République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur

Et de la Recherche Scientifique

Université de Médéa

Département du Génie des Procédés et de l'environnement.

Mémoire de Fin d'Etude pour l'obtention du diplôme de Master

En Génie des Procédés.

Option : Procédés Pharmaceutiques

Thème

FORMULATION ET CARACTERISATION DES EMULSIONS MULTILPLES SATBILISEES PAR DES BIOPOLYMERES

Proposé et Dirigé par :

- **M^me SEDDARI. S**
- **M^r DOUAKH. O**

Réalisé par :

- **SEBBACHE Hichem**

2012-2013

Aux termes de ce travail et avant tout, nous louons

ALLAH

Pour tous les bienfaits et les faveurs qu'il nous a attribués

Et sans lesquels nous ne serons arrivés.

J'exprime ma plus grande reconnaissance à ma promotrice Mme. SEDDARI SOUMIA Pour le temps et l'attention qu'elle a consacré pour le bon déroulement de ce travail.

J'adresse également mes vifs remerciements à MR.DOUAKH OTHMANE ingénieur au département de développement des médicaments. SAIDAL de m'avoir aidé dans la réalisation de ce travail.

J'exprime tous mes remerciements à l'équipe du Hall technologique d'U.de Médéa et toute l'équipe de laboratoire de contrôle de qualité, laboratoire de physico-chimie et tout le personnel du laboratoire de microbiologie de SAIDAL.

Je remercie tous les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'examiner et de juger notre travail.

En fin, que toutes personnes, qui, de près ou de loin ayant contribué à l'élaboration de ce travail, trouvées ici l'expression de notre profonde sympathie.



Avant tout, je remercie le grand Dieu, qui nous a aidé à élaborer ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère et tendre mère

A celle qui a tout souffert, sans me faire souffrir, qu'elle trouve dans ce mémoire le témoignage de ma reconnaissance et de mon affection pour tous les sacrifices, l'extrême amour et la bonté qu'elle m'a offert pour me voir réussir.

A mon cher père

A l'homme, à qui je dois ma réussite, mon bonheur, et tout le respect ;

Qu'il trouve ici l'expression de mon affection et une récompense des sacrifices consentis pour moi.

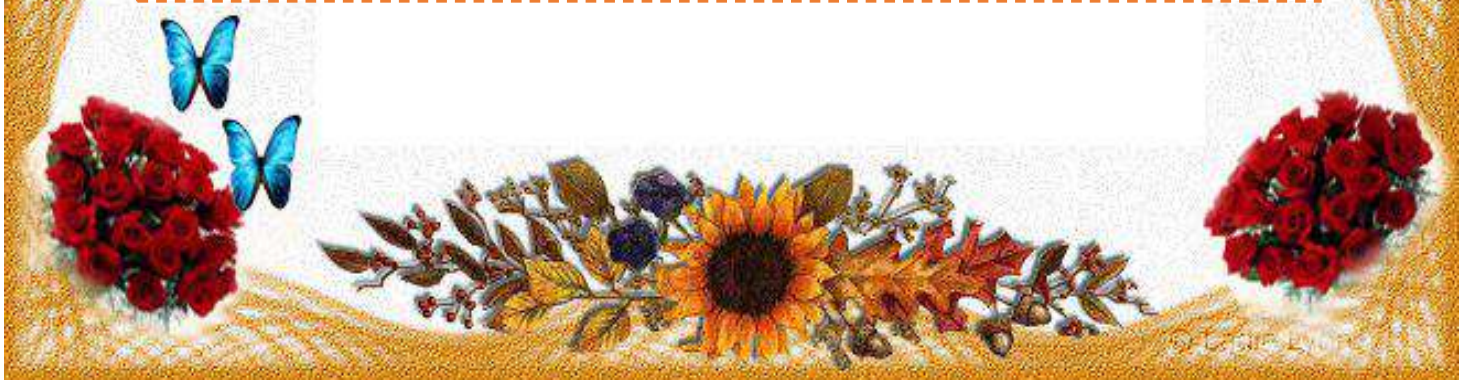
A mes frères

En témoignage de mon profond amour et respect, auxquels je souhaite le succès et le bonheur.

Que Dieu nous protègent et nous préserve le bonheur et la santé

A mes amis

A tous mes ami(e)s, tous ceux que j'aime, tous ceux qui m'aiment et tous ceux qui me sont chers.



ملخص

الهدف من هذا العمل هو تحضير ودراسة المستحلبات المتعددة (ماء في زيت في ماء) ذات أهمية صيدلانية وغذائية مستقرة بخليط كزينات الصوديوم و البكتين، بخليط كزينات الصوديوم و متعدد الإكزانتان. كمية التراكيز الكتلية للشنيط الطبيعي تتغير حسب استقرار المستحلبات المتعددة. تم دراسة استقرار المستحلبات خلال شهر. النتيجة المتحصل عليها للاستقرار نستطيع تصنيفها على النحو التالي: كازينات الصوديوم ومتعدد الإيكزانتان > كازينات الصوديوم و بكتين. العديد من الميكانزمات تم توضيحها بفضل دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية، الخصائص الريولوجية (اللزوجية) للمستحلبات، وتم ملاحظتها بالمجهر الضوئي بعد التحضير. استطاعت كازينات الصوديوم مع البكتين المحافظة على استقرار المستحلبات ماء في زيت في ماء مدة 10 أيام. تركيز الهيدروجين الأمثل لاستقرار المستحلبات ماء في زيت في ماء بواسطة كازينات الصوديوم و متعددة الإكزنتان هو5.

الكلمات الاساسية: المستحلبات المتعددة، متعدد الإيكزانتان، كازينات الصوديوم ، بكتين، الإستقرار.

RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude a été de formuler et caractériser des émulsions multiples eau/huile/eau d'intérêt pharmaceutique ou alimentaire stabilisées par; des mélanges de caséinate de sodium et pectine (CN-P); caséinate de sodium et gomme xanthane (CN-GX). Les concentrations massiques totales du biopolymère ont été variées selon la stabilité des émulsions multiples. Cette étude de stabilité des émulsions a été menée sur un mois. Les stabilités obtenues ont pu être classées par ordre croissant CN-GX > CN-P. Plusieurs mécanismes de stabilisation ont été mis en évidence grâce à l'étude des propriétés physicochimiques, à l'étude des propriétés rhéologiques (viscosité) et à des observations au microscope optique des émulsions après formulation. Le mélange CN-P a stabilisé les émulsions E/H/E pendant 10 jours . Le pH optimal pour stabiliser les émulsions E/H/E par CN-GX est de 5 .

Mots clés: émulsion multiples, gomme xanthane, caséinate de sodium, pectine, stabilités.

Abstract

The objective of this study was to formulate and characterize pharmaceutical or nutritional double emulsion water/oil/water, stabilized by mixtures of sodium caseinate and pectin (CN-P); sodium caseinate and gum xanthan (CN-GX). The total mass concentration of biopolymere were varied according to the stability of the multiple emulsions. Study of the emulsions was under taken on one month. Stabilities obtained could be classified by order ascending: CN-GX > CN-P. Many mechanisms of stabilization were highlighted thanks to the physico-chemical study of the properties, to the studies of the rheological properties (viscosity) of the emulsions and with observations under the optical microscope of the emulsions after the formulation. Mixtures CN-P stabilized emulsions E/H/E during 10 days . The optimal pH stabilized emulsions E/H/E by CN-GX it is 5 .

Key words: multiples emulsion, xanthan gum, sodium caseinate, pectin, stabilities.

SOMMAIRE

chapitre I: Emulsions simples et multiples

Introduction générale 1

1. Introduction : 3

2. Définition d'émulsion: 3

3. les tension actifs 3

3.1. Définition 3

3.2. Classification des tensioactifs 4

3.3. Propriétés des agents tensioactifs 5

3.4.Critère de Choix des tensioactifs : 5

3.4.1. Règle de Bancroft: 5

3.4.2. Balance Hydrophile-Lipophile (HLB): 5

4. Les types des émulsions : 6

5. Préparation d'émulsion simple : 7

6. Potentiels d'interaction et stabilité des émulsions: 7

6.1. Attraction de van der Waals: 8

6.2. Interactions de déplétion 8

6.3. Stabilisation électrostatique 9

6.4. Stabilisation stérique: 9

7. Mécanismes d'évolution ou de destruction des émulsions: 10

7.1. Le crémage ou sédimentation: 10

7.2. La floculation : 11

7.3. Coagulation : 12

7.4. Coalescence : 12

8. Examen de la nature des émulsions 13

8.1. Examen macroscopique: 13

8.1.1. Critère olfactif 13

8.2. Examen microscopique 13

8.3. Détermination du sens de l'émulsion 13

8.3.1 Méthodes par dilution 14

8.3.2 Méthode par coloration 14

8.3.3 Méthode de mesure de la conductivité électrique..... 14
8.4. Contrôle de stabilité..... 14
8.5. Détermination de pH 14
8.6. Contrôle de la pureté microbiologique 15
8.7. Qualité de l'émulsification 15
8.9 Analyse rhéologique:..... 15
9. Emulsions multiples: 16
9.1. Introduction: 16
9.2. Définition des émulsions multiples: 16
9.3. Constituants des émulsions multiples..... 17
9.3.1. Phase organique..... 17
9.3.2. Tensioactif 18
9.3.3. Phase aqueuse..... 18
9.3.4. Additif de stabilisation 18
9.4. Méthodes de préparation des émulsions multiples 19
9.4.1. Procédé classique en deux étapes (two-step)..... 19
9.4.2. Procédé par inversion catastrophique :..... 20
9.4.3. Procédé par membrane: 20
9.4.4. Emulsification en une étape "one step" 21
9.5. Caractérisation des émulsions multiples..... 21
9.5.1. Analyse microscopique 21
9.5.2. Détermination du sens de l'émulsion: 22
9.5.3. Test de stabilité à différente température de stockage :..... 22
9.5.4. Analyse granulométrique : 22
9.5.5. Analyse rhéologique..... 22
9.5.6. Dosage d'un traceur ou d'une substance active..... 22
9.6. Stabilité des émulsions multiples 23
9.6.1. Les propriétés de l'émulsion primaire..... 24
9.6.2. Effet d'électrolyte sur le film intérieur..... 24
9.6.3. Effet de la pression osmotique sur la déstabilisation..... 24
9.6.4. Propriétés des membranes de l'émulsion multiple:..... 24

9 .7. Application des émulsions multiples: 25
10. Conclusion: 26

Chapitre III: Stabilités des émulsions par biopolymères

1. Introduction 27
2. Définition des biopolymères 27
3. les biopolymères étudiées 27
3.1. Les polysaccharides 28
3.1.1. Les substances de pectine 28
3.1.2. Les substance de la gomme xanthane 29
3.2. Les protéines 30
3.2. 1. Définitions 30
3.2.2. Les caséinates de sodium 32
4. Stabilité des émulsions par les biopolymères 33
4.1. Émulsion multiple stabilisée par des protéines : 33
4.2. Les émulsions multiples stabilisées par les Hydrocolloïdes 34
4.3. Émulsion multiple stabilisée par des hybrides de protéines et d'hydrocolloïdes 34
4.3.1. Les solutions mixtes protéines – polysaccharides 34
4.3.1.1. Comportement et structure des mélanges protéines – polysaccharides 35
4.3.1.1.1. Nature des interactions dans les systèmes protéines - polysaccharides 35
4.3.1.1.2. Mécanismes 35
4.3.1.1.2.1 Co-solubilité 36
4.3.1.1.2.2 Séparation de phase ségrégative 36
4.3.1.1.2.3. Co-agrégation 37
4.3.2. Facteurs influençant les interactions protéines-polysaccharides 37
4.3.3. Le système caséinate de sodium –pectine 38
4.3.4. Le système caséinate de sodium-xanthan 39
5. Conclusion: 40

Chapitre III: partie expérimentales

1. Introduction 41

2. Matériels et produits utilisés :..... 41

2.1. Matériels utilisés: 41

2.2. Produits utilisés: 42

3. Etude physico-chimique des mélanges CN-Pectine : 43

3.1. Préparation des solutions en biopolymères : 44

3.2. Mesure de la viscosité des mélanges CN-Pectine: 44

3.2. Mesure des conductivités électriques : 45

3.3. Mesure de la tension de surface : 47

4. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le mélange CN-pectine: 50

4.1. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le procédé indirect : 50

4.1.1. Première étape: formulation des émulsions primaires de type E/H:..... 50

4.1.2. Deuxième étape: formulation des émulsions multiples de type E/H/E: 53

4.1.2.1. Détermination des paramètres de formulation:..... 53

4.1.2.1.1. formulation à vitesse constante: 53

4.1.2.1.2. Variation de la vitesse d'agitation: 57

4.1.2.1.3. Effet de la concentration en pectine sur la stabilité des émulsions doubles E/H/E: 60

4.2. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le procédé direct : 64

5. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le mélange CN-GX: 68

5.1. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le procédé indirect : 68

5.1.1. Formulation des émulsions multiples E/H/E à pH naturel: 68

5.1.2. Formulation des émulsions multiples E/H/E à pH = 5: 74

5.2. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le procédé direct : 79

5.2.1.Procédés de formulation: 79

5.2.2 Caractérisations physico-chimiques des émulsions multiples E/H/E: 80

5.2.3. Conclusion: 84

Conclusion Générale 85

Liste des figures

Chapitre I: Emulsions simples et multiples chapitre

Figure I.01:Schéma simplifié d'une molécule de tensioactif SDS [3]. 4
Figure I.02: les deux types d'émulsion simple[11]. 6
Figure I.03: Interaction de déplétion [25] 9
Figure I.04: Mécanismes de déstabilisation d'émulsions [23] 10
Figure I.05: Emulsions multiples : A –[W/O/W ou E/H/E], B –[O/W/O ou H/E/H] [34] 17
Figure I.6: Préparation d'émulsion multiple (W/O/W) en deux étapes[42] 19

Chapitre II: Stabilités des émulsions par biopolymères

Figure II.01: Structure primaire d'un penta-saccharide de gommexanthane[58]. 29

Chapitre III: Etude Expérimentale

Figure III.01 : Effet des concentrations en CN et en pectine sur la viscosité de leur mélange 45
Figure III.02: Variation de la conductivité en fonction de la concentration en CN (pH 5) 46
Figure III.03 : Conductivité de CN en présence de pectine 46
Figure III.04: tension de surface de CN. 47
Figure III.05 : tension de surface de CN. 48
Figure III.06: tension superficielle du mélange CN /Pectine 48
Figure III.07: aspect de quelques solutions (CN / pectine) après 3 jours: 49
A = 2/1 ; B = 1/1,5 ; C = 0,5/0,5 ; D = 0,2/0,1 49
Figure III.08 : vues microscopique des deux émulsions primaires. 51
Figure III.09: Profil de variation de viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions simples. 52
Figure III.10: Vues microscopiques des émulsions E/H/E préparé par CN-pectine 55
Figure III.11: phénomène de déplétion – floculation des émulsions multiple E/H/E préparées par CN/Pectine (2/1). 56
Figure III.12: l'aspect des émulsions multiples après trois jours. 57
Figure III.12: Aspect des émulsions multiples [formulation N° 1, 2 et 3] à différente vitesse d'agitation (12000, 14000 et 16000). 58
Figure III.13 : aspect des émulsions multiples [formulation N° 4, 5 et 6] à déférente vitesse d'agitation (12000, 14000 et 16000). 59
Figure III.14: effet de la vitesse d'agitation sur la taille des gouttelettes. 59

Figure III.15 : Aspect des émulsions multiples E/H/E préparé par le mélange CN – pectine (concentration de CN fixé) après 10 jours de stockage à T°=40°C. 62
Figure III.16: Vues microscopiques des émulsions E/H/E préparé par le mélange CN – pectine 63
Figure III.17: Profil de variation de LA viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions multiples préparé par le mélange (CN – pectine). 64
Figure III.18: Vues microscopiques des émulsions double E/H/E préparées par un mélange de CN – pectine (procédés direct). 66
Figure III.19: Aspect des émulsions multiples préparées par un mélange de CN – pectine (procédés direct) après une semaine de stockage. a: T° = 25°C ; b: T°= 40°C 67
Figure III.20: Profil de variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement des émulsions multiples préparées par un mélange de CN – pectine (procédés direct) 67
Figure III.21: Aspect des émulsions multiples préparées par CN-XN après formulation. 70
Figure III.22: Vues microscopiques des émulsions E/H/E préparé par CN-GX à pH naturel. 72
Figure III.23 : Aspect des émulsions multiples E/H/E préparé par CN- GX à pH naturel après 20 jours de stockage à T°=40°C. 73
Figure III.24 : Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparé par CN –GX à pH naturel. 73
Figure III.25 : Aspect des émulsions multiplesE/H/E préparées par CN – GX à PH 5 après 20 jours de stockage à T°=40°C. 77
Figure III.26:Profil de variation de viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions multiples préparé par CN – GX à pH 5 77
Figure III.27: Vues microscopiques des émulsions E/H/E préparé par CN-xanthane à PH 5 78
Figure III.28: schéma simplifie de phénomène de stabilisation des 79
émulsions multiples E/H/E par 79
CN-XG 79
Figure III.29: Aspect des émulsions multiples directement après formulation. [CN-GX: 4/1] 80
Figure III.30: Vues microscopiques des émulsions E/H/E préparées par CN-XG[4 :1] en fonction de pH. 82
Figure III.31: l'aspect des émulsions multiples après une semaine de stockage. [CN-GX: 4/1] A:T°= 25°C , B:T° =40°C 82
Figure III.32: Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions multiples préparées par CN-GX (4/1) en fonction de pH. 83

Liste des tableaux

Chapitre III: Etude Expérimentale

Tableau III.01: les déférentes produits utilisés dans l'étude expérimentale 42
Tableau III.02: les différents constituants des deux émulsions primaires formulées.....50
Tableau III.03: résultats de centrifugation des émulsions E/H 52
Tableau III.04: composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées par CN-pectine.....54
Tableau III.05: composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées par CN-pectine (pH=5) ...54
Tableau III.06 : composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées sous différente vitesse d'agitation.....57
Tableau III.07 : composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées en concentration de CN fixé.....60
Tableau III.08: stabilité à différente vitesse de centrifugation.....61
Tableau III.09: Stabilité des émulsions E/H/E à différentes températures de stockage.....62
Tableau III.10: composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées par le mélange CN-pectine (procédé direct).....65
Tableau III.11 : Composition des émulsions multiples E/H/E préparées par CN-GX à pH naturel. 69
Tableau III.12: résultats des tests de centrifugation des émulsions E/H/E préparé par CN-GX à pH naturel. .71
Tableau III.13 : Stabilité à différente température des émulsions E/H/E préparées par CN-GX à pH naturel pendant 20 jours. 72
Tableau III.14: La composition des émulsions multiples E/H/E CN-GX préparés à PH=5. 75
Tableau III.15 : résultats de test de centrifugation des émulsions E/H/E préparées par CN-GX à pH 5.....76
Tableau III.16 : Stabilité à différentes température des émulsions E/H/E préparées par CN-GX à pH 5.....76
Tableau III.17 : Valeurs des conductivités électriques de l'émulsion multiple CN-GX: 4/1 en fonction de pH…. 80
Tableau III.18: résultats des test de centrifugation des émulsions E/H/E préparées par CN-XG[4/1] en fonction de pH. 81

Liste des abréviations

SDS: dodécyl sulfate de sodium.

HLB : Balance hydrophile lipophile.

CMC : Concentration micellaire critique.

H/E : Emulsion huile dans eau.

O/W : Emulsion huile dans eau.

E/H : Emulsion eau dans huile.

W/O : Emulsion eau dans huile.

E/H/E : Emulsion eau dans huile dans eau.

H/E/H : Emulsion huile dans eau dans huile.

DLVO : Derjaguin, Landau,Verway, Overbeek.

W/O/W : Emulsion eau dans huile dans eau.

pH : Potentiel d'hydrogène.

HM : Hautement méthylée.

LM : Faiblement méthylée.

DE : Degré d'estérification.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

HPC : Hydroxypropylique cellulose

HPMC : Cellulose de hydroxypropylmethyl.

HEC : Hydroxyéthylique cellulose.

CN : Caseinate de sodium.

XG : Gomme xanthane.

P: Pectine

DE : Degré d'estérification.

QSP: quantité suffisante pour

Liste des symboles

γ: Tension superficielle (dyne/cm);

∂G : variation de l'énergie libre (dyne.cm);

∂A : Accroissement de la surface (cm^2);

Ψ_{vdw} : Potentiel d'interaction attractive de Van der Waals;

Ψ_{el} : Potentiel d'interaction répulsive électrostatique;

Ψ_T : Potentiel global;

P : Pression (Pa);

γ_{int} : Tension interfaciale (mN/m);

R : Rayon de goutte(m).

Introduction générale

Les émulsions multiples sont des systèmes complexes qui suscitent aujourd'hui un intérêt considérable dans de nombreux secteurs industriels. Grâce à leur structure compartimentée, ces matériaux isolent du milieu continu des réservoirs internes aqueux, pouvant contenir, par exemple, un principe actif hydrophile, par l'intermédiaire d'une matrice huileuse. Cependant, les émulsions doubles sont des systèmes métastables : les processus impliqués dans le vieillissement du matériau sont rapides et, actuellement, aucune application industrielle utilisant cette technologie n'a pu être correctement développée.

Les émulsions doubles sont instables du point de vue thermodynamique, cependant elles peuvent être stables du point de vue cinétique sur une importante période, ce qui détermine leur durée de vie. Cette stabilité peut être réalisée, entre autre, par des molécules de tensioactifs, des particules colloïdales ou bien par des polymères naturels (biopolymères) tels que les protéines et les polysaccharides.

Les protéines de lait sont largement utilisées pour leurs bonnes propriétés émulsifiantes. Elles sont également des molécules polymériques et se comportent en tant que tels dans des systèmes alimentaires, particulièrement une fois mélangées à des polysaccharides. Ces derniers permettent d'occuper un volume important dans la solution en empêchant les colloïdes de se floculer et de ce fait, ils sont considérés comme des agents épaississants et stabilisants.

L'objectif de ce travail est l'étude de la stabilité des émulsions multiples formulées à bases de mélanges de biopolymères (protéines/polysaccharides). Les biopolymères considérées sont la pectine, la gomme xanthane et le caséinate de sodium. L'originalité apportée par cette étude est la formulation des émulsions doubles de type E/H/E.

Vu la complexité de maitrise de tels systèmes, une recherche bibliographique a été soigneusement effectuée, cette dernière nous a permis de sélectionner les données nécessaires sur le domaine de formulation.

Par voie de conséquence, la première partie du manuscrit est consacrée à une synthèse bibliographique. Celle-ci regroupera en deux chapitres les points suivants :

- Emulsions simples et multiples;
- Stabilités des émulsions par biopolymères.

La deuxième partie qui sera consacré à l'aspect pratique de ce travail regroupe les parties suivantes:

- Etude de l'influence de pectine sur les solutions de CN;
- Préparation des émulsions doubles E/H/E par le mélange CN-pectine ;
- Etude de l'influence du pH sur la stabilité des émulsions doubles E/H/E préparées par le mélange CN-XG;

Ce travail est achevé par une conclusion générale.

1. Introduction :

Les émulsions font partie de notre vie de tous les jours, soit sous la forme des produits consommables dans le domaine alimentaire, de la santé, de l'hygiène, les cosmétiques, de l'utilitaire (peintures, détergents, bitumes), etc…, soit comme un intermédiaire pour l'obtention d'autres produits tels que les polymères, pour le transport d'hydrocarbures lourds pour la production d'énergie, les fluides d'usinage pour l'industrie métallurgique, l'extraction des principes actifs de plantes, entre autres.

