11 janvier 2017.

Signature du directeur de laboratoire



D.COURCOT

## PROJET DE THESE

Intitulé du projet de thèse : **Encapsulation de composés bioactifs : effet sur leurs propriétés physico-chimiques et biologiques**

Domaine scientifique : chimie supramoléculaire, agroalimentaire, santé

Résumé (1/2 page maxi.) :

L'encapsulation est une technique permettant d'emprisonner des liquides ou des solides dans une enveloppe qui les isole dans le but de les protéger de l'environnement extérieur, ou de maîtriser leur libération dans un environnement choisi. L'élaboration de systèmes d'encapsulation permet de protéger les ingrédients actifs à la fois contre la dégradation physique (précipitation, cristallisation), la dégradation chimique (oxydation) induite par l'exposition à l'oxygène, la lumière, l'humidité, la température ou les changements de force ionique ou de contrôler leur libération dans des conditions souhaitées.

Dans ce but, différents systèmes d'encapsulation applicables pour l'alimentation tels que : *i*) les liposomes, dont la membrane est constituée d'une bicouche de phospholipides, *ii*) l'encapsulation moléculaire (cyclodextrines, maltodextrines), dans laquelle la substance est encapsulée dans une cavité hydrophobe et *iii*) les systèmes mixtes « drug-in-cyclodextrin-in-liposomes » (DCL) dans lequel le complexe d'inclusion se trouve dans l'espace aqueux des liposomes, seront étudiés. L'originalité d'une telle approche repose sur le fait que les complexes d'inclusion formés avec les liposomes, les cyclodextrines et les systèmes mixtes (DCL) sont réversibles et que les composés peuvent être libérés de manière prolongée dans le milieu environnant. Il existe de nombreuses applications potentielles pour un tel concept, notamment des applications dans le domaine pharmaceutique (prolongation de la durée d'action, contrôle de la diffusion ou de la disponibilité) mais également dans l'agroalimentaire (emballages antimicrobiens).

Durant cette thèse, l'encapsulation de composés bioactifs (huiles essentielles, arômes, antioxydants, lipopeptides bactériens) sera ainsi réalisée. Les complexes formés seront caractérisés en solution (RMN, UV, HS-GC) et sous forme solide (IR, ATD-ATG). Les effets de l'encapsulation sur les propriétés physico-chimiques (solubilité, stabilité) et biologiques (anti-oxydante, antifongique, antimicrobienne) des composés seront évalués. Enfin, la stabilité physico-chimique du (es) système (s) durant le stockage ainsi que l'effet de la présence de co-solvants seront évalués.

Projet de thèse (5 pages maxi.) :

### 1. Contexte scientifique

La nutrition humaine est devenue une préoccupation majeure pour les consommateurs et pour les industriels qui cherchent continuellement à trouver des produits naturels comme alternative aux conservateurs chimiques qui présentent souvent des effets indésirables. Connues pour leurs propriétés antimicrobiennes, et autorisées dans les préparations alimentaires, les huiles essentielles peuvent apporter une réponse à ce problème. Toutefois leur faible solubilité dans l'eau, leur sensibilité à l'oxydation et à la lumière et leur volatilité ont constitué de vrais obstacles pour leur développement industriel.

C'est ainsi que des systèmes d'encapsulation sont utilisés pour préserver ces molécules et permettre leur libération continue et contrôlée dans des préparations alimentaires. Les défis techniques des systèmes d'encapsulation restant à résoudre dans l'avenir concernent

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

Il existe différents systèmes d'encapsulation applicables à l'alimentation (figure 1) :

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

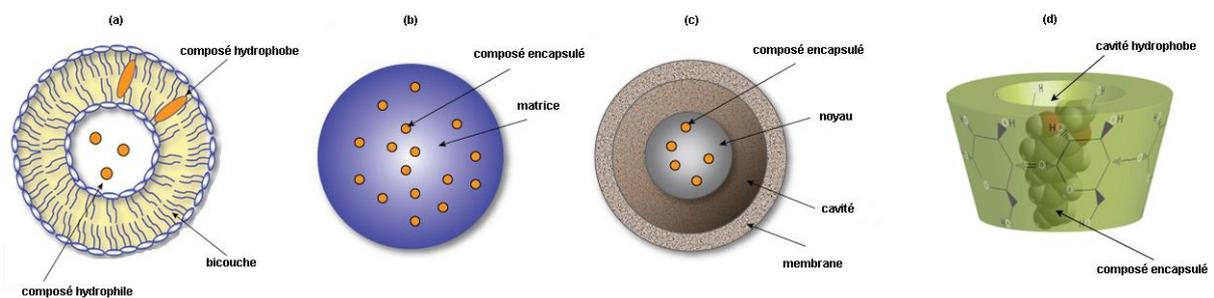


Figure 1 : Représentation schématique des systèmes d'encapsulation : (a) liposomes, (b) microsphères, (c) microcapsules et (d) encapsulation moléculaire.