Le plus paradoxal est que la fabrication des émulsions reste relativement empirique. En effet, il s'agit d'un des systèmes complexes le moins connus, ce qui est probablement dû à l'infinité de mécanismes qui interviennent pour leur production et leur conservation **[1].**

Dans ce chapitre, nous présenterons les principales caractéristiques d'une émulsion (simple et multiple), et les processus qui interviennent dans sa formation, sa conservation et sa destruction.

2. Définition d'émulsion:

Le terme émulsion désigne un système hétérogène comprenant au moins un liquide immiscible dispersé dans un autre sous la forme de gouttelettes dont les diamètres sont en général supérieurs à 0,1 μm **[1].** Ces systèmes sont caractérisés par la présence d'interface **[2].** Ces interfaces entre les deux liquides sont généralement occupées par des molécules amphiphiles, qui sont on en équilibre avec les phases dispersées et continues (On appelle phase dispersée le liquide qui forme les gouttes, et la phase continue celle qui les disperses.), et s'adsorbent spontanément aux interfaces **[3]**. Les deux liquides ou phases formant l'émulsion sont appelées symboliquement eau (**E**) et huile (**H**).

3. les tensionactifs

3.1. Définition

Les tensioactifs sont des molécules organiques amphiphile, comportant deux parties bien distinctes : une tête polaire hydrophile, qui présente une forte affinité pour les

molécules d'eau et une queue apolaire hydrophobe (lipophile), que les molécules d'eau ont plutôt tendance à fuir (Figure I.01).La tête hydrophile est généralement constituée d'un ion ou d'un groupement possédant un moment dipolaire et la queue hydrophobe d'une ou de plusieurs chaînes aliphatiques. Lorsqu'elles se trouvent à l'interface eau-air, les molécules amphiphiles ont tendance à diriger leur tête hydrophile vers l'eau et leur queue hydrophobe vers l'air, ce qui a pour conséquence de modifier l'énergie de l'interface **[3].**

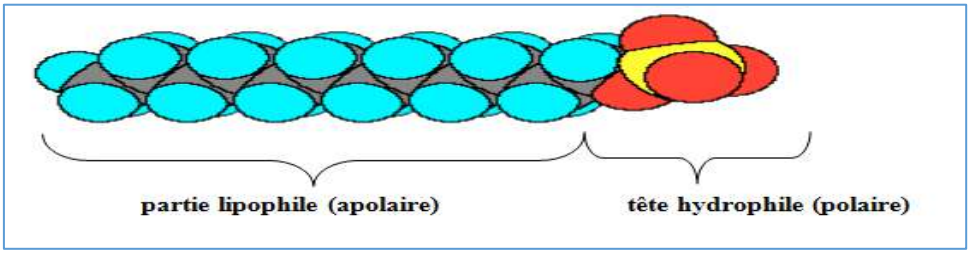


Figure I.01:Schéma simplifié d'une molécule de tensioactif SDS [3].

3.2. Classification des tensioactifs

Il existe différentes classifications possibles des tensioactifs. Ils peuvent être classés en fonction:

- de la longueur de la partie lipophile qui permet de classer les tensioactifs en agents mouillants (C8-C10), détergents (C12-C16), émulsionnants ou adoucissants (C18-C22)
- de leur origine, naturelle ou synthétique.
- de la nature de leur tête polaire (non ionique, anionique, cationique ou amphotère) :

C.1. Les tensionactifs anioniques: comportent un groupement ionique chargé négativement en solution aqueuse : carboxylate, sulfate, sulfonâtes ou phosphate. Ce sont les agents tensioactifs les plus utilisés industriellement **[4].**

*C.2. Les tensionactifs cationiques***:** comportent un groupement ionique chargé positivement en solution aqueuse, ce sont généralement des sels d'ammonium quaternaire. Les tensioactifs cationiques forment des complexes insolubles dans l'eau avec les anioniques **[5].**

*C.3. Les tensionactifs non ionique***:** Ces surfactifs sont caractérisés par une tête hydrophile non chargée et sont compatibles avec n'importe quel autre type de surfactif. Ce

sont donc d'excellents candidats pour les formulations complexes. Les surfactifs non ioniques sont émulsionnants, solubilisants et mouillants **[6].**

C.4. les tensionactifs amphotères **(**zwittérioniques) : comportent deux groupements ioniques, l'un cationique et l'autre anionique, qui se neutralisent au pH isoélectrique**.** Ils sont par conséquent parfois classifiés comme non ioniques **[7].**

3.3. Propriétés des tensioactifs

Les propriétés essentielles des composés tensioactifs qui permettent de comprendre les phénomènes observés et qui déterminent leurs domaines d'application sont :

- l'adsorption aux interfaces qui provoque une diminution des tensions interfaciales. Cette propriété est responsable des phénomènes de mouillage, de dispersion, de détergence et d'émulsification ;
- l'autoagrégation en solution ou micellisation qui gouverne les propriétés de solubilisation et d'émulsification**.[8]**

3.4.Critère de Choix des tensioactifs :

Le choix du tensioactif doit prendre en compte le type d'émulsion à préparer et la nature des phases. A ce jour, il n'existe pas de méthode absolue pour déterminer « le » tensioactif pour une émulsion donnée. Nous allons donc présenté les deux principales théories qui permettent de sélectionner le(s) tensioactifs(s) pour une application précise.

3.4.1. Règle de Bancroft:

La règle de Bancroft (1913) relie la solubilité du tensioactif au sens de l'émulsion. Ainsi, l'émulsion formée a pour milieu continu la phase dans laquelle le tensioactif est le plus soluble. Par exemple, si le tensioactif est hydrophile, l'émulsion est de type huile-dans-eau et inversement une émulsion eau-dans-huile fera appel à un tensioactif à caractère lipophile **[9].**

3.4.2. Balance Hydrophile-Lipophile (HLB):

La notion de HLB, de l'anglais hydrophilic-lipophilic balance, a été introduite par Griffin en 1949 et découle d'un souci de classement des tensioactifs, non par rapport à leur

structure mais par rapport à leur utilisation. C'est la méthode la plus utilisée pour caractériser les tensioactifs et exprimer leur hydrophile ou lipophile.

La méthode consiste à attribuer à chaque tensioactif une valeur numérique qui caractérise cette balance entre les propriétés hydrophiles et lipophiles. Le choix de l'échelle fut arbitraire et compris entre 1 et 20. Les plus lipophiles sont en bas de l'échelle et les plus hydrophiles en haut, avec un point « neutre » qui se situe autour de 10 **[10].**

4. Les types des émulsions :

Les émulsions sont généralement constituées d'une phase aqueuse E, et d'une phase huileuse H, si la phase dispersée est la phase huileuse, l'émulsion est dite directe, de type huile dans eau et notée H/E (O/W), tandis que si la phase huileuse est la phase continue (ou phase externe) l'émulsion est inverse de type eau dans huile E/H (W/O figure I.02) [**11**].

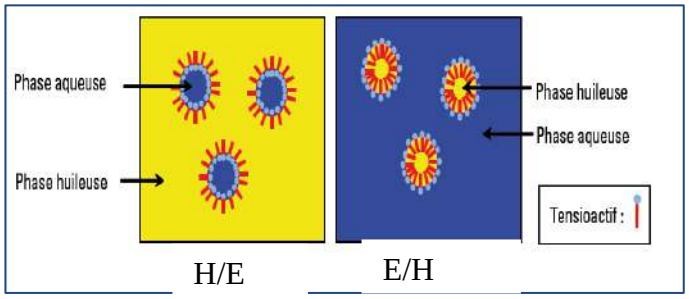


Figure I.02: les deux types d'émulsion simple[11].

On trouve aussi des morphologies plus complexes, comme le cas des émulsions doubles ou multiples. La phase dispersée est alors elle-même une émulsion. Par exemple une émulsion de types E/H/E correspond à la dispersion de fines gouttelettes d'eau dans des gouttes d'huiles, elles-mêmes dispersées dans une phase continue. De manière analogue, il est possible d'avoir des émulsions d'huile dans eau dans huile H/E/H **[12].**

Les émulsions sont aussi classer selon la fraction volumique de phase dispersée(ϕ). En particulier, les émulsions sont considérées comme concentrées lorsque ϕ est supérieure à 0.74, cette valeur correspond à la fraction volumique de l'empilement compacte (hexagonal ou cubique à faces centrées) de sphères indéformables de même taille. Ces émulsions peuvent atteindre des ϕ de 0.99,

c'est pourquoi elles sont dénommées émulsions très concentrées. En plus, les gouttelettes dans la phase continue ne sont pas homogènes **[13,14].**

5. Préparation d'émulsion simple :

Les émulsions sont préparées par mélange intime des deux phases dans lesquelles on a dissout au préalable tous les constituants, parmi eux les émulsionnants **[15].**

L'introduction des émulsionnant peut se faire de quatre façons différentes:

- On peut introduire les émulsionnants dans la phase aqueuse.
- On peut, inversement introduire les émulsionnants dans la phase huileuse.
- On peut, aussi, introduire chaque émulsionnant dans son solvant préférentiel (l'émulsionnant hydrophile dans l'eau, et l'émulsionnant lipophile dans huile).
- On peut, enfin, préparer l'émulsionnant« in situ», en introduisant, par exemple un acide gras dans l'huile, et une base dans l'eau **[16].**

L'ordre d'addition des phases peut varier: dans certains cas, c'est la phase dispersée qui est ajoutée progressivement sous agitation à la phase dispersante, dans l'autre cas c'est l'inverse ou bien ajouter aux émulsionnant par portions et alternativement les deux phases à incorporer [**17].**

Comme les deux liquides mis en présence ne sont pas miscibles, pour mélanger les phases, avec une température spécifique nous devons ajouter de l`énergie. Celle-ci sert à créer une très grande interface entre les deux phases **[15]**.

Bien qu'une agitation manuelle suffise parfois comme énergie mécanique, un moyen d'agitation électrique est le plus souvent indispensable pour l'obtention d'émulsions ayant une durée de vie importante. Différents moyens mécaniques de dispersion sont utilisables : mélangeur à hélice, mélangeur statique, broyeur colloïdal, ultrasons ou homogénéisateur à haute pression . Le type de système de dispersion est à choisir en fonction de la finesse désirée pour l'émulsion **[15].**

6. Potentiels d'interaction et stabilité des émulsions:

L'équilibre thermodynamique d'un système composé de deux phases non miscibles correspond à la séparation macroscopique de phase, état dans lequel la

surface de contact est minimale par les interactions attractives**.** La création d'une barrière énergétique sous forme d'un potentiel d'interaction répulsif permet d'obtenir des émulsions métastables ou cinétiquement stables. La stabilité d'un système dispersé est liée à la compétition entre les interactions attractives et répulsives **[18].**

6.1. Attraction de van der Waals:

Les interactions attractives de van der Waals regroupent toutes les interactions moléculaires d'origine dipolaire :

- les interactions de Keesom qui s'exercent entre dipôles permanents (molécules polaires) et qui dépendent de l'orientation des dipôles,
- les interactions de Debye qui s'exercent entre le dipôle induit d'une molécule non polaire et un dipôle permanent,
- les interactions de London qui s'exercent entre dipôles induits et qui sont toujours présentes, quelle que soit la nature chimique des espèces **[19]**.

6.2. Interactions de déplétion

L'interaction attractive de déplétion est induite par la présence en très grand nombre, dans la suspension de gouttes de rayon *R*, d'une autre population de particules de rayon *a* (des micelles de tensioactifs par exemple). Les particules de rayon *a* (*R* >>*a*) peuvent s'apparenter à la constitution d'un gaz et exercent, en conséquence, une pression osmotique sur les gouttes de rayon *R*. Tant que les gouttes sont suffisamment éloignées les unes des autres, la pression est isotrope. Si celles-ci s'approchent d'une distance inférieure à 2*a*, il se crée une zone dite de volume exclu, dans laquelle les petites particules ne peuvent plus pénétrer (Figure I.03). La pression osmotique devient anisotrope et conduit à l'agrégation des gouttes **[20].**

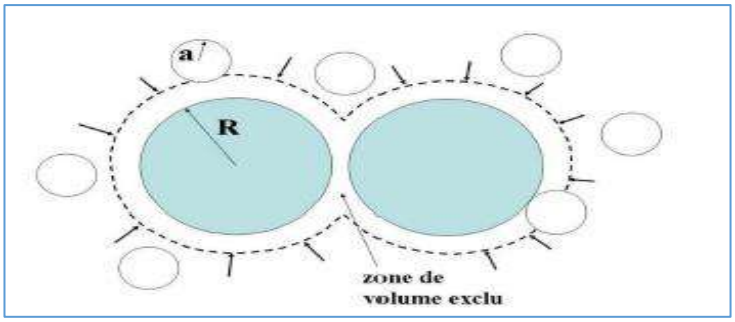


Figure I.03: Interaction de déplétion [25]

6.3. Stabilisation électrostatique

Des répulsions électrostatiques apparaissent lorsque, en solution aqueuse, les gouttes sont stabilisées par un tensioactif ionique. Les gouttes sont alors chargées en raison de l'ionisation partielle des fonctions polaires des agents de surface. La présence de cette charge de surface crée une organisation spatiale des ions (présents dans la phase continue) au voisinage de la surface. Les ions de même signe que la surface (Co-ions) sont écartés tandis que les ions de signe contraire (contre-ions) sont attirés [**20**].

6.4. Stabilisation stérique:

Les polymères présents à l'interface stabilisent des systèmes colloïdaux en développant des interactions stériques. Ces forces répulsives sont d'origine entropique et dépendent du degré de couverture de la surface et des caractéristiques de la phase continue. Pour un taux de couverture assez faible, les chaînes polymériques sont isolées les unes des autres et prennent une conformation de type « champignon ». Lorsque la densité en chaînes est élevées, les interactions latérales modifient l'extension des chaînes, elles s'interpénètrent et prennent une conformation de type «brosse ». L'état d'étirement des chaînes a une influence sur l'amplitude et la portée des répulsions stériques (portée plus longue dans le cas de chaînes étirées que dans le cas de polymères en pelote **[21].**

La nature de la phase continue influence également les interactions stériques répulsives : lorsque la phase continue est un « bon solvant » des polymères, les contacts polymère-solvant sont favorables, deux gouttelettes entourées de polymère préfèrent baigner dans la phase continue plutôt que de floculer. A

l'inverse, lorsque la phase continue est un « mauvais solvant » des polymères, les répulsions stériques sont minimisées, les polymères s'interpénètrent et la floculation des gouttelettes est favorisée **[20].**

7. Mécanismes d'évolution ou de destruction des émulsions:

Les émulsions sont des systèmes thermodynamiquement instables. Leur dégradation totale, c'est-à-dire la séparation de phase complète, peut survenir très vite après leur préparation ou bien durer un certain temps. Cette déstabilisation est à l'origine de l'évolution de leur structure microscopique, et dépend fortement de la cinétique d'évolution de la structure, et donc des mécanismes d'évolution. On reconnait plusieurs types de mécanismes, réversibles et irréversibles, ils peuvent être regroupés ainsi : floculation, crémage, sédimentation, coalescence et mûrissement d'Ostwald (figure I.04) **[22].**

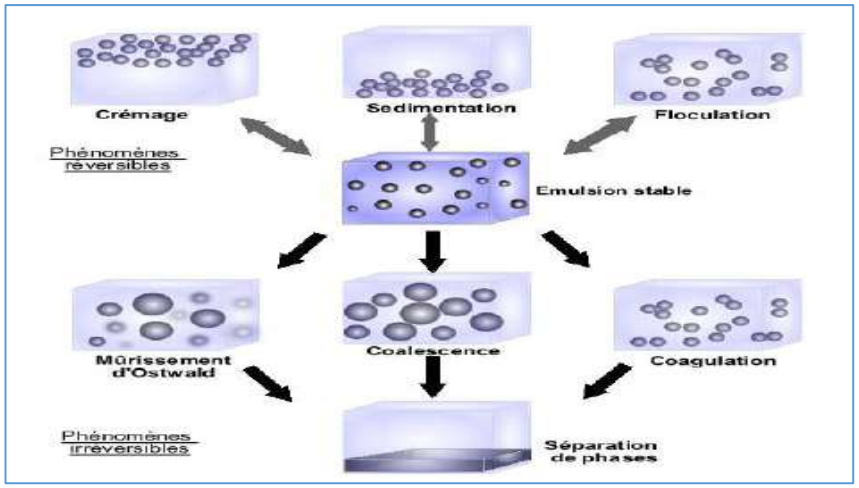


Figure I.04: Mécanismes de déstabilisation d'émulsions [23]

7.1. Le crémage ou sédimentation:

Le crémage est un mécanisme de déstabilisation selon lequel les gouttelettes d'huile remontent en surface dû à leur différence de densité avec la phase continue **[24].**

La sédimentation est le phénomène inverse, observable par exemple dans l'émulsion eau dans huile. L'eau ayant une densité plus importante, les gouttelettes vont migrer vers le bas de la solution. Ce phénomène, comme peut

être minimisé en réduisant la différence de densité entre les deux phases ou en augmentant la viscosité du milieu car ceci diminue le mouvement des gouttelettes à travers la phase continue**.** Ces processus sont réversibles, une simple agitation permet de distribué les gouttelettes dans la phase continue **[20].**

7.2. La floculation :

La floculation est un phénomène réversible qui a pour origine une adhésivité des gouttes, résultat d'une compétition entre l'agitation thermique et les forces de van der Waals. Ce phénomène consiste en un rapprochement des gouttes qui, initialement éloignées les unes des autres, viennent s'agréger **[25].**

La floculation est fortement influencée par la fraction de la phase dispersée, la viscosité de la phase continue et l'interaction entre les gouttelettes. Elle est aussi influencée par la taille des gouttelettes, la distribution de leur taille et l'épaisseur de la couche d'émulsifiant adsorbée. Lorsque des protéines sont utilisées comme émulsifiants la floculation peut être causée par divers facteurs :

- Une diminution de la densité de la charge nette de la protéine à la surface des gouttelettes.par exemple lorsque le pH se rapproche du point iso-éclectique.
- Une augmentation de la force ionique. Les ions agissent comme écran et diminuent la force de la répulsion entre les gouttelettes recouvertes de protéines.
- La présence de substances tel l'éthanol dans la phase continue engendrant l'agrégation des protéines. Les gouttelettes deviennent donc attirées les unes vers les autres.
- L'émulsifiant en concentration insuffisante peut s'adsorber sur plus d'une gouttelette, formant ainsi des ponts entre elles.

La floculation des gouttelettes d'huile peut être accompagnée par une expulsion de la phase aqueuse. Cette floculation réversible est causée par la présence de substances non adsorbées sur les gouttelettes.Ce type de floculation est souvent observé à basse concentration en polysaccharide **[26].**

La floculation des émulsions peut se produire selon deux mécanismes : la formation de ponts entre les gouttelettes par l'émulsifiant ou la formation de canaux entre les gouttelettes afin d'expulser un polymère incompatible **[23].**

7.3. Coagulation :

Lorsque le potentiel d'interaction dans un système devient assez important pour dépasser la barrière énergétique décrit dans la théorie DLVO. Les gouttes forment des agrégats où les distances internes sont de l'ordre de dimensions atomiques. Cependant, la coagulation dans une émulsion peu concentrée, est divisée en deux processus fondamentaux : le rapprochement de particules et l'éventuel contact et adhésion entre elles **[27].**

7.4. Coalescence :

La coalescence est un mécanisme qui consiste en la fusion irréversible de deux gouttes adjacentes de phase dispersée. Elle peut mener à la destruction de l'émulsion, et donc à la séparation de deux phases non miscibles. A l'échelle de deux gouttes, ce phénomène se décompose en trois étapes :

- les deux interfaces couvertes de tensioactifs se mettent au contact l'une avec l'autre et forment un film plat, par drainage du liquide séparant les deux phases, un trou se forme entre les gouttes, le diamètre du trou croît jusqu'à la fusion complète des deux gouttes **[28].**

La coalescence est généralement influencée par la fraction volumique de la phase dispersée, la viscosité et l'épaisseur de la couche d'émulsifiant adsorbée et la cristallisation de la matière grasse. Elle est aussi influencée par la viscosité de la phase continue et par les interactions électrostatiques et macromoléculaires entre les gouttelettes. Afin d'éviter la coalescence, les forces de répulsions résultant des charges résiduelles sur les gouttelettes doivent être supérieures aux forces attractives de van der Waals. La présence de protéines sur les gouttelettes permet de contrôler ce type d'instabilité. Dans certains cas, 1'émulsifiant forme des cristaux liquides qui préviennent la coalescence en éloignant les gouttelettes d'huile les unes des autres **[26].**

8. Examen de la nature des émulsions

8.1. Examen macroscopique:

Ce test est basé sur les critères suivants :

- Aspect : il dépend de la nature des phases constituantes, il peut être brillant, satiné ou mat ou bien transparent, translucide ou opaque.
- Consistance : elle revêt différents qualitatifs, il est possible par exemple de décrire une rigidité compacte ou filante ou une gélification, ferme ou tremblante.
- Homogénéité : elle est primordiale et doit être vérifié au niveau de l'aspect qui est lisse ou granuleux et de la couleur.

8.1.1. Critère olfactif

Il faut détecter la présence ou l'absence de particule étrangère, et l'odeur typique (principe actif, excipient,..).

8.1.2. Critère tactile

Après étalement sur le revêt de la main, si la préparation n'est pas caustique, il faut préciser le toucher qui peut être gras, évanescent, collant, granuleux, lisse ou rugueux **[29].**

8.2. Examen microscopique

La microscopie optique est une technique très utile pour l'étude des émulsions. Il constitue un excellent moyen pour suivre la stabilité de ces systèmes lors du vieillissement. La microscopie optique est une méthode d'analyse usuelle pour la multiplicité des systèmes, cette méthode permet d'avoir une idée sur la taille des globules aqueux internes souvent de l'ordre du micromètre **[30].**

8.3. Détermination du sens de l'émulsion

Pour lever toute ambiguïté sur le sens d'une émulsion, il convient de réaliser une des méthodes proposées:

8.3.1 Méthodes par dilution

Elle consiste à faire diluer un ou deux gouttes d'émulsion dans l'eau, s'il y'a formation d'un trouble, l'émulsion est de type H/E, si no elle est E/H.

8.3.2 Méthode par coloration

On ajoute à l'émulsion quelque goutte d'un colorant soluble dans l'une des phases est insoluble dans l'autre. Si l'ensemble de la préparation se colore, la phase dans laquelle le colorant est soluble constitue la phase externe de l'émulsion, si la coloration apparaît de manière discontinue, elle consiste la phase dispersée.

8.3.3 Méthode de mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique d'une émulsion est celle de la phase continue:

- Les émulsions H/E sont conductrices de l'électricité.
- Les émulsions E/H sont isolants électrique **[31].**

8.4. Contrôle de stabilité

La stabilité d'une émulsion peut être appréciée dans une éprouvette graduée, par l'observation, à intervalles réguliers de la sédimentation, du crémage, de la coalescence et de la séparation des phases.

Pour une étude comparative, on obtient des résultats beaucoup plus rapidement en soumet l'émulsion à des vitesses de centrifugation. Le contrôle de la stabilité est complété par des essais de conservation à l'étuve à différentes température **[31].**

8.5. Détermination de pH

La mesure de pH est nécessaire, car il peut avoir une influence sur les propriétés d'émulsion. La détermination ce fait à l'aide des réactifs colorés ou de pH mètre **[32].**

8.6. Contrôle de la pureté microbiologique

Les émulsions, en particulier celles à la phase continue aqueuse, sont considérées comme des préparations présentant un haut risque de contamination microbienne.

Le contrôle microbiologique des émulsions peut être effectué par différentes méthode, entre autre :

- Celle prescrite par le journal officiel pour les produits cosmétique: méthode officielle d'analyses cosmétiques.
- Celle de l'U.S.P (united states pharmacopia) **[31].**

8.7. Qualité de l'émulsification

La qualité de l'emulsification, en relation avec le procédé utilisé, concerne principalement la taille des gouttelettes formées, leur interaction, et éventuellement l'état de dispersion des polymères viscosifiants ou la cristallisation de principes actifs ou d'adjuvants. Pour cela, on utilise plusieurs techniques pour apprécier la qualité de l'émulsification :

- Granulométrie : il existe de nombreuses techniques pour déterminer la granulométrie d'une émulsion, c'est-à-dire déterminer la distribution en taille des gouttelettes formées. Actuellement on utilise des granulomètres à laser.
- Turbidité : l'émulsion est éclairée par un faisceau lumineux monochrome, et l'on mesure l'intensité transmise. Selon les valeurs de la turbidité, on peut évaluer la qualité de l'émulsion **[33].**

8.9 Analyse rhéologique:

La rhéologie des émulsions est une caractéristique très importante qui d'une manière générale, est tributaire des propriétés suivantes:

- la fraction volumique de la phase dispersée**,**
- la nature et la concentration de l'agent émulsifiant**,**
- la taille moyenne des particules et leur distribution granulométrique**,**
- la viscosité de la phase continue et, à un degré moindre, celle de la phase dispersée**,**

- la tension interfaciale eau/huile **[33].**

9. Emulsions multiples:

9.1 Introduction:

Les émulsions multiples, ou les émulsions ayants les structures ternaires, quaternaires, ou plus complexes, ont été étudiées depuis leur première description en 1925**[34].**

Les émulsions multiples constituent des systèmes prometteurs car elles sont considérées comme des réservoirs à membrane liquide. De ce fait, elles semblent offrir d'intéressantes applications grâce à leur possibilité d'encapsuler des substances actives **[35].**

De tels systèmes sont encore peu utilisés du fait d'une stabilité encore difficile à maitriser. Néanmoins dans d'autres domaines, quelques applications existent déjà ou sont prêtes à être exploitées. Tout laisse à penser que les applications seront rapidement de plus en plus nombreuses car des équipes de recherche travaillent sur ce sujet et publient assez largement depuis quelques années.

9.2. Définition des émulsions multiples:

Pour la plupart des auteurs, une émulsion multiple est définie comme une émulsion d'émulsion, c'est-à-dire une émulsion dans laquelle deux types d'émulsion semple coexistent **[36].**

Ceci signifie que, pour une émulsion multiple dite H/E/H, les particules huileuses dispersés dans la phase aqueuse renferment elles-mêmes une ou plusieurs gouttelettes d'eau. Pour une émulsion multiple dite E/H/E, les particules aqueuses dispersées dans la phase huileuse renferment elles-mêmes une ou plusieurs gouttelettes d'huile **[37].**

Une émulsion multiple peut se présenter comme suit (Figure I.05): chaque globule disperse dans une émulsion multiple (H/E/H ou E/H/E) forme une structure vésiculaire avec un seul ou plusieurs compartiments aqueux (ou huileux) séparés de la phase dispersante aqueuse (ou huileuse) par les composants de la couche huileuse (ou aqueuse) **[34].**

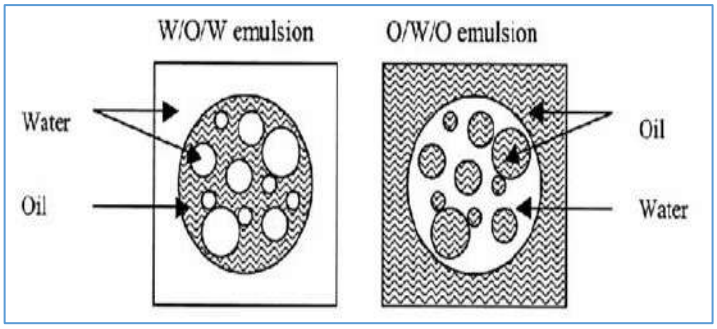


Figure I.05: Emulsions multiples : A –[W/O/W ou E/H/E], B –[O/W/O ou H/E/H] [34]

Souvent le mot 'ordre' est employé pour caractériser de tels systèmes avec une valeur qui représente le nombre d'interfaces présentes dans l'émulsion. Ainsi une émulsion simple est une émulsion de premier ordre car elle ne possède qu'une seule interface et une émulsion multiple est une émulsion de deuxième ordre car elle possède deux interfaces. I1 est possible d'avoir des émulsions de troisième ou quatrième ordre voire plus **[38].**

Une émulsion multiple $H_1/E/H_1$ est dite de deuxième ordre à deux composants, les deux phases aqueuses étant semblables; une émulsion multiple $H_1/E/H_2$ est dite de deuxième ordre à trois composants, les deux phases aqueuses étant différentes. Le terme multiple est souvent désigné pour la vésicule qui renferme les particules dispersées internes. Ces particules dispersées internes sont souvent appelées compartiments (aqueux ou huileux). Cependant il est courant de dire plus simplement phase interne, phase externe, phase intermédiaire, agent de surface primaire et agent de surface secondaire **[38].**

La plupart des émulsions doubles directes sont très polydispersées. La gamme de la taille des gouttelettes peut être tout à fait étendue : la taille des gouttelettes multiples peut être entre 2-5µm et de 15-50µm, contenant respectivement quelques gouttelettes d'eau **[39].**

9.3. Constituants des émulsions multiples

9.3.1 Phase organique

Bien qu'il y ait des phases huileuses plus adaptées que d'autres, tous les constituants des émulsions simples permettent d'obtenir des émulsions multiples.

Les phases huileuses les plus rencontrées sont: les corps gras naturels (glycérides cérites), les hydrocarbures (huiles, cires minérales et oléfines), les esters et les amides.

9.3.2. Tensioactif

Les émulsions multiples étant constituées d'au moins deux liquides non miscibles leur réalisation nécessite la présence d'émulsionnants le plus souvent synthétiques, mais aussi parfois d'origine naturelle. Deux émulsionnants au moins sont utilisés. Ils sont appelés émulsionnants primaire et émulsionnants secondaires.

Pour les émulsions multiples E/H/E : les molécules de l'émulsionnant primaire, à tendance lipophile, s'orientent à l'interface E/H et celles de l'émulsionnant secondaire à tendance hydrophile, à l'interface externe H/E. Ils donnent ainsi si leur taux et leur nature sont bien adaptés à celui de la phase huileuse, deux films mono moléculaires. Les parties apolaires des émulsionnants se trouvent dans l'huile alors que les parties polaires se trouvent dans la phase aqueuse interne et externe**[40].**

9.3.3. Phase aqueuse

Les phases aqueuses à l'intérieur ou à l'extérieur peuvent être identiques mais elles sont, le plus souvent, différentes. La phase aqueuse interne contient les matières que l'on désire diffuser à l'aide de l'émulsion multiple (principe actif, variateur de pH, traceur..), à très faibles concentrations, ils jouent le rôle de marqueurs, permettant ainsi une quantification de la stabilité du système. Ce sont par exemple des électrolytes (NaCl), des sucres (glucose). A concentration élevée, ils ont pour rôle d'augmenter la stabilité. Ce sont notamment des polymères hydrophiles incorporés dans les phases aqueuses externes **[40].**

9.3.4. Additif de stabilisation

Pour stabiliser les émulsions multiples, il faut utiliser des additifs appropriés à chaque type d'émulsion concernée. En fait, ces additifs sont identiques à ceux

que l'on utilise pour les émulsions du premier ordre: directe ou indirecte, qui ont différents buts, en particulier:

- Celui d'augmenter la viscosité des phases : polymères cellulosiques, vinyliques, siliciques, etc.…
- Celui de régler à sa juste valeur le HLB des agents tensio-actifs, agent alcalins et autres, ajustage du pH, des phases aqueuses internes et externes **[41].**

9.4. Méthodes de préparation des émulsions multiples

9.4.1. Procédé classique en deux étapes (two-step)

C'est le procédé le plus largement utilisé. Ce procédé est effectué à deux étapes:

* La première étape consiste à préparer une émulsion simple.
* Dans la deuxième étape, l'émulsion primaire est dispersée dans une phase externe de l'émulsion multiple (contienne la deuxième surfactant) (Figure I.06) **[42].**

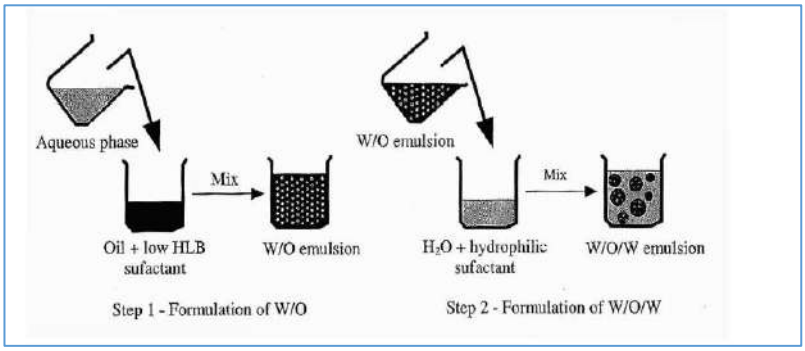


Figure I.06: Préparation d'émulsion multiple (W/O/W) en deux étapes[42].

Dans cette dernière étape, la vitesse de la dispersion est généralement moindre que pour la première étape afin d'éviter la rupture des gouttes de l'émulsion multiple. De plus, la viscosité de l'émulsion primaire peut être importante et l'incorporation de cette émulsion dans la phase aqueuse doit se faire lentement **[30].**

9.4.2. Procédé par inversion catastrophique :

Cette technique consiste à former une émulsion multiple par inversion. Le principe est fondé sur la création d'émulsions multiples lors de la transition entre deux types d'émulsions simples E/H et H/E.

D'après les travaux de Matsumoto (1982), il est possible d'obtenir des émulsions multiples en ajoutant continuellement, sous agitation, une phase aqueuse contenant un surfactif hydrophile dans une phase huileuse contenant un surfactif lipophile. L'émulsion initialement formée est de type E/H puis s'inverse en H/E en passant par une morphologie multiple de type E/H/E.

Sherman et collègues préparent une émulsion simple H/E à laquelle ils ajoutent progressivement de l'eau additionnée d'un agent de surface hydrophile. Lorsque le volume d'eau ajoutée est d'environ 70%, il se forme, si l'apport d'eau est stoppé à ce moment précis, une émulsion multiple H/L/H qui reste stable sans se transformer en émulsion E/H.

Dans des articles récents, il a été montré également que la production d'émulsions multiples lors de l'inversion catastrophique est liée au protocole d'addition de la phase dispersée et à l'agitation **[23].**

La plupart de ces techniques sont difficilement contrôlables et reproductibles en raison de l'instabilité de l'émulsion multiple pendant cette transition entre deux émulsions simples **[43].**

9.4.3. Procédé par membrane:

D'autres méthodes pour préparer les émulsions multiples qui ont été envisagées incluent la technique de membrane. Dans cette méthode L'émulsion primaire E/H ou H/E est préparée par l'énergie d'agitation qui fournit par l'appareil à ultrason, et puis rempli dans la chambre supérieure d'un appareil spécial. La phase externe de l'émulsion multiple finale est injectée dans la chambre inférieure pour assurer un écoulement continu. L'émulsion primaire est injectée sous pression afin de former l'émulsion multiple à travers une membrane dont les pores ont des tailles identiques **[34].**

9.4.4. Emulsification en une étape "one step"

Ce type de méthodologie consiste à fabriquer une émulsion multiple en une seule étape. Il existe aussi différentes techniques dans la littérature.

Vigie (1992) propose un procédé de dispersion de phase lamellaire pour l'élaboration d'une émulsion multiple de type E/H/E. Ce procédé consiste à mélanger deux surfactifs, l'un hydrophile et l'autre lipophile, pour former une phase lamellaire en présence d'eau et d'huile. Ensuite, une quantité d'eau est ajoutée sous agitation pour former l'émulsion multiple. Même si cette technique ne requiert qu'une seule étape, elle comporte plusieurs inconvénients comme le choix restreint de surfactifs, la concentration élevée en surfactif ou encore le faible contenu d'huile (moins de 10% du volume total).

Le même auteur propose un procédé analogue basé sur la fabrication initiale d'une phase huileuse micellaire et isotropique contenant un mélange d'un surfactif hydrophile et d'un surfactif lipophile. La phase aqueuse est introduite, sous agitation modérée, dans cette phase micellaire pour former une émulsion de type E/H/E. Un des inconvénients est le faible pourcentage d'eau pouvant être solubilisé dans les micelles inverses (autour de 10%).

Makino*et al.* (1984) initie une méthodologie qui consiste à agiter une quantité égale d'eau et d'huile, chacune des deux phases contenant un surfactif. La phase aqueuse contient très peu de surfactif hydrophile et la phase huileuse contient une grande quantité de surfactif lipophile. Une agitation importante des deux phases provoque la déformation des gouttes d'huile permettant l'encapsulation de gouttelettes d'eau **[43].**

9.5. Caractérisation des émulsions multiples

Les méthodes de caractérisation les plus éprouvées des émulsions et au cours de leurs vieillissement sont:

9.5.1. Analyse microscopique

L'examen microscopique est le premier essai effectué pour identifier les systèmes lors du vieillissement. La microscopie optique est une méthode d'analyse usuelle pour contrôler la multiplicité des systèmes **[33].**

9.5.2. Détermination du sens de l'émulsion:

Les méthodes utilisées pour la détermination du sens des émulsions multiples sont les mêmes que pour les émulsions simples.

9.5.3. Test de stabilité à différente température de stockage :

La stabilité est étudiée aux conditions suivantes :

- A 40 °C pendant 6 mois.
- A 4 °C pendant deux ans.
- A 25 °C pendant deux ans **[30].**

9.5.4. Analyse granulométrique :

La distribution granulométrique permet une mesure directe de la taille des globules multiples de diamètre supérieure à 0,5 µm, ainsi qu'une évaluation du pourcentage des globules multiples par apport aux globules simples **[30];**

9.5.5. Analyse rhéologique

La puissance de description et le caractère polyvalent des analyses rhéologiques sont presque systématiquement mis à profit pour la caractérisation des émulsions multiples. Leur très grande diversité permet en effet :

- D'étudier l'émulsion multiple en utilisant l'analyse viscoélastique non destructive, qui fournit une signature précise de sa structure en repos.
- De simuler par un cisaillement oscillatoire les conditions de l'application dermique et de caractériser son effet au cours du temps.
- De provoquer un vieillissement accéléré par application de cisaillement intense **[30].**

9.5.6. Dosage d'un traceur ou d'une substance active

Ce dosage fournit la valeur de la fraction massique du composé qui demeure en phase interne à l'instant de mesure, par rapport à la masse théoriquement encapsulée. Ce dosage permet ainsi:

∗ De déterminer le rendement d'encapsulation de la fabrication, mais aussi d'étudier la stabilité des émulsions multiples au cours du temps.

∗ De suivre la cinétique de libération du composé encapsulé, par l'éclatement des globules huileux.

Le dosage du traceur se fait soit directement dans l'émulsion multiple, soit dans la phase aqueuse externe après élimination de l'émulsion primaire.

Le rendement d'encapsulation est donné par la formule suivante :

Rendement = (T0 -T1)/ T0

T0: quantité de traceur initiale placée dans la phase interne.

T1: quantité de traceur présente dans la phase externe après la formulation de l'émulsion multiple **[40].**

9.6. Stabilité des émulsions multiples

Les émulsions multiples, sont thermodynamiquement instables car leur décomposition résulte d'une diminution d'énergie libre. Cependant les mécanismes cinétiques impliqués dans la démixtion des phases peuvent être si lents que l'émulsion peut être considérée comme stable.

La stabilité d'une formulation revêt plusieurs aspects : physiques, chimiques et microbiologiques. Pour être stable physiquement, l'émulsion ne doit pas montrer de démixtion, qui peut être provoquée soit par de la coalescence, soit par un phénomène de crémage/sédimentation… La stabilité physique inclut aussi une invariance du comportement rhéologique et de la granulométrie.

La stabilité chimique repose sur le fait qu'aucun des composants de l'émulsion ne doit participer à une réaction chimique pouvant soit modifier de manière grave la stabilité physique, soit perturber les propriétés applicatives (aspect, couleur, odeur, efficacité).

Enfin, la formulation, pour être stable microbiologiquement, ne doit pas être un milieu de culture pour levures, moisissures, et germes bactériens **[44]**.

Ainsi la formulation des émulsions multiples est influencée par plusieurs facteurs, on peut citer:

9.6.1. Les propriétés de l'émulsion primaire

Puisque l'émulsion primaire est la première étape de la préparation d'une émulsion multiple dans le cas de la formulation en deux étapes. La stabilité de l'émulsion primaire est très importante. La bonne stabilité de l'émulsion primaire mène à la bonne stabilité des émulsions multiples **[45].**

En plus, la teneur de l'émulsion primaires et la concentration de tension actif lipophile peuvent influencer la stabilité des émulsions multiples E/H/E **[45].**

9.6.2. Effet d'électrolyte sur le film intérieur

L'addition d'électrolyte tel que le chlorure de sodium dans l'émulsion multiple de w/o/w résulterait d'émulsion en concurrence du chlorure de sodium et de l'agent tensio-actif pour des molécules d'eau à l'interface intérieure (eau-huile). Ceci aurait comme conséquence une couche intérieure rigide qui est une barrière mécanique plus efficace pour la stabilité de l'émulsion **[46].**

9.6.3. Effet de la pression osmotique sur la déstabilisation

L'introduction d'un soluté dans la phase aqueuse interne crée un déséquilibre osmotique entre les phases aqueuses interne et externe. L'entrée d'eau dans la phase interne provoque le gonflement des gouttes, amaigrissant ainsi le film d'huile qui sépare les gouttes d'eau de l'interface du globule. Lorsque la pression exercée par le gonflement devient trop forte, le film devient instable. Il y a alors une rupture du film permettant la libération des espèces encapsulées dans la phase aqueuse externe. Plus le gradient de concentration entre les phases interne et externe est important, plus les cinétiques de libération sont rapides **[47].**

9.6.4. Propriétés des membranes de l'émulsion multiple:

Les propriétés des membranes sont d'importance primordiale en déterminant la stabilité du système. La plus importante est La viscosité. La stabilité de la membrane vers la rupture et de la fuite des matériaux enfermés, cependant, a diminué avec la viscosité décroissante. L'épaisseur de la phase de membrane et du type d'agent tensio-actif utilisés peut également être importante en déterminant la stabilité **[48].**

9 .7. Application des émulsions multiples:

Les émulsions multiples ont très vite suscité un vif intérêt dans la recherche industrielle. Elles permettent d'encapsuler des substances afin d'obtenir une libération contrôlée de celle-ci. Elles offrent la possibilité d'encapsuler des principes actifs dans des gouttelettes d'émulsion primaire. La phase externe de l'émulsion primaire constitue une barrière à la diffusion du principe actif, ce qui correspond à un système d'encapsulation. Par exemple, pour une émulsion de type E/H/E, l'émulsion interne E/H est un réservoir d'eau où des substances hydrophiles peuvent être dissouts. L'huile agit comme une barrière au transport des molécules hydrophiles**.**

Qu'elles soient du type H/E/H ou du type E/H/E, les émulsions multiples sont intéressantes dans les domaines alimentaire et domestique où elles sont préconisées soit pour obtenir une meilleure palpabilité des produits à tartiner pour masquer un goût , ou pour modifier des propriétés organoleptiques d'aliments , soit pour améliorer la brillance de cires et d'encaustiques **[49].**

Dans le domaine pharmaceutique, les émulsions multiples présentent un réel intérêt puisque, tout comme les liposomes et contrairement aux microparticules, leurs compartiments internes rendent possible le transport de principes actifs [**47**].

Des nouvelles études ont également montré l'intérêt des émulsions multiples E/H/E pour l'administration de médicaments par voie orale exemple l'insuline. Elles ont pour intérêt de protéger le principe actif introduit en phase interne, modifiant ainsi sa libération et favorisant son absorption **[50].**

Ainsi L'équipe de Higashi travaille depuis plusieurs années sur l'incorporation de principe actif anticancéreux dans les émulsions doubles W/O/W **.**puisque la majorité des principes actifs dans le traitement des cancers sont hydrophiles **[34].**

La performance des émulsions doubles a aussi été validée pour l'encapsulation et le relargage contrôlé de protéine, d'antibiotique, de vaccins ou encore pour le traitement de l'overdose [**47].**

Des émulsions E/H/E et E/H contenant du glucose comme molécule hydrophile modèle ont été comparées dans une étude d'absorption percutanée. Le flux maximal de glucose à travers la peau a été obtenu pour l'émulsion E/H/E, et le plus faible pour l'émulsion E/H **[51].**

Dans l'industrie cosmétique, l'utilisation de ces systèmes est relativement récentes et particulièrement innovante en raison des exigences des consommateurs sur la texture des émulsions. Les innovations dans ce domaine sont nombreuses. Parmi les produits les plus connus, la fameuse crème « Optimale Nivea®Visage » de la société Beiersdorf est lancée en 1995. Une des applications très répandue des émulsions de type H/E/H en cosmétique concerne les crèmes de protection solaire. En effet, une phase continue huileuse résiste mieux à une exposition à l'eau et constitue une protection efficace face aux rayons UV. L'avantage, par rapport à une émulsion simple E/H, est la diminution de la quantité d'agent épaississant nécessaire à la stabilisation de l'émulsion **[49].**

10. Conclusion:

Développer un microréservoir, en maîtrisant la fabrication et la stabilité dans le temps est un défi majeur dans la science des colloïdes en vue des nombreuses applications allant de l'encapsulation d'actifs en cosmétique à la vectorisation de médicaments vers un organe cible ou encore la maîtrise de réactions biologiques intracolloïdales en haut débit.

Face à ces enjeux, de nombreux matériaux aux propriétés physicochimiques différentes ont été envisagés ces dernières années. Cependant, aucun n'a pu actuellement conduire à un matériau suffisamment stable ou suffisamment performant, en vue de l'application visée, pour connaître un réel développement.

Les émulsions doubles, par leur structure compartimentée, sont apparues comme le candidat idéal pour toutes ces applications que ce soit l'encapsulation d'espèces hydrophiles aussi bien qu'hydrophobes ou l'utilisation de leur structure interne aqueuse comme réacteur. Mais, par définition, ce matériau est avant tout un système métastable : que ce soit par coalescence ou diffusion, le temps caractéristique de relargage de toute espèce encapsulée reste de l'ordre de quelques jours et, actuellement, aucune application industrielle utilisant cette technologie n'a pu être correctement développée.

1. Introduction

La chimie des polymères est née de la connaissance d'un biopolymère courant : protéines, polysaccharides...Les biopolymères sont donc des polymères issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables. Actuellement, il y a une demande croissante pour les polymères biocompatibles et biodégradables pour de nombreuses applications, notamment pharmaceutiques, cosmétiques. Les recherches sur les polymères tensioactifs issus des protéines sont donc de plus en plus développées **[52].**

Dans ce chapitre on s'intéresse uniquement aux protéines et aux polysaccharides, leurs interactions et leurs utilisations pour la stabilisation des émulsions multiples.