Dans ce projet de thèse, nous proposons de développer de nouveaux systèmes d'encapsulation à base de composés naturels bio-sourcés (cyclodextrines, CD et maltodextrines, MD) et/ou de liposomes pour augmenter la solubilité des ingrédients, leur stabilité chimique et physique et contrôler leur libération.

Etant donné que les complexes d'inclusion CD/principe actif se dissocient facilement en milieu aqueux et que les molécules hydrophobes, telles que les constituants des huiles essentielles, s'incorporent dans la bicouche lipidique menant à une libération rapide du principe actif de la structure liposomiale, nous proposons le système mixte d'encapsulation où le complexe d'inclusion CD/principe actif sera inclus dans la partie aqueuse des liposomes, ce qui devrait aboutir à une libération retardée. De plus, les CD sont capables de protéger les structures liposomiales lors de la lyophilisation. La préparation de système mixte d'encapsulation et leur lyophilisation permettra d'obtenir des structures vésiculaires sous forme de poudre destinées à être ajoutées à diverses préparations alimentaires.

## 2. Etat du sujet dans le laboratoire et l'équipe d'accueil

Au sein de l'équipe de chimie supramoléculaire (CS) de l'UCEIV deux thèses ont été soutenues sur l'encapsulation d'arômes et d'huiles essentielles par des CD et polymères de CD (thèse de Anca Ciobanu, soutenue en 2011) et sur l'effet de l'encapsulation sur les propriétés physico-chimiques et biologiques (thèse de Miriana Kfoury, en cotutelle avec l'Université Libanaise, soutenue en 2015). Une thèse est actuellement en cours sur

l'encapsulation de sesquiterpènes par les liposomes, CD et DCL (thèse de Joyce Azzi en cotutelle avec l'Université Libanaise, soutenance prévue en décembre 2017).

Les deux laboratoires partenaires de ce projet ont ainsi contribué au développement de structures encapsulant des arômes dans plusieurs systèmes d'encapsulation y compris les cyclodextrines et les liposomes. Cependant, il nous reste à étudier la faisabilité de tels systèmes pour les mélanges complexes que sont les huiles essentielles. En effet, l'encapsulation pourrait modifier la composition des HE, étant donné qu'un composé chimique pourrait être plus retenu qu'un autre, et donc leurs effets biologiques. De plus la stabilité de tels systèmes dans le temps doit être évaluée.

### 3. Programme et échéancier de travail

#### a. Programme

**Tâche 1 :** Préparation et caractérisation des systèmes d'encapsulation (liposomes, CD, MD, DCL) avec diverses molécules bioactives.

- Encapsulation des molécules bioactives en solution : détermination des constantes de formation, caractérisation des complexes par RMN, UV-visible, chromatographie en phase gazeuse.
- Encapsulation sous forme solide (préparation par co-précipitation, lyophilisation). Caractérisation par ATD-ATG, DSC.
- Suivi de la stabilité physique des systèmes dans le temps en solution ou lyophilisés. Effet des CD sur la stabilité des liposomes.
- Impact de la complexation sur la composition des mélanges complexes (HE).
- Effet de co-solvants sur la stabilité des complexes.

**Tâche 2 :** Effet de la complexation sur les propriétés physico-chimiques des composés

- Effet sur la solubilité aqueuse des composés bioactifs.
- Suivi de la photodégradation des composés libres ou encapsulés.
- Etude de la stabilité chimique des systèmes et suivi de la libération des composés à partir des systèmes d'encapsulation.
- Mesure de la stabilité des systèmes d'encapsulation dans les fluides biologiques (gastrique, intestinal, plasma humain ). .

**Tâche 3 :** Effet de la complexation sur les propriétés biologiques des composés

- Etude des activités antioxydantes des composés libres ou encapsulés par différents tests (DPPH, ABTS, í ).
- Mesure des activités antimicrobiennes sur différentes souches de bactéries.
- Mesure des effets antifongiques sur *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Blumeria graminis*, *Zymoseptoria tritici*.
- Mesure d'une activité stimulatrice des défenses (SDP) du lin et du blé.

## b. Echancier

Laboratoire - pays	Période	Activités
UL-Liban	septembre 2017-décembre 2017	Etude bibliographique Préparation des liposomes Caractérisation physique (morphologie, taille, charge de surface) des vésicules lipidiques, détermination du taux et du rendement d'encapsulation
UCEIV-France	janvier 2018-juin 2018	Préparation et caractérisation des complexes avec les CD et MD en solution (SH-GC, UV-Visible) Etude de la libération des composés bioactifs
UL-Liban	juillet 2018-décembre 2018	Incorporation des complexes d'inclusion dans les liposomes Détermination de l'efficacité d'encapsulation et caractérisation des liposomes
UCEIV-France	janvier 2019-juin 2019	Etude des propriétés antioxydantes Etude des effets SDP Suivi de la dégradation des composés libres ou encapsulés
UL-Liban	juillet 2019-décembre 2019	Etude des effets antimicrobiens Suivi de la stabilité dans les fluides biologiques
UCEIV-France	janvier 2020-juin 2020	Etude des effets antifongiques Suivi de la stabilité des systèmes d'encapsulation
UL-Liban	juillet 2020-septembre 2020	Rédaction du manuscrit de thèse Soutenance