2. Définition des biopolymères

Les biopolymères sont des macromolécules constituées de plusieurs unités identiques appelées monomères. Les monomères sont composés d'un petit nombre d'atomes légers, parmi lesquels, on trouve toujours le carbone et l'hydrogène, souvent l'oxygène et l'azote et parfois le chlorure et certains autres éléments **[53].**

Les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux. Selon cette définition trois grandes classes sont alors répertoriées : les polysaccharides, les protéines et la lignine. Ils peuvent aussi être obtenus par polymérisation de monomères naturels ou identiques aux naturels. Seulement, on assimile aux biopolymères leur caractère dégradable. Avec ce point de vue, la lignine d'origine naturelle (mais pourtant un polyphénol), non biodégradable ne peut donc apparaitre comme un biopolymère **[52]**.

3. les biopolymères étudiées

Un grand nombre de produits pharmaceutiques et cosmétiques sont sous forme d'émulsions qui, pour la plupart, sont formulées et stabilisées avec des tensioactifs issus de la synthèse chimique. La tendance actuelle incite au développement de produits naturels et biodégradables. Les polysaccharides et protéines sont les plus largement utilisés dans les émulsions alimentaires, peuvent constituer des ingrédients de choix pour la formulation des émulsions à l'application pharmaceutique ou cosmétique.

3.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides sont des macromolécules à haut poids moléculaire possédant plusieurs zones hydrophiles grâce à des groupements hydroxyles présents sur la chaîne. Cette caractéristique d'affinité pour les molécules hydrophiles comme l'eau explique leur utilisation répandue dans les formulations alimentaires pour le contrôle de la viscosité et de la texture. Les polysaccharides sont chargés soit négativement, soit positivement ou sont neutres. Ces hydrocolloïdes sont hautement hydrophiles et flexibles**.**

Conséquemment, ces derniers possèdent une excellente capacité à lier l'eau. Ils ont également la propriété de former des associations avec les protéines. Ces biopolymères peuvent être d'origine végétale (gomme arabique, guar et caroube, pectine), animale (gélatine) et microbienne (gomme de xanthane). Ces macromolécules peuvent également provenir des extraits d'algues tels que l'agar-agar, la carraghénane et l'alginate [54].

3.1.1. Les substances de pectine

La pectine est un polysaccharide de structure, hétérogène et complexe retrouvé dans les fruits et les légumes **[55].** La pectine commerciale provient principalement des écorces de citron ou des résidus de la fabrication du jus de pommes. Ses propriétés gélifiantes en font un polysaccharide de choix pour la fabrication de confitures qui constitue sa principale utilisation en industrie alimentaire. L'utilisation de la pectine est également très répandue dans les produits laitiers acides tels les yogourts **[56].**

La pectine brute comporte environ 55-75% d'acide galacturonique méthyl-estérifié (-$COOCH_3$). Parce qu'elle renferme plus de 50% d'esters sur ses groupements carboxyliques, cette pectine est dite « hautement méthylée » (HM). Quand cette proportion diminue en delà de 50%, la pectine est dite « faiblement méthylée » (LM). Lors du processus d'estérification de la pectine HM, l'utilisation d'ammoniaque en milieu alcalin conduit à l'intégration de groupements amides (NH_2) à la pectine LM. Le degré d'estérification (DE), défini comme le pourcentage d'acides galacturoniques méthyl-estérifiés, est une caractéristique importante de la pectine étant donné qu'il dicte ses propriétés fonctionnelles. Le DE définit la densité de charge de la molécule de pectine **[57].**

3.1.2. Les substance de la gomme xanthane

La gomme de xanthane est un polysaccharide bactérien utilisé dans plusieurs sphères de fabrication industrielle. En alimentaire, ses nombreuses propriétés en font un ingrédient de choix. La gomme de xanthane est reconnu pour sa très grande stabilité à différentes conditions de pH et de températures en plus d'être soluble à chaud et à froid. Ses propriétés épaississantes et stabilisantes sont largement exploitées dans le domaine des émulsions **[57].**

La gomme de xanthane est un polysaccharide produit par *Xanthomonas* principalement l'espèce *campestris*. La structure primaire du xanthane est un assemblage de pentasaccharides. La chaîne principale relie en (1→4) des unités de β-D-glucose sur laquelle une chaîne latérale (D-mannose, D-acideglucoronique, D-mannose) apparaît aux deux unités de glucose (Figure : II.01). Environ la moitié des mannoses terminaux portent des groupements acétyle alors que les mannoses reliés à la chaîne principale incluent un groupement pyruvate. Les chaînes latérales s'alignent près de la chaîne de glucose. La structure secondaire qu'adopte le xanthane fait toujours l'objet d'un débat à savoir si sa conformation est une hélice simple ou double **[58].**

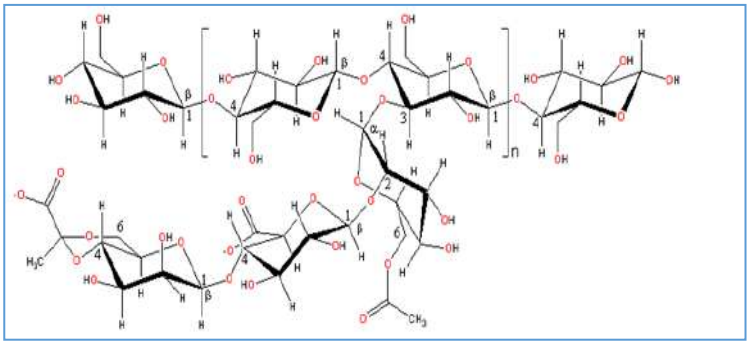


Figure II.01: Structure primaire d'un penta-saccharide de gommexanthane[58].

La gomme xanthane possède un caractère anionique et un poids moléculaire variant entre 2-20 x 10^6 Da. La conformation adoptée par la molécule de xanthane influence ses diverses propriétés physico-chimiques. Sa conformation subit une transition de la forme d'hélice (ordonnée) à pelote (désordonnée) à une température donnée dépendamment de sa concentration en solution et de la force ionique. Plusieurs recherches tentent toujours d'élucider la structure secondaire adoptée dans ces différentes conditions environnementales. Sous la forme d'hélice, les chaînes latérales sont incorporées et

associées à la chaîne de glucose alors que sous la forme désordonnée, les chaînes latérales sont dissociées et éloignées de la chaîne principale **[57].**

Les différentes recherches s'entendent pour dire que la gomme xanthane adopte une conformation d'hélice à l'état natif, c'est-à-dire en absence de traitement thermique et à faible force ionique. Suite à un traitement thermique, la conformation du xanthane passe à la forme désordonnée pour laquelle la concentration en ions détermine la température de transition **[57].**

3.2. Les protéines

3.2. 1. Définitions

Les protéines, ou polypeptides, sont des biopolymères synthétisés dans les cellules vivantes. Leur production résulte de l'expression du code génétique (ADN) et on dénombre de ce fait une très grande variété de protéines. Elles sont toutes élaborées à partir de la même série de 20 monomères : les acides aminés. Ces derniers sont constitués d'un groupement carboxyle, d'une fonction amine et d'une chaîne latérale appelée radical R le tout porté par un atome de carbone, généralement asymétrique. Les propriétés physiques et chimiques de l'acide aminé sont déterminées par la nature de la chaîne R. La polymérisation des acides aminés en protéines se fait par une réaction de condensation entre les groupements carboxyle et amine de deux résidus aminés : les résidus aminés sont liés par une liaison covalente appelée liaison peptidique. La chaîne linéaire d'acides aminés ainsi formée correspond à la structure primaire de la protéine **[59]**.

Les protéines présentent aussi une structure secondaire formée par l'enroulement ou le repliement de certains segments de la chaîne polypeptidique par le biais de liaisons faibles (essentiellement des liaisons hydrogène). Les deux motifs les plus couramment observés sont l'hélice α, correspondant à un enroulement de la chaîne, et le feuillet β dans lequel le fragment se plisse en accordéon**.**

La structure tertiaire d'une protéine correspond à l'ensemble des contorsions irrégulières de la chaîne polypeptidique. Les interactions hydrophobes entre les radicaux des acides aminés entraînent un rapprochement des acides aminés portant un segment hydrophobe au cœur de la protéine, minimisant ainsi les interactions avec la phase aqueuse. La conformation d'une protéine peut aussi être stabilisée par des liaisons covalentes : les ponts disulfures qui se forment entre deux résidus aminés soufrés. La

structure tertiaire confère à la protéine un caractère plutôt globulaire (compact) ou plutôt flexible (désordonné) **[59]**.

Les protéines sont des substances macromoléculaires amphiphiles, elles sont généralement moins tensioactives (diminution de la tension super- et interfaciales) que les surfactants synthétisés. Cependant, les protéines mènent à des émulsions thermodynamiquement et cinétiquement plus stables. En leur structure primaire, les protéines contiennent les résidus hydrophile et hydrophobes écartent aléatoirement toute autre structure. Dans la conformation pliée tertiaire, certains de ces résidus existent en tant que pièces rapportées isolées. **[60]**

À l'interface huile-eau ou air-eau, l'adsorption de protéine montre trois étapes principales : diffusion du volume à la proximité de l'interface, de l'adsorption réelle, et de la réorganisation de la protéine adsorbée. Pendant l'adsorption, seulement une fraction des groupes hydrophobes de protéine est enfoncée dans la phase lipophile et la majeure partie de la structure de protéine reste dans la phase aqueuse. Les protéines subissent alors les changements conformationnels afin de maximiser le nombre d'interactions favorables et réduire au minimum le nombre de le défavorable dans leur environnement. Les interactions intermoléculaires entre les molécules de protéine adsorbées peuvent mener à la formation d'un film fortement viscoélastique qui empêche la coalescence. Les résidus restants de protéine dans la phase aqueuse fournissent également la stabilisation stérique contre la floculation et la coalescence. Il est important de noter que toutes les protéines possèdent de diverses quantités de groupes hydrophobes et montrent la flexibilité différente. En conséquence, ils exercent les propriétés dièdres diverses **[60].**

Les protéines agissent donc essentiellement grâces aux propriétés de leurs films interraciaux et sont par conséquent, souvent capables de jouer un rôle à la fois émulsifiant et stabilisant **[61]**.

Beaucoup de protéines peuvent adsorber à l'interface et facilite la rupture de gouttelettes en abaissant la tension interfaciale. Parmi les très nombreux tensioactifs naturels disponibles sur le marché, nous allons décrire en détail les propriétés tensioactives des caséines, protéines naturellement présentes dans le lait et constituant le caséinate de sodium.

3.2.2. Les caséinates de sodium

Le caséinate est composé d'un mélange de quatre protéines présentes en grande quantité dans le lait : les caséines a_{S1}/ a_{S2}/β /k **[59]**. Le caséinate se présente souvent sous la forme d'un sel de sodium ou de calcium.

Par ailleurs, les caséines *a* et *β*, d'une part, *a* et *k*, d'autre part, peuvent s'associer pour former des submicelles **[62].** Les caséines, à l'exception de la caséine *k*, présentent une forte affinité pour les cations du fait de la présence de plusieurs groupements phospho-sérines. La formation de ponts phosphocalciques favorise la précipitation des caséines et le regroupement des submicelles pour former des micelles **[63]**. Ainsi, les caséines en solution sont un mélange de monomères, des submicelles et d'agrégats supramoléculaires **[62].**

A faible concentration de protéines, à 20°C, à pH 7 et à 0.1M NaCl, la solution de caséinate de sodium est transparente. Au-dessus de 10 g/L, les solutions deviennent légèrement opaques à cause de la présence des grandes particules qu'on ne peut pas complètement enlever par centrifugation et filtration **[64].**

La viscosité des caséinates est très faible pour des concentrations inférieures à 100g/L. Au-delà de cette concentration, elle augmente fortement **[65].** La viscosité diminue lorsque la température augmente. Les caséinates de sodium s'agrègent à des températures supérieures à 135°C, ce qui peut entraîner une modification de leurs propriétés fonctionnelles **[66].**

L'adsorption des caséines aux interfaces huile/eau ou eau/air est gouvernée par des interactions hydrophobes, Le temps caractéristique d'adsorption est bien plus grand dans le cas des protéines que dans le cas des tensioactifs de faible poids moléculaire en raison de la masse moléculaire des protéines qui réduit leur mobilité**.**

De plus, l'adsorption à une interface implique un changement dans la conformation des caséines qui entraîne un déploiement progressif des molécules. Ce changement de conformation, aussi appelé dénaturation, est souvent associé à une barrière d'énergie .Les caséines s'adsorbent alors de manière irréversible ; il n'y a pas d'équilibre adsorption/désorption comme pour les tensioactifs**.**

La conformation des caséines à l'interface dépend des conditions du milieu (pH, température, salinité). Par exemple, la quantité de caséines β adsorbées à l'interface air/eau est plus importante à pH 5 qu'à pH 7. Ceci pourrait être relié à un empilement plus compact des acides aminés de la caséine à l'interface en milieu acide rendu possible par le

fait que le point isoélectrique de la protéine est situé entre pH 4,9-5,2. Donc à pH 5, il existe une diminution des interactions répulsives entre les acides aminés chargés négativement**.**

L'ajout de sels favorise l'adsorption des agrégats de caséines à l'interface, par la diminution des interactions répulsives ioniques ce qui augmente la couverture surfacique des protéines et crée un film plus compact **[67].**

4. Stabilité des émulsions par les biopolymères

Les polymères amphiphile synthétiques ne sont pas les systèmes de catégorie alimentaire, et donc des biopolymères naturels doivent être utilisés. Les protéines, les lipoprotéines, et les polysaccharides sont les molécules de catégorie alimentaire et peuvent être employés comme agent émulsifiant aussi bien que des stabilisateurs d'épuisement.

4.1. Émulsion multiple stabilisée par des protéines :

L'utilisation des protéines en tant qu'amphiphiles macromoléculaires a été adoptée il y a bien longtemps par des scientifiques explorant la stabilité des émulsions multiples. Gélatine, protéines de lactalbumine, albumine de sérum de bœuf (BSA), albumine sérique humaine (HSA), caséines, et d'autres protéines ont été évalués.

Le Su et autres (2006) récemment, seul ont étudié l'influence de l'acide polyricinoléique de polyglycérol (PGPR) en combinaison avec caséinate de sodium. Ils ont utilisé le PGPR pour préparer l'émulsion primaire et le caséinate comme émulsifiant unique pour l'émulsification secondaire de W/O/W. Ils ont proposé que la caséine forme un film supplémentaire couvrant les gouttelettes d'eau **[68].**

Dickinson et autres (1994) ont également préparé des émulsions stables de la catégorie comestible W/O/W avec de caséinate de sodium et l'ester de polyglycérol de l'acide polyricinoleique (PGPR) comme agent émulsifiant hydrophobe. Ils ont prouvé que, quand la concentration en caséinate a été augmentée de 0.125 jusqu'à 1 % en poids, la taille de gouttelette a diminué environ de 1.4 à 0.85µm, et eu comme conséquence une émulsion plus stable contre l'écrémage **[69].**

4.2. Les émulsions multiples stabilisées par les Hydrocolloïdes

Le plus souvent les hydrocolloïdes sont ajoutés à l'émulsion multiple pour augmenter la viscosité. Florence et Whitehill (1985) ont suggéré trois voies pour réduire la mobilité des ingrédients dans les émulsions multiples:

1. Utilisation d'huile fortement visqueuse pour empêcher la diffusion de l'eau, d'agent tensio-actif ou de matériel actif de la phase intérieure.
2. Congélation de la phase huileuse ou aqueuse.
3. Polymérisation des molécules adsorbées dièdres d'agent tensio-actif**.**

Les deux premières voies comportent essentiellement la stabilisation d'épuisement, tandis que la polymérisation dièdre de la troisième voie comporte une certaine stabilisation stérique. Chacune des trois options s'avère pour former des formulations semi-solides ou colloïdales. Les émulsions multiples colloïdales les plus communes sont principalement ceux utilisées dans les crèmes de beauté, et ne s'applique pas dans les émulsions diluées non visqueuses comme les boissons **[70].**

Les hydrocolloïdes améliorent la stabilité des émulsions multiples parce qu'ils aident à une meilleure encapsulation de la phase aqueuse interne, empêchant le dégagement non contrôlé des ingrédients enfermés. La stabilisation de l'émulsion multiple est réalisée principalement par stabilisation d'épuisement. Cependant, les hydrocolloïdes visqueux affectent la qualité et la rhéologie d'une émulsion multiple **[71].**

4.3. Émulsion multiple stabilisée par des hybrides de protéines et d'hydrocolloïdes

W/O/W, dans certaines conditions, quelques protéines et polysaccharides forment des hybrides (complexes) avec les propriétés fonctionnelles augmentées, comparées aux protéines et aux polysaccharides seules. Réciproquement, la formation d'un complexe électrostatique entre les polysaccharides et les protéines à cause des charges opposées, permet une meilleure fixation des macromolécules amphiphiles sur l'interface eau-huile.

4.3.1. Les solutions mixtes protéines – polysaccharides

Les produits alimentaires sont souvent composés d'ingrédients tels que les protéines et les polysaccharides à cause de leurs propriétés épaississantes, gélifiantes, stabilisantes et émulsifiantes.

Lorsque ces deux biopolymères sont mélangés, les propriétés physico-chimiques deviennent plus complexes. La stabilité et la microstructure des produits ne dépendent plus seulement des propriétés physico-chimiques des protéines ou des polysaccharides isolés mais aussi de la nature et de la force des interactions entre les deux constituants. Ces interactions affectent les propriétés structurales, rhéologiques, physicochimiques et la stabilité des mélanges **[66].**

4.3.1.1. Comportement et structure des mélanges protéines – polysaccharides

Les interactions entre les protéines et les polysaccharides influencent les propriétés fonctionnelles des protéines contenues dans des matrices alimentaires notamment au niveau de la solubilité des protéines dans ces matrices. Plusieurs études sur les interactions avec les protéines de lait ont montré que les caséinates de sodium peuvent interagir avec les polysaccharides. Ces interactions résultent en la formation de complexes solubles ou insolubles, de nanoparticules stables ou encore de précipités solides **[72].**

4.3.1.1.1. Nature des interactions dans les systèmes protéines - polysaccharides

Les polysaccharides et les protéines peuvent interagir par l'intermédiaire d'interactions répulsives ou attractives.

Les interactions répulsives résultent majoritairement des effets de volume exclu ou des interactions électrostatiques**.**

Les interactions attractives peuvent être des interactions électrostatiques, hydrogènes, hydrophobes ou de van der Waal **[66].**

En général, ce sont des interactions de types électrostatiques qui prédominent. Ces interactions électrostatiques sont fortement affectées par les paramètres qui modifient la densité de charge électrique et donc le pH, ainsi que la force ionique par écrantage des charges.

4.3.1.1.2. Mécanismes

Lorsqu'une protéine et un polysaccharide anionique sont dans une même solution, ils peuvent former un système monophasique ou biphasiques selon la nature des biopolymères impliqués, de la composition de solution et les conditions environnementales actuelles **[72].** Dans un système monophasique, les deux biopolymères peuvent exister en tant que

deux molécules différentes (Co-solubilité) ou en tant que complexes solubles (Co-agrégation) qui sont également distribués dans tout le système**.**

Dans un système biphasiques, la solution est séparée en deux phases distinctes lorsque les deux biopolymères ont une composition différente. La séparation de phase peut se produire par deux différents mécanismes physico-chimiques : séparation associative et ségrégative **[73].**

4.3.1.1.2.1 Co-solubilité

Dans le cas de la Co-solubilité, le mélange de protéines et de polysaccharides est homogène et stable, permettant aux deux polymères de coexister en équilibre dans la même solution.

La formation de ce type de système est favorisée à des faibles ratios protéine - polysaccharide. De plus le maintien des deux polymères en état de Co-solubilité est assuré par des interactions électrostatiques mais aussi par des liaisons hydrogène. Cet état de Co-solubilité est rarement observé vu la nature différente des polymères ainsi que la grande diversité de leurs groupements fonctionnels qui pourraient conduire à des attractions ou des répulsions **[74].**

4.3.1.1.2.2 Séparation de phase ségrégative

La séparation de phase est due à la préférence de chaque biopolymère d'être entourée par des molécules de même nature plutôt que par celles de l'autre biopolymère. Le mélange se sépare alors en deux phases distinctes au-delà d'une concentration critique et chacune des deux phases contient principalement un des deux biopolymères. La séparation de phase ségrégative est due à une incompatibilité thermodynamique ou au phénomène de déplétion – floculation.

La séparation de phase est fortement influencée par la force ionique, le pH, la concentration des biopolymères, la viscosité et la gélification **[66].**

a) Incompatibilité thermodynamique

La séparation de phase ségrégative due à l'incompatibilité thermodynamique se produit si les interactions protéines-protéines (ou polysaccharides-polysaccharides) sont

favorisées par rapport aux interactions protéines-polysaccharides, conduisant ainsi à deux phases : une phase riche en protéine et une autre phase riche en polysaccharide **[66].**

b) Phénomène de déplétion- floculation

Une autre origine de la séparation de phase ségrégative est le phénomène de déplétion – floculation. Ce phénomène est dû au fait que le centre de masse des polymères est exclu de la zone de déplétion. Quand deux particules s'approchent l'une de l'autre, leurs couches de déplétion commencent à se chevaucher, ce qui permet aux polymères d'avoir plus d'espace et donc de gagner de l'entropie, ce qui entraîne des interactions attractives entre particules conduisant à une séparation de phase **[66].**

Le phénomène de déplétion peut être influencé par le rapport entre les tailles des 2 biopolymères et leur concentration. Il se manifeste généralement dans les suspensions colloïdales en présence de polymères non adsorbants.

4.3.1.1.2.3. Co-agrégation

La Co-agrégation se fait souvent dans un mélange de polymères de charges opposés. Les agrégats formés restent en suspension dans la solution quand ils sont de petites tailles. Mais, lorsqu'ils sont grands, ils peuvent précipiter et conduire au phénomène communément appelé coacervation complexe **[66].**

4.3.2. Facteurs influençant les interactions protéines-polysaccharides

Les interactions protéines-polysaccharides est influencée par des facteurs intrinsèques : charge et densité de charge, conformation et poids moléculaire et des facteurs environnementaux : ratio protéines-polysaccharides, concentration, force ionique, pH et température **[75].**

La charge et la distribution des sites réactifs des deux biopolymères sont proportionnelles à la force de l'interaction. Une densité de charge élevée entraîne une précipitation ou gélification tandis qu'à faible valeur, la complexion électrostatique est supprimée. Généralement, les complexes protéines-polysaccharides anioniques sont en conditions solubles lorsque le pH de la solution est supérieur au point isoélectrique des protéines**.**

La conformation et le poids moléculaire peuvent induire une séparation de phases. Par exemple, un polymère à haut poids moléculaire conduit à une séparation de phases causée par un volume exclu élevé et des effets d'encombrements stériques.

Le ratio protéines-polysaccharides optimal pour la formation de complexes varie selon le ratio de charges portées sur chacun des biopolymères. À teneur élevée de solides totaux, la complexation électrostatique est supprimée. Par contre, à faibles teneurs, le système devient Co-soluble.

À force ionique élevée, la complexation du mélange est diminuée, voire inhibée. Comme le pH influence le degré d'ionisation et la charge nette des polymères, il s'agit d'un facteur d'importance.

La température d'un système mixte influence les interactions protéines-polysaccharides. Une augmentation de température favorise les interactions hydrophobes alors que les basses températures favorisent la formation de ponts hydrogène. À des températures élevées, la dénaturation des protéines et les changements de conformation des polysaccharides entraînent une exposition plus importante de groupements réactifs, ce qui favorise les interactions entre les groupements fonctionnels des polymères **[54].**

4.3.3. Le système caséinate de sodium –pectine

Le mélange des polysaccharides et des protéines comme le mélange de pectine et de caséinate sont instables et la séparation de phase se produit au-dessus d'une certaine concentration en polymère. Selon le pH, on voit deux types d'interactions différentes qui mènent à la séparation des phases : interactions associatives et ségrégatives **[76].**

La pectine empêche l'agrégation des gouttelettes recouvertes de caséinate de sodium à pH 5 et au-dessous. À pH 7, la pectine ne s'adsorbe pas sur la couche de la caséinate couvrant la gouttelette d'huile et à une certaine concentration de polymère, la floculation et la coalescence observée résulte de l'épuisement exercé par la pectine **[77].**

Le potentiel *zéta* qui était positif avec la caséine seule à pH 5,5 devient négatif en présence de la pectine : les polymères s'adsorbent sur la surface des gouttelettes d'huile. L'interaction de la pectine avec la gouttelette d'huile couverte par la caséinate implique des interactions relativement faibles et réversibles **[78].** La pectine réduit l'agrégation de gouttelette mais ne l'élimine pas, le polymère n'étant adsorbé et encore rapporter pour induire la déstabilisation par épuisement. À pH 4 et au-dessous, on observe la floculation étendue de gouttelette en présence de pectine, due à l'adsorption, qui pourrait réduire

l'importance du potentiel *zéta* et ainsi la répulsion électrostatique entre les gouttelettes et/ou le polymère pourrait jeter un pont sur les gouttelettes **[77].**

Dans le cadre de la stabilisation des gouttelettes d'huile, la nature de la pectine à savoir sa structure tridimensionnelle, conformationnelle n'influent pas celle-ci. Car elle semble y avoir peu d'effet **[79].**

4.3.4. Le système caséinate de sodium-xanthane

Les interactions entre CN et le polysaccharide anionique GX dans la phase aqueuse sont étudiées par plusieurs méthodes directes et indirectes. Pour le système CN/GX, le complexe peut être formé en solution et à l'interface H/E dans l'état acide à la concentration modérément élevée en sel, même au pH au-dessus de point isoélectrique de la protéine, due principalement à des interactions électrostatiques. Les recherches ont montrées une relation proche entre les interactions de CN/GX dans la phase aqueuse et l'adsorption de CN à l'interface huile-eau.

Bien que le complexe d'extrados de CN/GX présente plus d'activité que le CN seul (des exceptions pour le complexe de CN/GX à pH 4). La dynamique des films adsorbés par CN a été modifiée par des interactions de protéine polysaccharide aux conditions acides accompagnées de l'amélioration de taux de diffusion et de remise en ordre des deux biopolymères. Ainsi, la formation du complexe de CN/GX en solution, particulièrement à l'interface eau/huile a pu sensiblement élargir la gamme d'utilisation du pH et du sel de l'émulsion alimentaire stabilisée par des protéines du lait et également augmenter la résistance à la floculation **[80].**

Les résultats actuels ont montré que l'addition de GX pourrait augmentée le diamètre hydrodynamique D_h et diminuée le potentiel zéta de la solution de mélange de CN-GX due à la charge négative nette des deux biopolymères. La fonction de GX a montré la grande différence dans l'émulsion alimentaire comparée au système pur de CN. l'émulsion contenant 0.01 % en poids de GX était la plus stable tandis que 0.04 % poids était le plus mauvais comme évalué par $d_{4,3}$, valeurs d'uniformité, coalescence partielle de graisse et concentration en protéine de surface **[81].**

Zhao Long et al (2013) montrent que tous les échantillons mènent à la séparation de phase due à la floculation d'épuisement sauf l'émulsion sans GX supplémentaire, mais la floculation était à un niveau acceptable quand le GX était de 0.01 % poids.

5. Conclusion:

D'après cette recherche bibliographique on peut conclure que les protéines ne peuvent pas complètement remplacer les agents émulsifiants monomériques hydrophobes dans la phase intérieure ou extérieure des émulsions multiples. Cependant, les protéines en combinaison avec d'autres stabilisateurs, augmentent la capacité de stabilité des émulsions multiples principalement en encapsulant la phase intérieure et en réduisant de ce fait sensiblement la concentration hydrophobe d'émulsifiant. La protéine dans la phase externe peut augmenter la stabilité d'émulsion multiple avec l'additionnement de n'importe quel polysaccharide mais avec des conditions spécifiques (pH, concentration,…).

C’est dans ce cadre-là et dans le but d’enrichir la recherche dans ce domaine, on a choisi de formuler des émulsions doubles en utilisant un mélange de protéine et de polysaccaride (CN / pectine et CN/ GX). Actuellement aucun travail n’a été réalisé pour préparer des émulsions de type E /H/E par le mélange de ces biopolymères.

1. Introduction

Les émulsions multiples sont des systèmes thermodynamiquement instables généralement stabilisés par des petites molécules d'agent tensio-actif. Pour répondre à des soucis de développement durable, il est possible de remplacer ce dernier par les émulsifiants naturelles tels que des protéines et des polysaccharides pour formuler des émulsions pour le champ pharmaceutique et cosmétique.

L'objectif de cette étude a été de formuler et caractériser des émulsions doubles E/H/E stabilisées par Caséinate de sodium (CN), pectine (P), gomme xanthane (GX) et des mélanges de CN-Pectine et CN-GX. Deux procédés de formulation ont été utilisés : le procédé par étape et le procédé direct. Les émulsions formulées ont subie différents tests de stabilité à différentes températures de stockage et à différentes vitesse de centrifugation. Afin d'évaluer de manière qualitative la morphologie des globules gras et des gouttelettes d'eau internes et d'identifier certaines instabilités comme la coalescence ou l'inversion de phase une analyse microscopique des différentes formulations ont été effectué. Pour mieux comprendre le comportement rhéologique des émulsions obtenues, des mesures de la viscosité apparente ont été réalisé.

2. Matériels et produits utilisés :

2.1. Matériels utilisés*:*

Balance électrique : la précision des pesées nécessitent une balance très précise qui est utilisée pour toutes les expériences et qui a des précisions à 10-4g (Marque Sartrius).

Agitateur à hélice: l'agitateur à variateur mécanique de type HRII a été utilisé. Il est constitué par un axe muni à son extrémité par des pales inclinées provoquant un écoulement axial des composants radicaux et reliés à un moteur électrique. La vitesse de rotation de l'axe central est comprise entre 350 et 2900 tours par minute.

Homogénéiseur: l'homogénéiseur (Ultra-turax T-25, tige S25N-/01.797959 G 18) de type IKA est utilisé, il est constitué par des filières à chicanes. La masse à homogénéiser est contrainte de passer à travers ces filières, la réduction de la taille des particules ou des agglomérations dépend de la finesse des ouvertures des filières. La vitesse d'agitation est comprise entre 3400 et 24000 tours par minute.

pH mètre: le pH mètre utilisé est un appareil muni d'une entrée à haute impédance pour les applications potentiométriques (mesure du pH, de la tension U). Il est de type Mark Metrhom AGCH-9100 Hrisan (E632).

Conductimètre: le conductimètre utilisé est du type LF 191 de la compagnie allemande WTW. L'échelle de mesure est composée de quatre plages 4, 3, 2, 1. Les deux premières 3 et 4 permettent de mesurer les conductivités électriques comprises entre 0 et 999 µs/cm. Les deux dernières permettent de les mesurer entre 1et 999 ms/cm. Les conductivités électriques supérieures à 1000000 µs/cm sont obtenues par dilution au 1/100.

Centrifugeuse: c'est un appareil qui fonctionne avec des vitesses comprises entre 1000 à 6000 tours/minute dans un intervalle du temps choisi selon l'utilisation.

Microscope: l'examen microscopique était réalisé à l'aide d'un microscope optique (Olympus) qui permet un agrandissement jusqu'à 1000 fois.

Viscosimètre: pour l'analyse viscosimétriques, on a utilisé un viscosimètre de type Visco-Tester à mobile tournant qui permet de mesurer la viscosité des liquides newtoniens et non newtoniens. Il est constitué d'un cylindre de rotation entrainé par un moteur à vitesse commutable. Cet appareil est équipé de 7 mobiles de formes et de géométries différentes, où chaque mobile doit être utilisé dans une plage bien définie de viscosité et de vitesse de rotation qui varie entre 0.5 et 200 RPM.

2.2. Produits utilisés:

Les principaux produits utilisés pour la réalisation de nos expériences sont regroupés dans le tableau (III.01).

Tableau III.01: les déférentes produits utilisés dans l'étude expérimentale

Produits	Principales caractéristiques
Phase aqueuse: Eau distillée.	-La phase aqueuse utilisée pour la préparation des différentes formulations est l'eau purifiée. C'est une eau préparée par distillation à partir de l'eau potable.
Phase huileuse : * l'huile d'olive.	- Masse volumique: 0,93 g·cm-3. - couleur : jaune
* Huile de vaseline	-Densité= 0,89

Tensioactif lipophile : • Dehymuls E	-Sorbitane sesquioleate -HLB 4 -T° de fusion 45°C-60°C
• Span60.	-**Formule moléculaire**: $C_{24}H_{46}O_6$. -**Poids moléculaire**:428.5. **-Aspect**: c'est un genre de liquide huileux. mucilagineux de jaune de paille avec l'odeur de la graisse. **-HLB** de Span60: 4.3.
* pectine	-**Apparence:** Poudre fine d'une couleur marron. Extrais de citron. **Teneur en méthyle:** Hautement méthyle: 62% . **Solubilité :** soluble dans l'eau, insoluble dans l'éthanol.
* Gomme xanthane	-**Apparence:** poudre blanchâtre inodore et insipide. -**Formule brute:** $(C_{35}H_{49}O_{29})_n$ **Solubilité** : soluble dans l'eau, insoluble dans l'éthanol.
Protéine: caséinate de Sodium (CN-Na).	Spécification: -**couleur**: blanc Protéine (sur la base sèche) ≥ 90%. -**Matières grasses**: ≤ 2,00%. -**Humidité** ≤ 6,00%. -**Lactose** ≤ 1,00%. -**Viscosité** (15% 20): 200-3000mPa.s. **pH:** 6,0 à 7.5. -**Arsenic**: ≤ 0,0002%.
Conservateur: benzoate de sodium E211	-**Formule moléculaire**: $C_7H_5NaO_2$ -**Densité : 1**.497–1.527 g/cm^3 à 24°C -**Solubilité :** soluble dans l'éthanol et l'eau

3. Etude physico-chimique des mélanges CN-Pectine :

Nous avons cherché à mettre en évidence des effets liés à la concentration en polymère dans les systèmes CN/Pectine. Pour cela, nous avons étudié une gamme de concentrations en polysaccharide étendant de 0,1% à 2% .

Nous avons tout d'abord étudié les systèmes par conductimétrie et tensiométrie. Notons que ces paramètres ont été déterminés directement après mélange des deux biopolymères.

3.1. Préparation des solutions en biopolymères :

a. Préparation des solutions en caséinate de sodium (CN)

Les solutions de CN ont été préparées par la dispersion de la poudre de CN (%) dans l'eau distillée additionnée d'un conservateur le benzoate de sodium. Les solutions de CN ont été conservées pendant 24 h à la température ambiante pour compléter leur l'hydratation **[81].**

b. Préparation des solutions des polysaccharides

La dissolution des polysaccharides (GX, Pectine) a été réalisées en introduisant la poudre dans un bécher contenant de l'eau distillé et un conservateur, le benzoate de sodium, sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique et à T° de 60°C pendant trois minute pour faciliter l'hydratation et empêcher la formation des agrégats dans les solutions. Les solutions des polysaccharides ont été refroidi sous agitation continue à température ambiante pendant 24 h pour compléter leur l'hydratation **[85].**

c. Préparation des mélanges de CN-pectine et de CN – GX:

Les solutions des biopolymères (CN, pectine, GX), ont été mélangées (CN-pectine, CN-GX) à pH naturelle pendant 1H.

Les solutions préparées de pectine, GX, CN, CN-pectine et du CN-GX ont été stockées à 4°C jusqu'à l'utilisation.

3.2. Mesure de la viscosité des mélanges CN-Pectine:

Les polysaccharides sont généralement utilisés dans diverses applications alimentaires pour augmenter la viscosité des solutions. Pour étudier l'effet de la concentration en pectine sur la viscosité des solutions mixtes de CN-pectine nous avons mesuré leur viscosité par un viscosimètre de tige numéro un (R_1), à une vitesse constante (60 tr /min), à température 20 °C, et à pH 5. Les résultats de mesure sont représentés sur la figure (III.01).

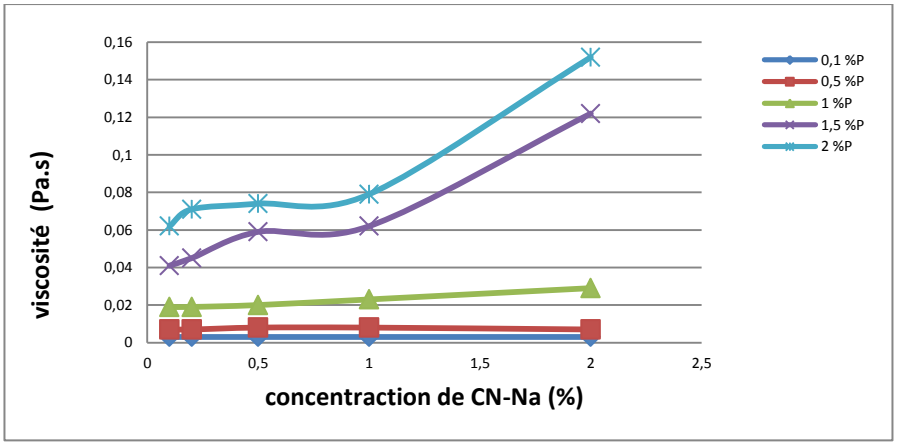


Figure III.01 : Effet des concentrations en CN et en pectine sur la viscosité de leur mélange

L'examen de cette figue montre que la viscosité des solutions augmente avec l'augmentation de la concentration en pectine quelques soit la concentration en CN. Pour des faibles concentrations de pectine la viscosité est très faible par contre à des fortes concentrations, la viscosité augmente jusqu'à (150 mPa.s). Donc pour avoir une viscosité importante des solutions de CN et de pectine il faut travailler avec des concentrations supérieures à 1% en pectine.

3.2. Mesure des conductivités électriques :

Les mesures de la conductivité électrique des solutions de CN, en absence ou en présence de pectine, en fonction de la concentration en protéine sont des mesures simples et rapides qui fournissent des informations sur la densité des charges présentes sur les macromolécules. Elles nous permettent d'accéder à certaines concentrations caractéristiques.

a) Solution de CN en absence de pectine :

La figure (III.02) montre la variation de la conductivité électrique en fonction de la concentration en CN. Cette courbe permet de déterminer la valeur de la CMC de CN dans le milieu considéré (pH 5 et 7).

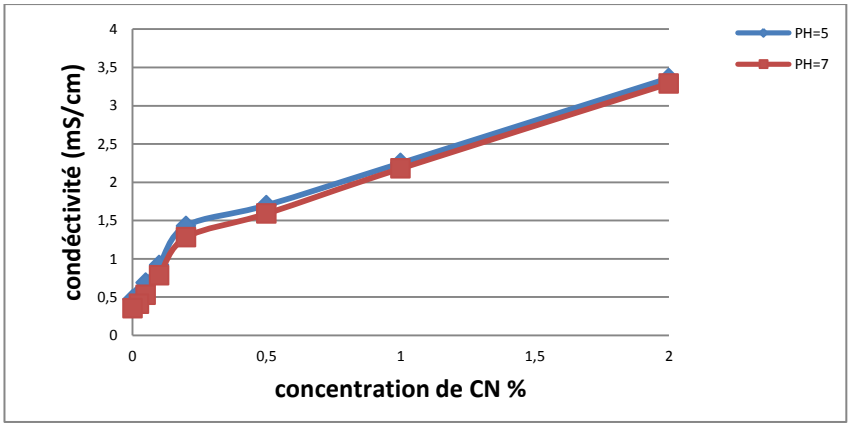


Figure III.02: Variation de la conductivité en fonction de la concentration en CN (pH 5)

On observe un changement de pente lorsque les premiers agrégats micellaires se forment. En effet, lorsque l'on se trouve en dessous de la valeur de la CMC, la conductivité de la solution augmente fortement et linéairement avec la concentration en tensioactif. Le tensioactif se comporte comme un électrolyte classique. Au-dessus de la CMC, la conductivité croît plus lentement. La valeur de la CMC du CN à pH = 5 est d'environ 2%, valeur qui est peu différente de la valeur de la CMC du CN à pH 7. Il semblerait donc que le changement du pH n'influe pas le phénomène de micellisation du CN.

b) Solution de CN en présence de pectine :

La figure (III.03) représente l'évolution de la conductivité ionique des mélanges CN / pectine en fonction de la concentration totale en CN dans le mélange.

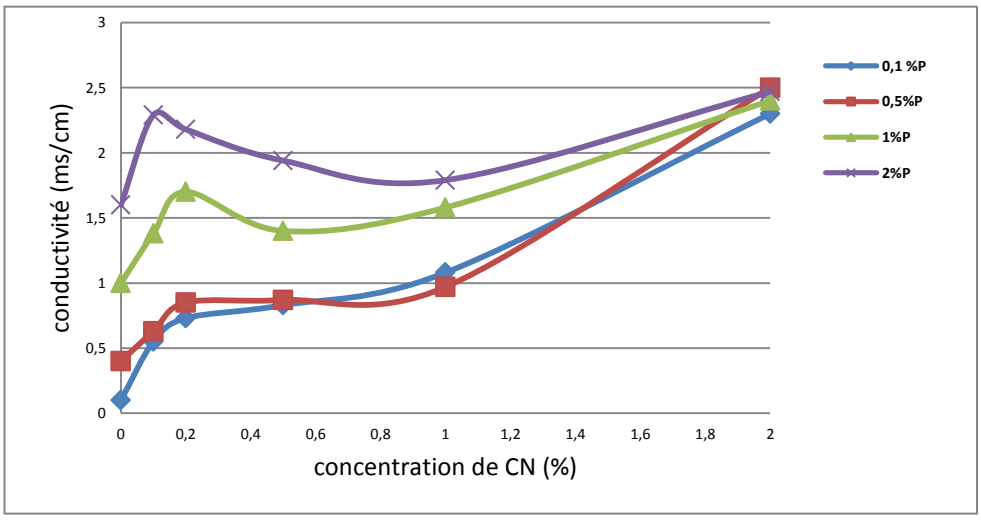


Figure III.03 : Conductivité de CN en présence de pectine

Les courbes des systèmes CN / Pectine se différencient dès CN = 0,1%. En effet, on constate que les valeurs de la conductivité en présence de la pectine sont différentes de celle du CN et qu'elles augmentent avec la concentration en pectine. Ceci rend compte du fait que notre polysaccharide est chargé dans ces conditions de solvant et de pH.

La valeur de la CMC du CN à différent pourcentage de pectine est presque la même. Il semblerait donc que l'ajout de la pectine n'influe pas le phénomène de micellisation du CN.

On remarque aussi que lorsqu'on augmente le pourcentage en pectine à des valeurs supérieur à 0,5 % avec des concentrations en CN supérieur à 1%, la conductivité augmente considérablement. Donc pour des faibles interactions électrostatiques on peut choisir des concentrations de pectine inférieure à 0,5% et des concentrations en CN entre 0,2 et 1%. Si on augmente la concentration en pectine à 2% il faut travailler avec des concentrations inférieures à 1% en CN.

3.3. Mesure de la tension de surface :

a) Solution de CN en absence de pectine :

Les mesures de la tension de surface en fonction de la concentration en CN sont illustrées sur la figure (III.04). L'analyse de cette figure montre l'abaissement de la tension superficielle en fonction de la concentration en CN pour se stabiliser à une valeur relativement constante à partir de la CMC. C'est une caractéristique des tensioactifs ionique qui ont tendance à abaisser la tension superficielle jusqu'à atteindre une certaine concentration micellaire critique à partir de laquelle la tension superficielle devient constante.

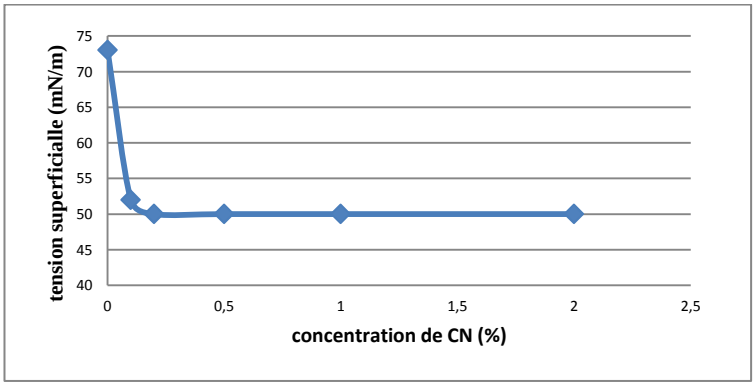


Figure III.04: tension de surface de CN

b) Solution de pectine :

Les mesures de la tension de surface en fonction de la concentration en pectine sont présentées sur la figure (III.05).

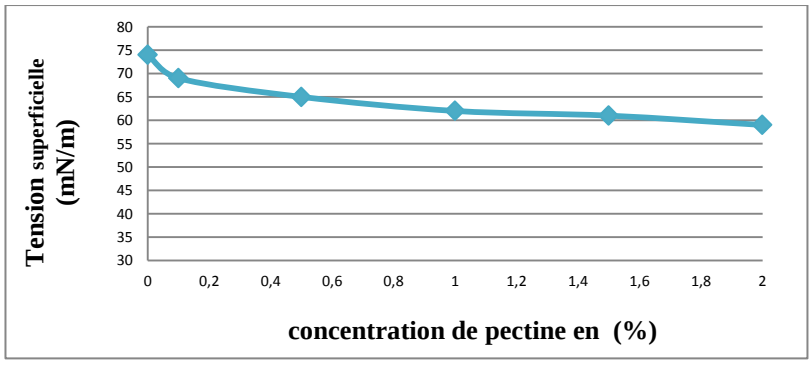


Figure III.05 : tension de surface de CN

L'examen de cette figure montre que la tension superficielle diminue en fonction de la concentration de pectine. Cette diminution peut signifier que les pectines possèdent des propriétés émulsifiantes.

c) Solution de CN en présence de pectine :

Pour mieux comprendre l'influence des interactions CN/ pectine sur la tension de leur mélange nous avons mesuré la tension superficielle des solutions de CN à différentes concentrations en pectine.

La figure (III.06) représente l'évolution de la tension de surface des solutions de CN en présence de pectine à 25°C et à pH 5.

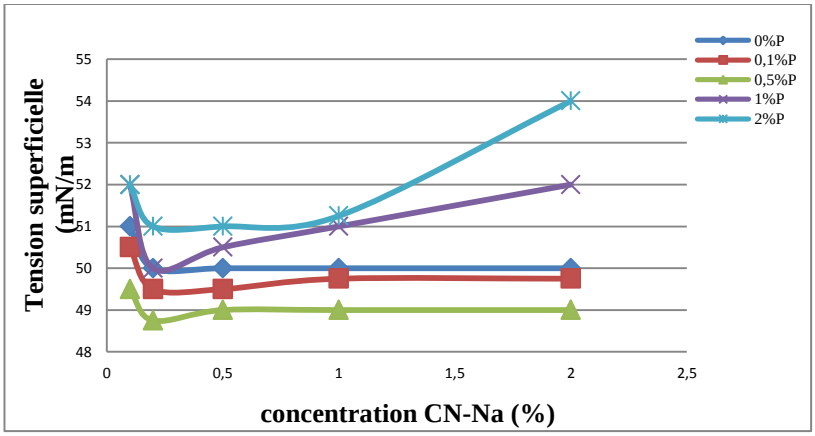


Figure III.06: tension superficielle du mélange CN /Pectine

L'analyse de cette figure montre que pour des faibles concentrations en pectine (<1%) et à différente concentration en CN la tension superficielle du mélange des deux biopolymères est inférieur à celle du CN seul ce qui signifie que l'ajout de la pectine favorise le phénomène de micillisation du CN. Par contre si on augmente la concentration en pectine à 1%, la tension superficielle du mélange est presque la même que celle de CN seul mais pour des concentrations inférieur à la CMC. Au-delà, la valeur de la tension superficielle devient plus grande.