## 4. Les retombées scientifiques et économiques attendues

L'encapsulation de molécules bioactives, y compris les constituants des huiles essentielles, dans les cyclodextrines ou les liposomes, bien que connue dans le monde scientifique nécessite encore de nombreuses investigations afin de comprendre les processus mis en jeu. De plus, peu d'études portant sur le système mixte d'encapsulation (DCL) sont publiées dans la littérature. Ce projet devrait donc contribuer à mieux comprendre les propriétés des nanostructures obtenues et de définir leurs avantages et/ou désavantages afin de pouvoir choisir le système le mieux adapté à la problématique. Ce projet est pluridisciplinaire par excellence se positionnant à l'interface chimie-biologie-physique. Il fait appel à des techniques analytiques, spectroscopiques, physiques et microbiologiques et sa réalisation contribuera au développement économique et à bâtir des ponts entre les secteurs académiques et industriels.

De nombreux enseignants-chercheurs du Moyen-Orient ont étudié la composition des huiles essentielles des plantes endémiques de la région et recherché leurs propriétés biologiques. Cependant jusqu'à présent la valorisation de ces HE est limitée. Ce projet permettra de pouvoir valoriser ces HE en assurant une libération contrôlée des composés et en augmentant leur stabilité. Il pourra contribuer ainsi à bâtir des ponts entre l'Université et le monde industriel qui cherche à trouver des alternatives naturelles aux molécules chimiques qui présentent souvent des effets indésirables et qui sont considérées de plus en plus comme indésirables par les consommateurs.

## 5. Collaborations et publications

Cette thèse sera réalisée en collaboration avec le LAGEP (Université Claude Bernard Lyon I) pour la préparation des liposomes et DCL à grande échelle (Dr C. Charcosset) et

l'équipe IPCR de l'UCEIV pour les tests antifongiques et SDP (Pr A. Lounès-Hadj Sahraoui et P. Reignault).

▪ **Liste des publications portant sur le sujet**

1. M. Kfoury, A. Lounès-Hadj Sahraoui, N. Bourdon, F. Laruelle, J. Fontaine, L. Auezova, H. Greige-Gerges, S. Fourmentin : Solubility, photostability and antifungal activity of phenylpropanoids encapsulated in cyclodextrins, *Food Chem.*, **196**, 518-525, 2016.
2. M. Kfoury, D. Landy, S. Ruellan, L. Auezova, H. Greige-Gerges, S. Fourmentin : Determination of formation constants and structural characterization of cyclodextrin inclusion complexes with two phenolic isomers: carvacrol and thymol, *Beilstein J. Org. Chem.*, **12**, 29-42, 2016.
3. M. Kfoury, L. Auezova, H. Greige-Gerges, S. Fourmentin : Development of a Total Organic Carbon method for the quantitative determination of solubility enhancement by cyclodextrins: Application to essential oils, *Anal. Chim. Acta*, **918**, 21-25, 2016.
4. M. Kfoury, L. Auezova, H. Greige-Gerges, K.L. Larsen, S. Fourmentin : Release studies of trans-anethole from  $\beta$ -cyclodextrin solid inclusion complexes by Multiple Headspace Extraction, *Carbohydr. Polym.*, **151**, 1245-1250, 2016.
5. M. Kfoury, L. Auezova, H. Greige-Gerges, S. Fourmentin: Promising applications of cyclodextrins in food: improvement of essential oils retention, controlled release and antiradical activity, *Carbohydr. Polym.*, **131**, 264-272, 2015.
6. R. Gharib, H. Greige-Gerges, S. Fourmentin, C. Charcosset, L. Auezova : Liposomes incorporating cyclodextrin-drug inclusion complexes: current state of knowledge, *Carbohydr. Polym.*, **129**, 175-186, 2015.
7. M. Kfoury, R. Balan, D. Landy, D. Nistor, S. Fourmentin : Investigation of the complexation of essential oils components with cyclodextrins, *Supramol. Chem.*, **27**(9), 620-628, 2015.
8. M. Kfoury, L. Auezova, H. Greige-Gerges, S. Ruellan, S. Fourmentin : Cyclodextrin, an efficient tool for trans-anethole encapsulation: Chromatographic, spectroscopic, thermal and structural studies, *Food Chem.*, **164**, 454-461, 2014.
9. A. Ciobanu, I. Mallard, D. Landy, G. Brabie, D. Nistor, S. Fourmentin : Retention of aroma compounds from *Mentha piperita* essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers, *Food Chem.*, **138**(1), 291-297, 2013.
10. A. Ciobanu, D. Landy, S. Fourmentin : Complexation efficiency of cyclodextrins for volatile flavor compounds, *Food Research Int.*, **53**(1), 110-114, 2013.