Lorsque la concentration en pectine est supérieure à 1% la tension superficielle du mélange est nettement supérieure à celle de CN lorsque sa concentration est supérieure à 0,5%. Donc à cette concentration en pectine et en CN le phénomène de micillisation de CN est masqué.

Notons que quelques mélanges de biopolymère avec des concentrations élevées en pectine ont présenté une séparation en deux phases distinctes (voire la figure III.07). Ce relâchement structural dû à une séparation ségrégative entre les deux biopolymères est causé par une incompatibilité thermodynamique entre eux. A pH 5 la CN se trouve au voisinage de son PI donc elle est faiblement chargée négativement, de même que pour la pectine c'est un polysaccaride anionique donc de charge négative. Dans ces condition de pH et de concentration, les interactions protéine-protéine et polysaccharide-polysaccaride sont plus importantes que les interactions protéine-polysaccaride donc la solution mixte se sépare pour produire 2 phases dans lesquelles chacun des 2 biopolymères se retrouve concentré individuellement.

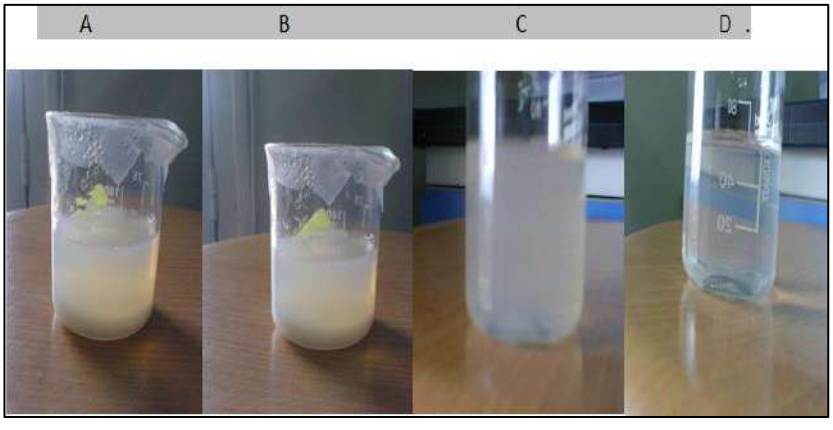


Figure III.07: aspect de quelques solutions (CN / pectine) après 3 jours:

A = 2/1 ; B = 1/1,5 ; C = 0,5/0,5 ; D = 0,2/0,1

On conclusion pour garder une bonne co-solubilité du mélanges de CN et de pectine, et pour garder les propriétés émulsifiantes de CN il faut travailler avec des concentrations en Pectine < 1% quel que soit la concentration en CN. Si on augmente la concentration en pectine à 2% il faut travailler avec des concentrations inférieures à 1% en CN.

4. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le mélange CN-pectine:

4.1. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le procédé indirect :

Le procédé choisi pour faire ce type de formulation est le procédé en deux étapes, qui consiste à réaliser une première émulsion de type huile dans eau (E_1/H) à base de tension actif lipophile qui sera elle-même encapsulée dans une phase aqueuse externe (eau + CN-pectine)

4.1.1. Première étape: formulation des émulsions primaires de type E/H:

a) Protocole expérimental

Les émulsions primaires ont été préparées en additionnant les phases aqueuses (eau distillée) à la phase huileuse (huile de vaseline ou huile d'olive) contenant le tensioactif lipophile sous agitation de 1000 tr/mn pendant 45 min à l'aide d'un agitateur à hélice. Les deux phases ont été préalablement chauffées à 75 °C. Notons que la concentration des différents constituants a été prise de la référence **[40].** Les concentrations (en %) de chaque constituant sont présentées dans le tableau (III.02).

Tableau III.02: les différents constituants des deux émulsions primaires formulées.

Constituant (%)	Type d'émulsion	
	$E/H_{vaseline}$	$E/H_{d'olive}$
Huile	20%	20%
Dehymuls® E	3%	3%
$MgSO_4$ ($7H_2O$)	0,7%	0,7%
Eau	QSP100%	QSP 100%
Observation	Homogène	Homogène
pH	5,94	5,49
Conductivité électrique (µS/cm)	2,07	4

b) Caractérisations physico-chimiques des émulsions primaires formulées:

∗ Etat macroscopique :

Les deux formulations réalisées sont homogène de couleur : blanche pour l'huile de vaseline et jaune pour l'huile d'olive, et d'un aspect bréant. Elles ont une consistance élevée. Les mesures de la conductivité électrique obtenus sont très faibles (quelque μS) qui indique que les deux émulsions sont de nature huileuse (indirecte).

∗ Observation microscopique:

L'examen microscopique des émulsions primaires montre la dispersion des globules aqueux dans la phase huileuse. Cette dispersion est presque la même pour les deux formulations comme le montre la figure (III.08). Les globules d'eau sont tout encapsuler par la phase huileuse.

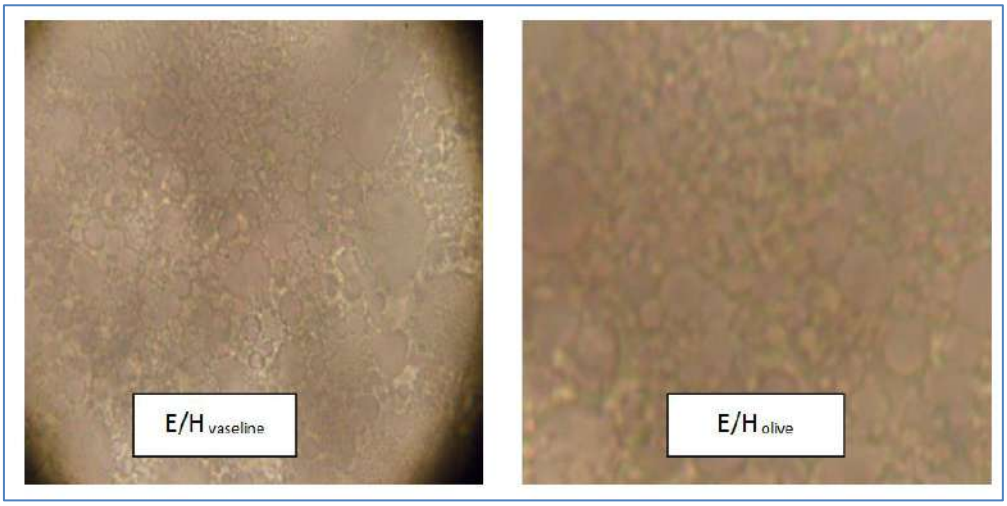


Figure III.08 : vues microscopique des deux émulsions primaires.

∗ Stabilité à la centrifugation :

Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 3000 tours/ minute, pendant 10 minutes. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (III.03):

Tableau III.03: résultats de centrifugation des émulsions E/H

vitesses de centrifugat	Type de l'émulsion	
	$E/H_{vaseline}$	E/H_{olive}
1000 tr/min	+	+
2000 tr/min	+	+
3000 tr/min	+	+

+ : stable

Le teste de la centrifugation montrent que les deux formules sont stables à différente vitesse de centrifugation. Car les deux formulations sont caractérisées par une grande consistance permettant d'encapsulés les goulettes d'eau et d'inhiber le phénomène de floculation qui induit la séparation de phases.

* Etude de la viscosité:

Ce test consiste à étudier la variation de la viscosité en fonction de vitesse de cisaillement. Les mesures de la viscosité sont effectuées par un viscosimètre de tige numéro septe (R_7), à température 23 °C. L'évolution de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour les deux formulations est présentée sur la figure (III.09).

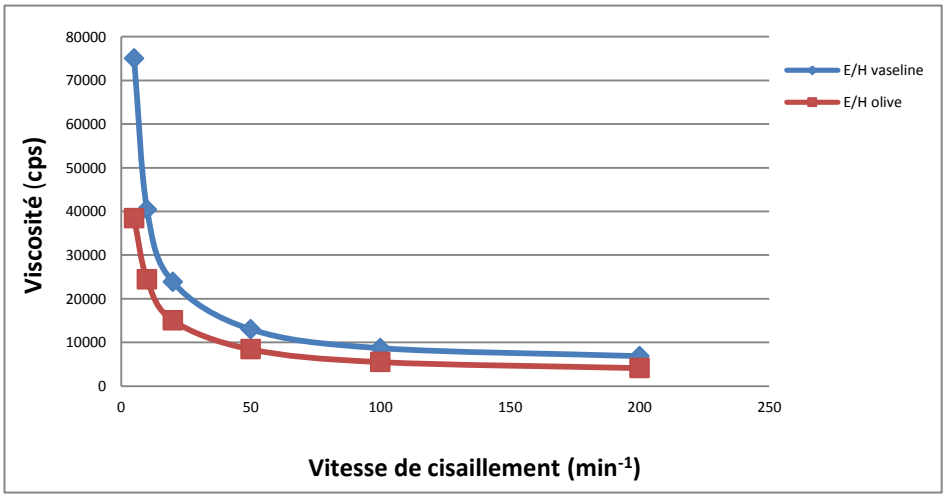


Figure III.09: Profil de variation de viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions simples.

Les résultats obtenus montrent que la viscosité apparente pour les deux formulations diminue en fonction de la vitesse de cisaillement. On plus les valeurs de la viscosité de l'émulsion E/H $_{vaseline}$ est supérieure que les valeurs de la viscosité de l'émulsion E/H $_{olive,}$ car l'huile de vaseline est caractérisé par une viscosité supérieure que celle de l'huile d'olive. De ce fait nous pouvons conclure que les deux émulsions obtenues sont de type fluide non newtonien d'un comportement pseudo-plastique (rhéofluidifiant).

c) Conclusion:

D'après cette étude, on a remarqué que le changement de la nature de l'huile de vaseline n'a pas une grande influence sur la stabilité de l'émulsion, donc on a choisis de travailler avec l'huile d'olive qui est une huile végétale très employée dans le domaine alimentaire.

4.1.2. Deuxième étape: formulation des émulsions multiples de type E/H/E:

Cette étape consiste à émulsifier l'émulsion primaire déjà préparée dans une phase aqueuse externe contenant CN-pectine. Pour une meilleure stabilité des émulsions multiples le pH de la phase aqueuse externe était ajusté à 5 [**79, 85**]. La concentration en émulsion primaire était fixée à 20%.

4.1.2.1. Détermination des paramètres de formulation:

Cette étape consiste à étudier l'influence de la vitesse d'agitation et les concentrations en CN et en pectine sur la stabilité des émulsions multiples E/H/E.

4.1.2.1.1. formulation à vitesse constante:

L'émulsification de l'émulsion primaire dans la phase aqueuse externe contenant un mélange de CN et de pectine était réalisée à une vitesse constante de 8000 tr/min pendant Cinque minute.

a) Ajustement de pH des solutions de CN-pectine avant la formulation :

L'ajustement du pH des solutions était réalisé par une solution de HCl ou de NaOH à 0,2%. Après ajustement du pH l'agitation est maintenue pendant une heure. La composition des différentes émulsions préparées sont donnés dans le tableau (III.04).

Tableau III.04: composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées par CN-pectine

Composition	N° de formulation								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Emulsion primaire	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%
CN/pectine	1/1	1/2	1/3	2/1	2/2	2/3	4/1	4/2	4/3
Benzoate de sodium	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
eau	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%
observation	H	H	H	H	H	H	H	H	H
pH	5,24	5,11	5,33	4,88	4,75	5,61	4,95	5,13	5,54

H: homogène

Les émulsions obtenues sont des émulsions multiples homogènes mais instables après quelques heures.

b) Ajustement de pH des solutions CN-pectine après la formulation.

Cette étape consiste à émulsifier l'émulsion primaire dans la phase aqueuse externe contenant le mélange CN–pectine sous une agitation de 8000 tr/min à l'aide d'un homogénéiseure à température ambiante pendant 5 min. A la fin le pH des différentes formulations était ajusté à 5. Les compositions des différentes émulsions préparées sont donnés dans le tableau (III.05).

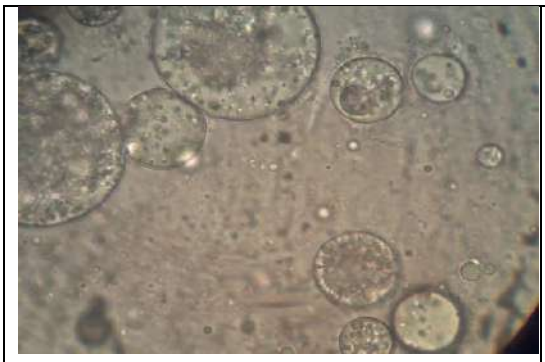
Tableau III.05: composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées par CN-pectine (pH=5)

Composition	N° de formulation								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Emulsion primaire	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%
CN/pectine	1/1	2/2	4/3	1/2	1/3	2/1	2/3	4/1	4/2
Benzoate de sodium	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
Eau	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%
observation	H	H	H	H	H	H	H	H	H
Conductivité Electrique(mS/cm)	1,65	1,86	2,01	1,69	1,70	1,79	1,56	2,14	1,98

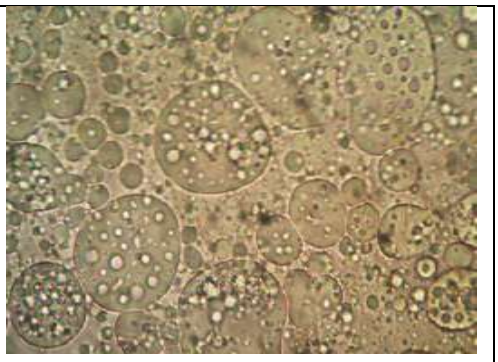
Les émulsions obtenues sont des émulsions multiples laiteuses homogènes mais instables après quelques heures.

* Examen de microscopie:

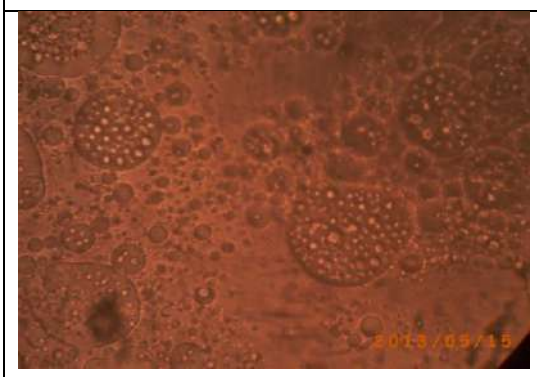
Afin de vérifier la multiplicité des différentes formulations un examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 1000 fois directement après la formulation. Pour une meilleure dispersion de l'émulsion, l'échantillon a été placé entre une lame et lamelle. Les vues microscopiques des formulations sont représentées dans la figure (III.10):



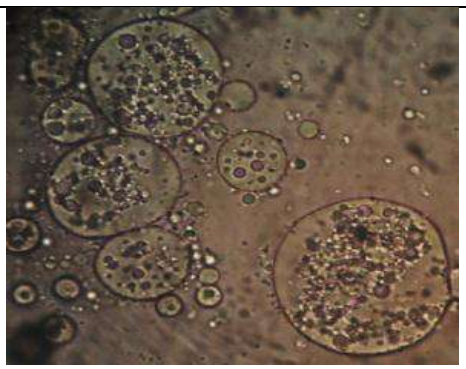
Formulation N°F1



Formulation N°F7



formulationN°F 8



formulationN°F 9

Figure III.10: Vues microscopiques des émulsions E/H/E préparé par CN-pectine

L'examen microscopie montre que tous les formulations sont des émulsions multiples contenant des globules d'huile bien chargées en gouttelettes d'eau.

Conclusion:

On peut conclure que les émulsions formulées sont des émulsions multiples mais elles sont instables et cela peut être dû soit à la vitesse d'agitation choisis, soit aux concentrations des biopolymères. L'analyse microscopique après une heure de l'émulsion 06 montre un phénomène de déplétion-floculation comme le montre la figure (III.11).

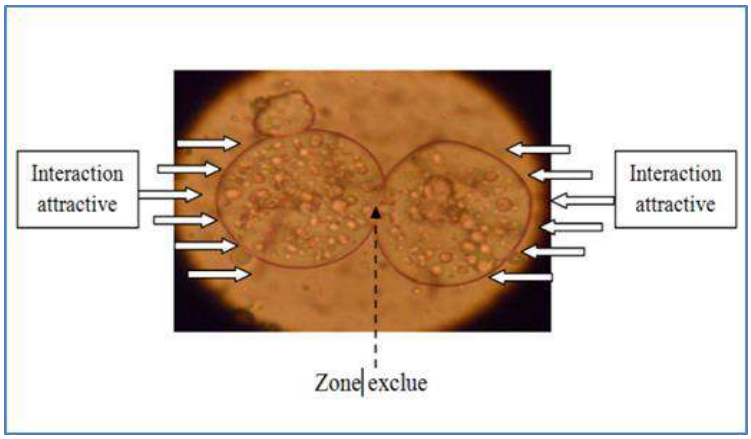


Figure III.11: phénomène de déplétion – floculation des émulsions multiple E/H/E préparées par CN/Pectine (2/1).

Ce phénomène résulte de l'agrégation des gouttelettes due aux interactions attractives. Pour limiter ce phénomène, on a deux possibilités; soit augmenté la viscosité de la phase aqueuse externe, soit réduire la taille des gouttes de la phase dispersée en augmentant la vitesse d'agitation.

L'ajustement de pH avant ou après formulation n'a pas d'influence sur la stabilité des émulsions. Notant que l'ajustement du pH de la phase extérieurs avant formulation donne des émulsions dont le pH est différent à 5, donc on a choisi de formuler d'abord l'émulsion multiple ensuite d'ajuster le pH.

Plusieurs formulations ont présenté un phénomène d'incompatibilité thermodynamique (séparation de phase dans la phase aqueuse après crémage) comme le montre la figure (III.12). Ces formulations ont été éliminées dans l'étude qui vienne par la suite.

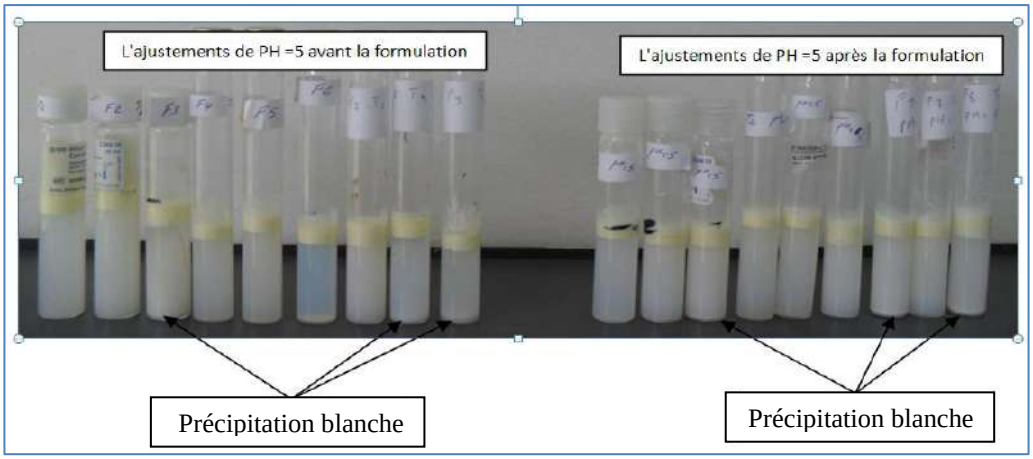


Figure III.12: l'aspect des émulsions multiples après trois jours.

4.1.2.1.2. Variation de la vitesse d'agitation:

L'émulsion primaire E/H était introduite dans une phase aqueuse externe contenant un mélange de CN et de pectine à température ambiante. L'agitation était réalisée à l'aide d'un homogénéiseur à différente vitesses (12000, 14000 et 16000). La composition des différentes émulsions préparées sont donnés dans le tableau suivante.

Tableau (III.06) : composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées sous différente vitesse d'agitation.

Composition	N° de formulation					
	1	2	3	4	5	6
Emulsion primaire	20%	20%	20%	20%	20%	20%
CN/pectine	1/1	1/2	1/3	2/1	2/2	2/3
Benzoate de sodium	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
Eau	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%
Vitesse (tr/min)	12000	12000	12000	12000	12000	12000
observation	SP	SP	SP	SP	SP	SP
Conductivité (mS/cm)	5,24	5,11	5,33	4,88	4,75	5,61

	N° de formulation					
	1	2	3	4	5	6
vitesse	14000	14000	14000	14000	14000	14000
observation	H	H	H	H	H	H
	N° de formulation					
	1	2	3	4	5	6
vitesse	16000	16000	16000	16000	16000	16000
observation	H	H	H	H	H	H

Les émulsions obtenues sont homogènes, aqueux et laiteuses mais instables après 24h.



a) Après deux heures



c) Après 24heures



b) Après quatre heures

Figure III.12: Aspect des émulsions multiples [formulation N° 1, 2 et 3] à différente vitesse d'agitation (12000, 14000 et 16000).



a) Après deux heures b) après 24 heures

Figure III.13 : aspect des émulsions multiples [formulation N° 4, 5 et 6] à déférente vitesse d'agitation (12000, 14000 et 16000).

Examen microscopique:

Afin de déterminer l'effet de la vitesse d'agitation sur la taille des gouttelettes multiples, un examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 1000 fois directement après formulation. Les vues microscopiques de la formulation F3 ; sont représentées sur la figure (III.14).

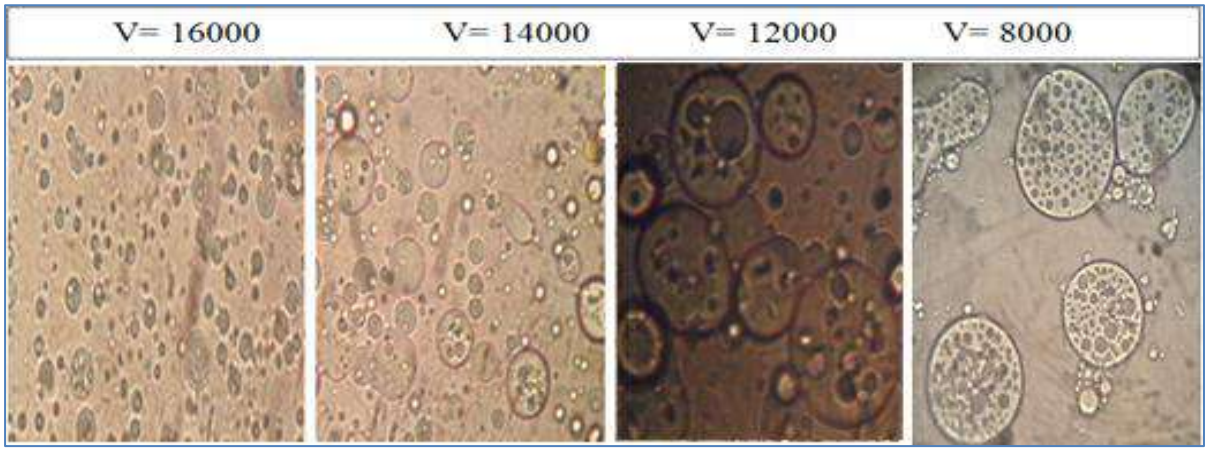


Figure III.14: Effet de la vitesse d'agitation sur la taille des gouttelettes.

L'analyse de cette figure montre que la taille des gouttelettes varie en fonction de la vitesse d'homogénéisation. A des vitesses de 8000 et de 12000, la taille des gouttelettes est supérieure à celle qu'on observe à des vitesses de 14000 et 16000. Donc, l'augmentation de la vitesse d'homogénéisation permet de réduire la taille des gouttelettes.

Conclusion:

L'augmentation de la vitesse d'agitation à permet d'amélioré la stabilité des différentes formulations en diminuant la taille des gouttelettes multiples. Il reste à faire varier la concentration en pectine pour augmenter la viscosité de la phase extérieure et stabiliser les émulsions doubles.

5.1.2.1.3. Effet de la concentration en pectine sur la stabilité des émulsions doubles E/H/E:

Protocol expérimental:

Dans cette parie, on a fixé la concentration en CN, et on a varié les concentrations en pectine. La préparation des émulsions multiples E/H/E a été réalisé on deux étapes :

- Mélanger l'émulsion primaire avec les solutions de CN-pectine pendant 20 min. L'ajustement de pH à 5 se fait par l'ajout d'une solution de NaOH 0,2%.
- Homogénéiser le mélange à l'aide d'un homogénéiseur à14000 tr/min pendant 5 minutes. La composition des différentes émulsions préparées sont donnés dans le Tableau (III.07).

Tableau (III.07) : composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées en concentration de CN fixé.

Composition	N° de formulation				
	1	2	3	4	5
Emulsion primaire	20%	20%	20%	20%	20%
CN/pectine	1/2	1/2,5	1/3	1/3,5	1/4
Benzoate de sodium	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
Eau	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%	QSP%
observation	SP	SP	H	H	H
Conductivité électrique (mS/cm)	1,96	2,28	1,98	2,22	2,65

SP: séparation de phase; H: homogène

Caractérisations physico-chimiques des émulsions multiples formulées:

* Etat macroscopique :

Les émulsions obtenues sont homogènes, laiteuses avec une viscosité variable en fonction de la concentration en pectine. Les formulations N°1, 2 et 3 sont moins visqueuses que les autres formulations.

* Sens de l'émulsion :

Deux méthodes ont été utilisées pour connaitre la nature des émulsions formulées : la mesure de la conductivité électrique et la méthode de dilution.

Les résultats de mesure de la conductivité électrique montrent que la conductivité de toutes les émulsions formulées est élevée (mS) ce qui montre que la phase continue est une phase aqueuse.

Pour la méthode de dilution, une quantité de l'émulsion préparée a été introduite dans un tube à essai contenant de l'eau. Après un certain temps, nous avons remarqué une dispersion facile de l'émulsion dans l'eau ce qui confirme que la phase continue est aqueuse, ce test est réalisé pour toutes les formulations.

* Stabilité à la centrifugation :

Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 3000 tours/ minute, pendant 5 minutes. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (III.08).

Tableau III.08: stabilité à différente vitesse de centrifugation.

vitesses de centrifugation	N° de formulation				
	1	2	3	4	5
1000 tr/min	+-	+ -	+	+	+
2000 tr/min	-	+ -	+ -	+	+
3000 tr/min	-	-	- +	+ -	+

- : séparation de phase; + - : légère séparation ; + : stable

* Etude de stabilité accélérée à différentes températures de stockage :

Pour réaliser ce test, des échantillons de chaque formulation ont été stocké à différentes températures : 4°C, 25°C et 40°C, pendant 10 jours. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (III.09).

Tableau III.09: Stabilité des émulsions E/H/E à différentes températures de stockage.

N° de formulation	Températures de stockage		
	4°C	25°C	40°C
1	Crémage	Séparation de phase	Séparation de phase
2	Crémage	Séparation de phase	Séparation de phase
3	stable	crémage	Séparation de phase
4	stable	stable	stable
5	stable	stable	stable

L'analyse de ces résultats montre l'effet de la concentration en pectine sur la stabilité des émulsions préparées. On remarque que les formulations N°1, 2 et 3 avec une faible concentration en pectine, sont instable à température de stockage 40, par contre les formulations N° 4 et 5 avec des concentrations plus élevé en pectine sont stable à la mêmes température de stockage comme le montre la figure (III.15).

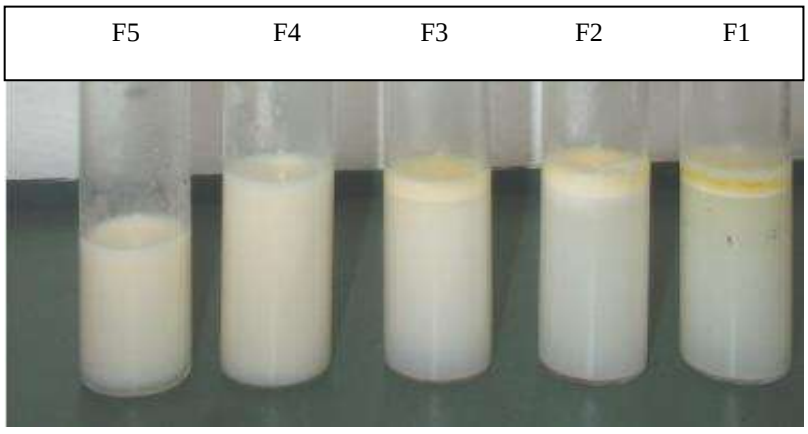
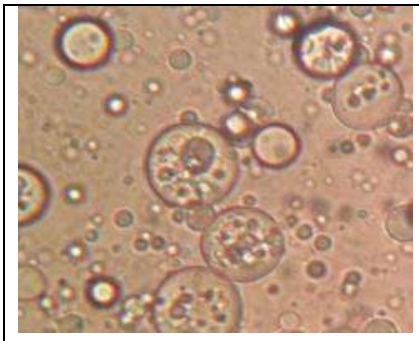


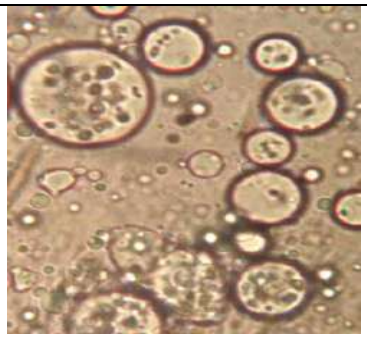
Figure III.15 : Aspect des émulsions multiples E/H/E préparées par le mélange CN-pectine (concentration de CN fixée) après 10 jours de stockage à T°=40°C.

* Etude microscopique:

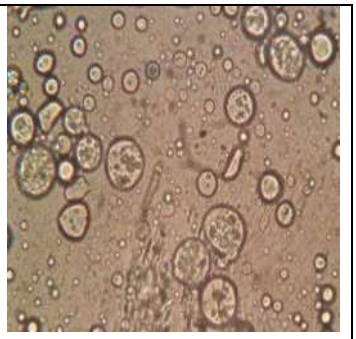
L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 1000 fois après la formulation. Pour une meilleure dispersion de l'émulsion, l'échantillon a été placé entre une lame et lamelle. Les vues microscopiques des formulations sont représentées la figure (III.16).



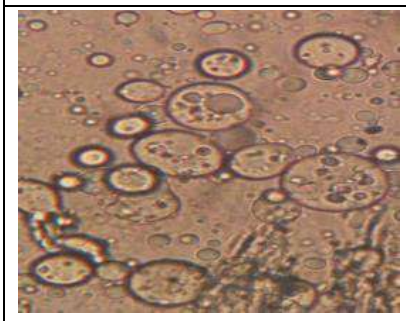
formulation N°1



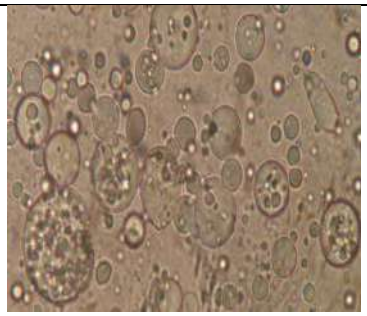
formulation N°2



formulation N°3



formulation N°4



formulation N°5

Figure III.16: Vues microscopiques des émulsions E/H/E préparé par le mélange CN-pectine

L'examen microscopique des différentes émulsions multiples montre bien la dispersion des globules internes avec une taille plus au moins homogène donc les émulsions obtenues sont des émulsions doubles E/H/E.

* Mesure de la viscosité:

Les mesures de la viscosité ont été réalisées par un viscosimètre de tige N°4 et à température ambiante à différente vitesse de cisaillement. Les résultats de mesures sont représentés sur la figure (III.17).

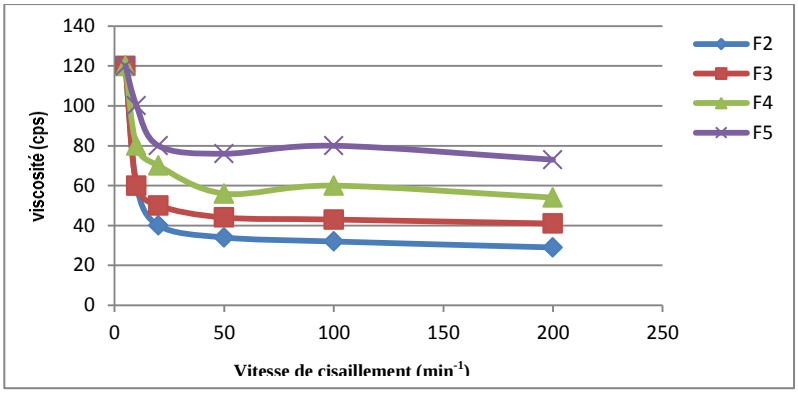


Figure III.17: Profil de variation de LA viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions multiples préparées par le mélange (CN-pectine).

Les résultats obtenus montrent que la viscosité apparente pour toutes les formulations diminue en fonction de la vitesse de cisaillement. De ce fait nous pouvons conclure que les deux émulsions obtenues sont de type fluide non newtonien d'un comportement pseudo-plastique (rhéofluidifiant).

L'examen de cette figure montre aussi que la viscosité des différentes formulations varie avec la variation de la concentration en pectine. On remarque que les formulations N° 4 et 5 préparées avec des concentrations importantes en pectine présentent des valeurs de viscosité supérieures que les autres formulations. L'augmentation de la viscosité de la phase contenue ralentie le mouvement des gouttelettes dispersées et par conséquent diminue la vitesse de crémage, et donne par conséquence une meilleure stabilité aux émulsions formulées. Cela justifié la bonne stabilité de ses deux formulations à 40 °C.

Conclusion:

On peut conclure que les émulsions E/H/E formulées par le mélange CN–pectine sont stables si la viscosité de la phase extérieure est grande. Cette viscosité est liée à la concentration de la pectine dans la phase dispersante. Donc Plus la phase contenue est visqueuse plus l'émulsion est stable.

4.2. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le procédé direct :

Ce procédé consiste à mélanger à température ambiante, la phase aqueuse qui contient un mélange de pectine et de CN et la phase huileuse qui contient le tensioactif lipophile, sous forte agitation 14000 tr/min pendant 2 minutes. Le pH de l'émulsion obtenue est

ajusté à 5 par une solution de HCl 0,1%. La composition des différentes émulsions multiples formulées sont donnés dans le tableau (III.10).

Tableau III.10: composition des différentes émulsions multiples E/H/E préparées par le mélange CN-pectine (procédé direct).

Composition	**N° de formulation**				
	DP1	DP2	DP3	DP4	DP5
Huiled'olive/ Span60	1/49	1/49	1/49	1/49	1/49
CN/pectine	1/2	1/2,5	1/3	1/3,5	1/4
Benzoate de sodium	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
Eau	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%
observation	H	H	H	H	H
Conductivité éléctrique (mS/cm)	2,32	2,73	3,32	2,49	3,17

H: homogène

4.2.1 Caractérisations physico-chimiques des émulsions multiples formulées:

* Etat macroscopique :

Les émulsions obtenues ont un aspect laiteux homogène. Les mesures conductévimétrique montre que la phase continue est de nature aqueuse, donc les émulsions obtenues sont des émulsions double de type E/H/E.

* Etude microscopies:

Les vues microscopie ont été réalisées par un microscope optique avec un agrandissement de 1000 fois. Les vues microscopiques des formulations sont réalisées directement après la préparation figure (III.18).

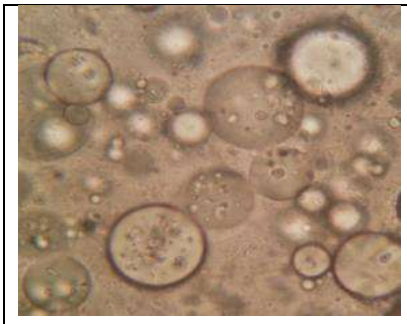
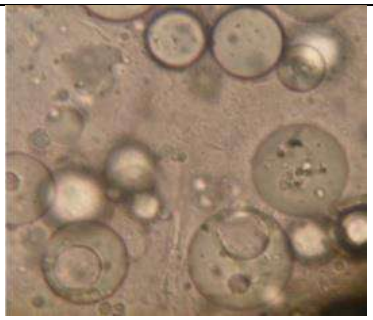
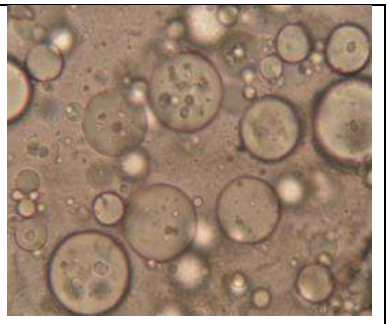
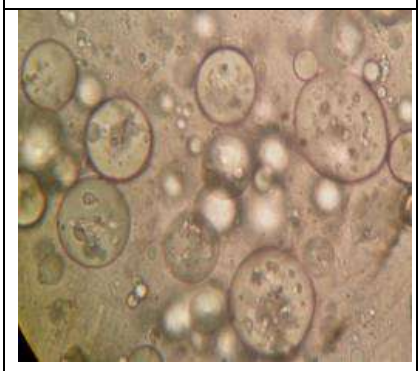
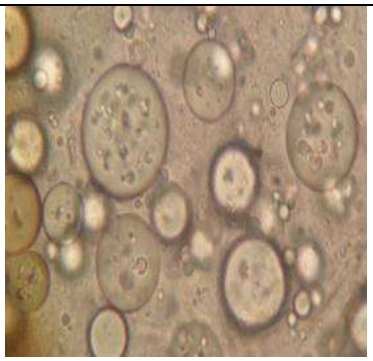
		
Formulation N°: 1	Formulation N°: 2	Formulation N°: 3
		
Formulation N°: 4	Formulation N°: 5	

Figure (III.18): Vues microscopiques des émulsions double E/H/E préparées par un mélange de CN – pectine (procédés direct).

L'examen microscopique des différentes émulsions multiples préparées par le procédé direct montre bien la dispersion des globules internes avec une taille plus au moins homogène donc les émulsions obtenues sont des émulsions doubles.

* Etude de stabilité accélérée à différentes températures de stockage:

Des échantillons de chaque formulation préparée ont étaient stockée à une température de 25 °C et 40 °C dans des tubes en verre bien fermé. L'aspect des émulsions après une semaine est représenté sur la figure (III.19).

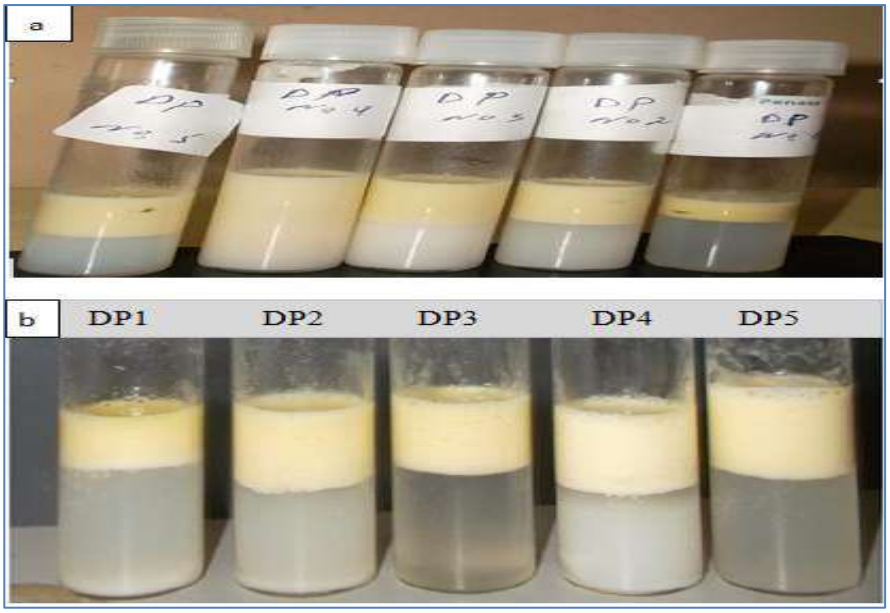


Figure III.19: Aspect des émulsions multiples préparées par un mélange de CN – pectine (procédés direct) après une semaine de stockage. a: T° = 25°C ; b: T°= 40°C

La figure au-dessus montre bien que les émulsions obtenues sont instable à T°=25 sauf que la formulation N° DP4. A T°= 40°C toutes les formulations sont instable après une semaine.

* Etude de la viscosité:

Les mesures de la viscosité ont été réalisées par un viscosimètre de tige SP4 à température ambiante directement après formulation. Les résultats de mesures sont représentés sur la figure (III.20).

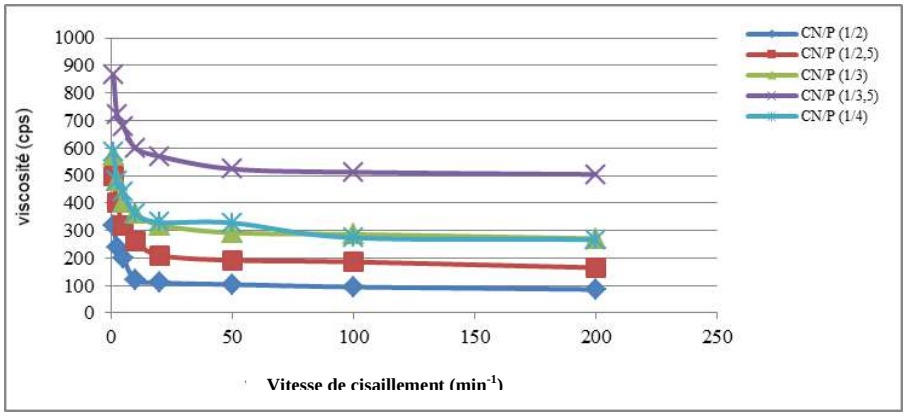


Figure III.20: Profil de variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement des émulsions multiples préparées par un mélange de CN – pectine (procédés direct)

D'après cette figure on remarque que la viscosité varie considérablement avec la variation de la concentration en pectine. Plus on augmente la concentration on pectine, plus la viscosité de l'émulsion augmente. La formulation DP4 est plus visqueux que les autres ce qui explique sa stabilité à 25°C pendant une semaine. Pour la formulation DP5 (CN-pectine = 1:4) est moins visqueuse malgré qu'elle a été préparé par une grande concentration en pectine, cela peut être due à une erreur de manipulation. Notant que les expériences ont été réalisées une seule fois à cause du manque des produits.

Conclusion:

Pour avoir une émulsion double E/H/E stable, il est préférable de travailler avec des concentrations importantes en polysaccharide. Il reste à faire varier la concentration en CN pour mieux comprendre son effet sur la stabilité de ces émulsions.

5. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le mélange CN-GX:

De nombreux chercheurs ont étudié les interactions entre le caséinate de sodium (CN) et la gomme xanthane (GX) dans une solution et à l'interface huile-eau (émulsion simple) en fonction de pH **[82,80]**. Actuellement ce mélange de biopolymère n'a pas été encore utilisé pour stabiliser les émulsions doubles E/H/E. C'est dans ce cadre-là et dans le but d'améliorer la stabilité des émulsions multiples E/H/E par le mélange de CN et de GX que cette étude a été réalisée.

Deux procédés de formulation ont été utilisés, le procédé direct et le procédé indirect dit par étape. L'effet de la concentration des différents constituants ainsi que l'effet du pH sur la stabilité des émulsions préparées ont été étudiés.

5.1. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le procédé indirect :

5.1.1. Formulation des émulsions multiples E/H/E à pH naturel:

Protocol expérimental:

Le procédé choisi pour faire ce type de formulation est le procédé en deux étapes, qui consiste à réaliser une première émulsion de type huile dans eau (E/H) à base de tension

actif lipophile qui sera elle-même encapsulée dans une phase aqueuse externe contenant un mélange de CN et de GX.

L'émulsion primaire ($E/H_{d'olive}$: 20% de l'huile d'olive, 3% Dehymuls) est additionnée peu à peu à la phase aqueuse externe contenant CN-GX pendant 20 mn à température ambiante. Le mélange est homogénéisé ensuite par un homogénéiseur à une vitesse de 8000 tr/min pendant 5 min._La composition des émulsions multiples préparées sont donnés dans le tableau (III.11).

Tableau III.11 : Composition des émulsions multiples E/H/E préparées par CN-GX à pH naturel.

Composition	N° de formulation								
	FX1	FX2	FX3	FX4	FX5	FX6	FX7	FX8	FX9
Emulsion primaire	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%
CN/GX	1/1	1/2	1/3	2/1	2/2	2/3	4/1	4/2	4/3
Benzoate sodium	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
Eau	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%
Observation	SP	H	H	H	H	H	H	H	H
PH	6,15	6,03	5,91	6,26	6,14	6,06	6,29	6,26	6,20
Conductivité (mS/cm)	1,95	1,97	2,22	1,83	1,82	1,79	1,75	1,99	2,31

SP: séparation de phase H: homogène

Caractérisations physico-chimiques des émulsions multiples E/H/E:

* Etat macroscopique :

Les émulsions obtenues sont des émulsions homogène caractérisées par un aspect laiteux et aqueux sauf la formulation N°1qui a présenté une séparation de phase après

quelque heure de sa préparation et cela peut être due à la faible concentration en CN et en GX.

Les émulsions N°2, 4, 7 et 5 sont caractérisées par une consistance moyenne classée selon l'ordre de concentration en XG. Pour les autres formules N°3, 6, 8 et 9, elles sont caractérisées par une consistance plus élevée à cause de la concentration importante en GX.



Figure III.21: Aspect des émulsions multiples préparées par CN-GX après formulation.

* Sens de l'émulsion :

Deux méthodes ont été utilisées pour connaitre la nature des émulsions formulées : la mesure de la conductivité électrique et la méthode par dilution.

Les résultats se mesure de la conductivité électrique (tableau : (III.10)) montrent que la conductivité de toutes les émulsions est élevée ce qui montre que la phase continue est une phase aqueuse.

Pour la méthode de dilution, une quantité de l'émulsion préparée a été introduite dans un tube à essai contenant de l'eau. Après un certain temps, nous avons remarqué une dispersion facile de l'émulsion dans l'eau ce qui confirme que la phase continue est aqueuse, ce test est réalisé pour toutes les formulations.

* Stabilité à la centrifugation :

Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 3000 tr/min pendant 5 minutes. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (III.12).

Tableau III.12: résultats des tests de centrifugation des émulsions E/H/E préparé par CN-GX à pH naturel.

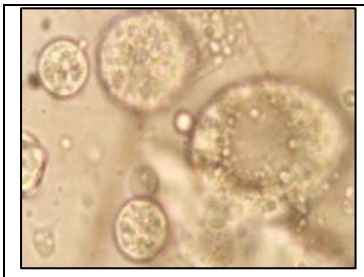
vitesses centrifugation	N° de formulation								
	FX1	FX2	FX3	FX4	FX5	FX6	FX7	FX8	FX9
1000 tr/min	-	+	+	-	+	+	-	+	+
2000 tr/min	-	+	+	- +	+	+	-	+	+
3000 tr/min	-	- +	+	-	+	+	-	+	+

-: Séparation ; - +: Légère séparation ; + : stable

L'analyse de ce tableau montre que les formulations N°1, 2, 4 et 7 sont instables à faible vitesse de centrifugation, par contre les autres formulations sont stables à différentes vitesses de centrifugation et cela peut être due à la concentration élevé en GX. La gomme de XG forme un réseau qui couvre toutes les gouttelettes des émulsions stabilisé par le CN est inhibe par cet effet le phénomène de floculation et crémage à certaine concentration.

* Examen de microscopie:

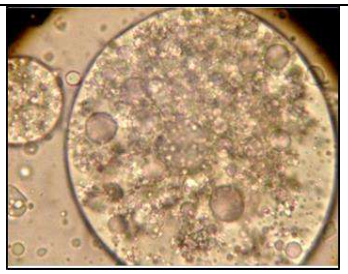
L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 1000 fois directement après formulation. Pour une meilleure dispersion de l'émulsion, l'échantillon a été placé entre une lame et lamelle. Les vues microscopiques des formulations sont représentées sur la figure (III.22).



Formulation N°: FX2

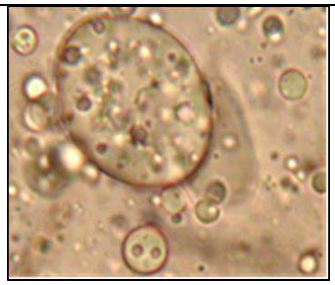


Formulation N°: FX3



formulation N°: FX5


Formulation N°: FX6


Formulation N°: FX8

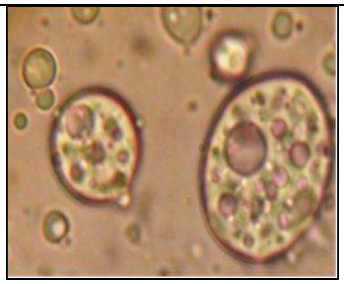

formulation N°: FX9

Figure III.22: Vues microscopiques des émulsions E/H/Epréparé par CN-GX à pH naturel.

L'examen microscopique montre que toutes les formulations sont des émulsions doubles bien charger en gouttelette d'eau à l'intérieure avec une taille plus ou moins homogène et un nombre de globule varié d'une formulation à l'autre.

∗ Etude de stabilité accélérée à différentes températures de stockage:

Des échantillons de chaque formulation ont été soumis à différentes températures de stockage4°C, 25°C et 40°C, pendant 20 jours. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (III.13).

Tableau III.13 : Stabilité à différente température des émulsions E/H/E préparées par CN-GX à pH naturel pendant 20 jours.

N° de formulation	Température de stockage		
	4°C	25°C	40°C
FX1	Crémage	Séparation de phase	Séparation de phase
FX2	stable	Crémage	Crémage
FX3	stable	stable	stable
FX4	stable	Séparation de phase	Séparation de phase
FX5	stable	Crémage	Séparation de phase
FX6	stable	stable	stable
FX7	crémage	Séparation de phase	Séparation de phase
FX8	stable	stable	Séparation de phase
FX9	stable	stable	stable

D'après ce tableau, nous remarquons que les formulations les plus stables sont les formulations qui étaient préparées par des concentrations élevées en XG (FX1, FX2 et FX3 par exemple), plus en augmente la concentration en XG plus l'émulsion préparée est stable. L'augmentation de la concentration en CN n'a pas un grand effet sur la stabilité des émulsions préparée (FX1, FX4 et FX7 par exemple).comme le montre la figure (III.23).

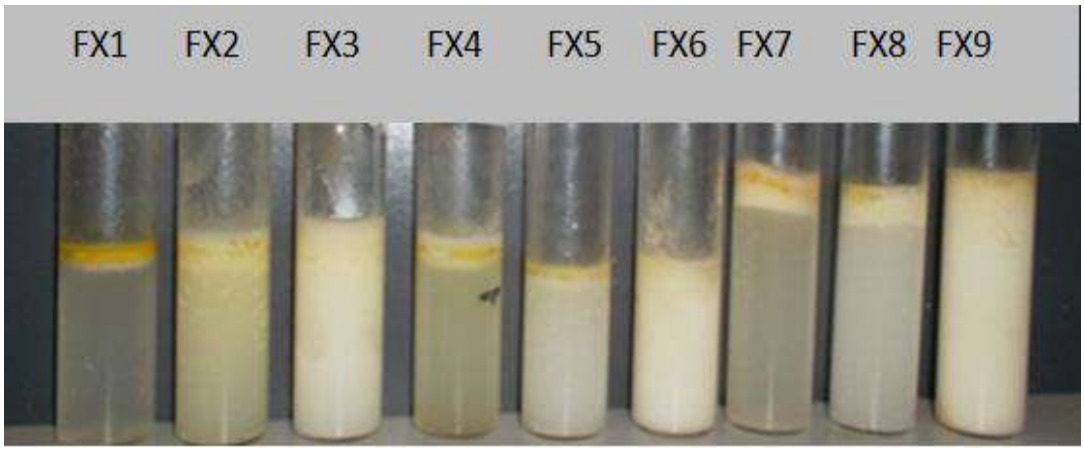


Figure III.23 : Aspect des émulsions multiples E/H/E préparées par CN- GX à pH naturel après 20 jours de stockage à T°=40°C.

* Mesure de la viscosité:

Les mesures de la viscosité est réaliser par un viscosimètre de tige N°6 et à température ambiante. Les résultats de cette mesure sont représentés sur la figure (III.24).

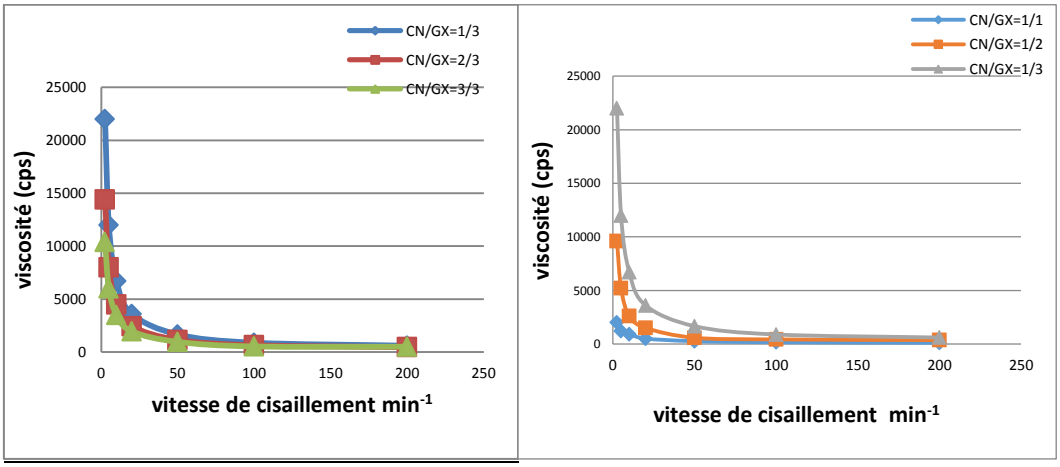


Figure III.24 : Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées par CN –GX à pH naturel.

Les résultats obtenus montrent que les courbes de la viscosité des trois émulsions préparées par une même concentration en GX et une concentration croissante en CN sont presque (effet faible sur la viscosité) identiques. Donc l'augmentation de la concentration en CN a peu d'influence sur la viscosité des émulsions préparées. Les courbes de viscosité des trois formulations préparées par une même concentration en CN et une concentration croissante en GX sont différentes, plus la concentration en CN augmente, plus la viscosité de l'émulsion est importante. En conclusion la viscosité de l'émulsion suit la viscosité de la phase extérieure qui est en fonction de la concentration en GX. La stabilité de ces trois formulations est du donc à la concentration importante en GX.

La viscosité apparente pour toutes les formulations diminue en fonction de la vitesse de cisaillement. De ce fait nous pouvons conclure que les émulsions obtenues sont de type fluide non newtonien d'un comportement pseudo-plastique (rhéofluidifiant).

5.1.2. Formulation des émulsions multiples E/H/E à pH = 5:

Protocol expérimental:

Il consiste à réaliser une première émulsion de type huile dans eau (E/H) à base de tension actif lipophile qui sera elle-même encapsulée dans une phase aqueuse externe contenant un mélange de CN et de la gomme de GX.

L'émulsion primaire ($E/H_{d'olive}$: 20% de l'huile d'olive, 3% Dehymuls) est additionnée peu à peu à la phase aqueuse externe contenant CN-GX sous faible agitation pendant 20 mn à température ambiante. Pour avoir une bonne stabilité de l'émulsion le pH des différentes émulsions est ajusté à 5 **[82,83]** par une solution de HCl 0,1%. Le mélange est homogénéisé ensuite par un homogénéiseur à une vitesse de 8000 tr/min pendant 5 min. La composition des émulsions multiples préparées sont donnés dans le tableau (III.14).

Tableau III.14: La composition des émulsions multiples E/H/E CN-GX préparés à PH=5.

Composition	N° de formulation								
	FX1	FX2	FX3	FX4	FX5	FX6	FX7	FX8	FX9
Emulsion primaire	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%
CN/XN	1/1	1/2	1/3	2/1	2/2	2/3	4/1	4/2	4/3
Benzoate sodium	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
eau	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%	QSP 100%
observation	H	H	H	H	H	H	H	H	H
PH	4,95	4,97	5,03	5,07	5,14	5,17	4,97	4,94	5,02
Conductivité électrique (mS/cm)	2,51	2,73	2,52	2,18	2,15	2,21	2,40	2,35	2,83

H: homogène

Caractérisations physico-chimiques des émulsions multiples E/H/E:

∗ Etat macroscopique :

Les émulsions obtenues ont toutes un aspect laiteux, homogène et aqueux d'une consistance variable. Ce sont des émulsions multiples de type E/H/E d'après les mesures de la conductivité électrique (Valeur importante de l'ordre du mS/cm).

∗ Stabilité à la centrifugation :

Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 3000 tr/ min, pendant 5 minutes. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (III.15).

Tableau III.15 : résultats de test de centrifugation des émulsions E/H/E préparées par CN-GX à pH 5.

vitesses centrifugation	N° de formulation								
	FX1	FX2	FX3	FX4	FX5	FX6	FX7	FX8	FX9
1000 tr/min	-+	+	+	+	+	+	+	+	+
2000 tr/min	-+	+	+	+	+	+	+	+	+
2000 tr/min	-	-+	+	-+	+	+	-+	+	+

- : Séparation; -+ : Légère séparation ; + : stable

* Etude de la stabilité accélérée à différentes températures de stockage:

Les différentes formulations ont été soumises à différentes températures de stockage 4°C, 25°C et 40°C, pendant 20 jours. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (III.16).

Tableau III.16 : Stabilité à différentes température des émulsions E/H/E préparées par CN-GX à pH 5

N° de formulatic	Températures de stockage		
	4°C	25°C	40°C
FX1	Crémage	Séparation de phase	Séparation de phase
FX2	stable	Crémage	Crémage
FX3	stable	stable	Stable
FX4	stable	Séparation de phase	crémage
FX5	stable	Crémage	Séparation de phase
FX6	stable	stable	stable
FX7	stable	stable	stable
FX8	stable	stable	Crémage
FX9	stable	stable	stable

A partir de ce tableau, nous remarquons que toutes les formulations sont stables à une température de 4 °C car la diminution de la température réduit les mouvements des gouttelettes et par conséquent empêche le phénomène de la floculation et du crémage. A des températures de 25 °C et de 40 °C, les formulations préparées avec des concentrations élevées en GX ont gardé une bonne stabilité (FX 3, FX6, FX9). L'augmentation de la concentration en CN influe également sur la stabilité des émulsions à pH 5 (FX1, FX4, FX7), comme le montre la figure (III.25).

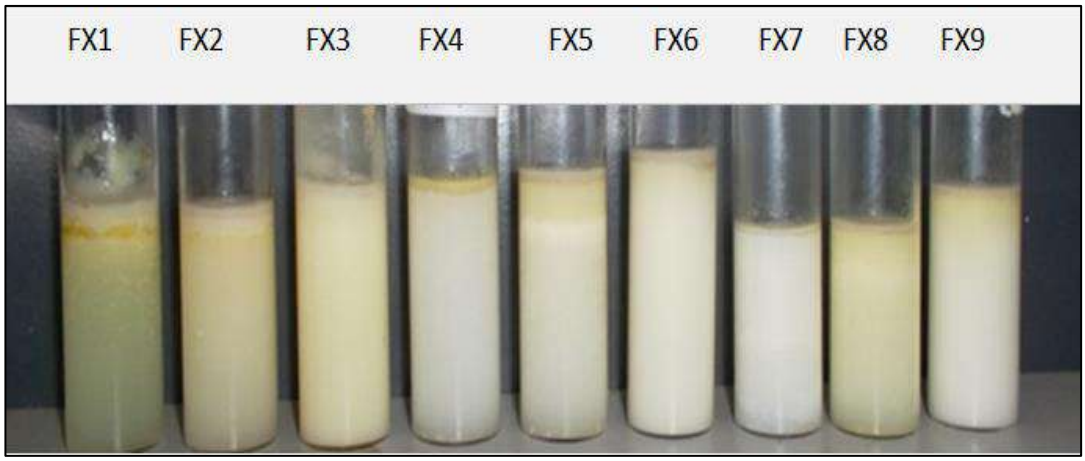


Figure III.25 : Aspect des émulsions multiples$E_1/H/E_2$ préparées par CN-XG à PH 5 après 20 jours de stockage à T°=40°C.

* Mesure de la viscosité:

Les mesures de la viscosité ont été réalisées par un viscosimètre de tige N°6 à température ambiante. Les résultats de mesures sont représentés sur la figure (III.26).

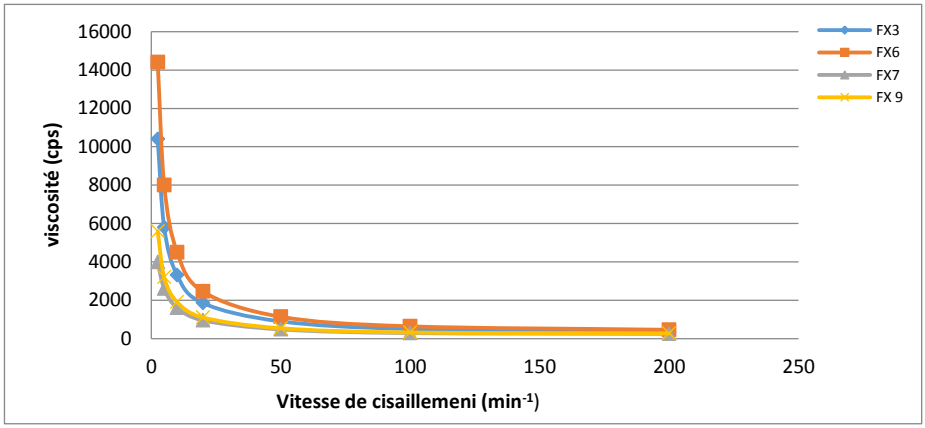


Figure III.26:Profil de variation de viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions multiples préparé par CN-GX à pH 5.

Les résultats obtenus montrent que la viscosité apparente pour toutes les formulations diminue en fonction de la vitesse de cisaillement. De ce fait nous pouvons conclure que les émulsions obtenues sont de type fluide non newtonien d'un comportement pseudo-plastique (rhéofluidifiant).

* Examen de microscopie:

L'examen microscopique a été toujours réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 1000 fois après la formulation à partie de 30 min. Pour une meilleure dispersion de l'émulsion, l'échantillon a été placé entre une lame et lamelle. Les vues microscopiques des formulations sont représentées dans la figure (III.27).

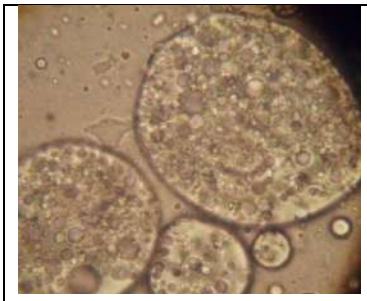
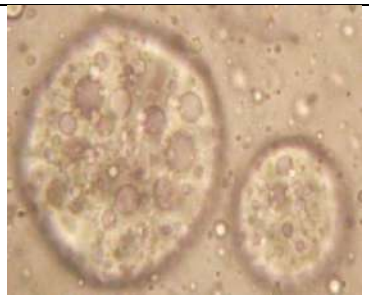
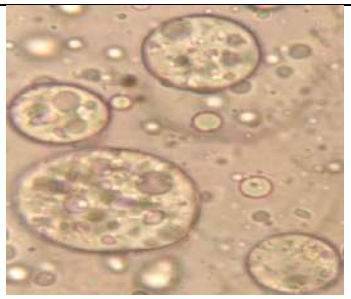
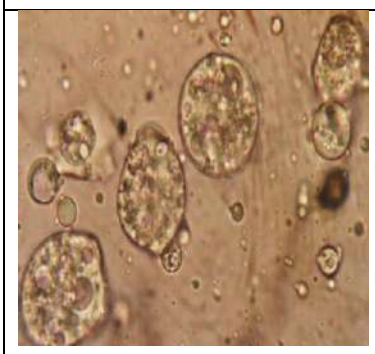
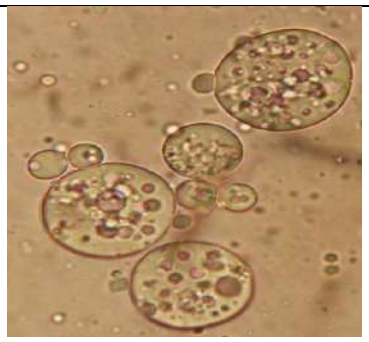
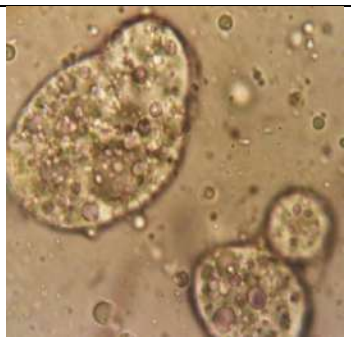
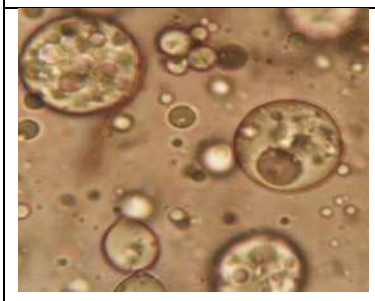
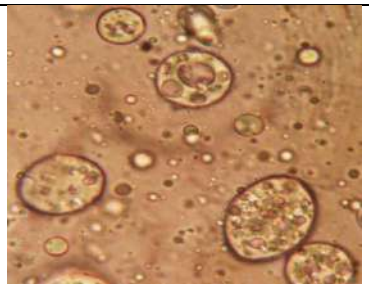
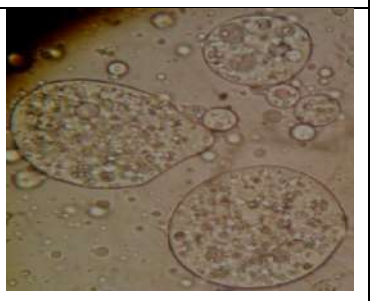
		
Formulation N°:1	Formulation N°:2	Formulation N°:3
		
Formulation N°:4	Formulation N°:5	Formulation N°:6
		
Formulation N°:7	Formulation N°:8	Formulation N°:9

Figure (III.27): Vues microscopiques des émulsions E/H/E préparées par CN-XG à PH 5

Conclusion:

A partir de cette étude on peut conclure que les émulsions doubles E/H/E préprées par le procédé indirect sont stables à pH 5 qu'à pH naturel. A pH 5 la protéine de caséinate de sodium s'adsorbée à interface huile-eau de la phase extérieure et forme un agrégat qui permet d'augmenté la rigidité du film interfacial, cette adsorption et influencée par la concentration en GX.

A pH naturel, l'adsorption du CN en présence du GX sur l'interface extérieure huile-eau est faible car la diffusion de CN sur le film interfaciale est faible à cause des interactions électrostatiques répulsives entre CN et GX (les deux sont chargés négativements).

Par contre à pH =5,la diffusion de CN est plu rapide puisque le GX favorise son adsorption sur le film interfaciale A ce pH le CN est faiblement chargé négativement (pH proche de son PI), alors que la GX est chargée négativement c'est à dire que le GX forme un complexe avec le CN (figure III.28) **[83]**. Dans ce cas, à faible concentration en GX (CN/GX : 4/1), les émulsions préparées étaient stable.

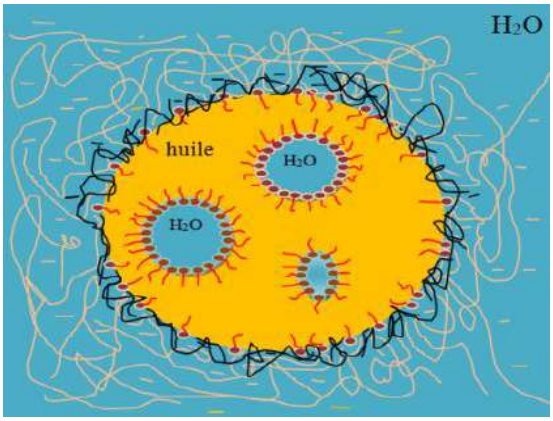


Figure III.28: schéma simplifie de phénomène de stabilisation des émulsions multiples E/H/E par CN-XG

5.2. Formulation des émulsions multiples E/H/E par le procédé direct :

5.2.1.Procédés de formulation:

Ce procédé, consiste à mélanger une quantité égale d'eau et d'huile contenant des tensioactifs. La phase aqueuse contient des concentrations faibles du mélange CN-GX et la phase huileuse contient une quantité appréciable de tensioactif lipophile (span 60). L'agitation à été réalisé à l'aide d'un homogéniseur Ultra Turrax T25 pendant deux minutes avec une vitesse de 13500 tr/min **[84].** La composition de la formulation N° FX7

du procédé indirect à été choisi pour étudier l'effet du pH sur la stabilité des émulsions. Le pH est ajusté par une solution de HCl diluée à 4, 4.5, 5, 5.5, 6 et 7.

5.2.2 Caractérisations physico-chimiques des émulsions multiples E/H/E:

* Etats macroscopique:

Toutes les émulsions obtenues ont un aspect laiteux, aqueux et homogène après formulation comme le montre la figure (III.28).

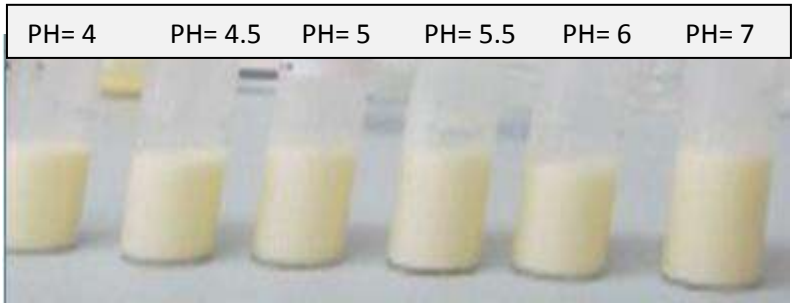


Figure III.28: Aspect des émulsions multiples directement après formulation.[CN-GX: 4/1]

Mesure de la conductivité électrique

Les mesures de la conductivité électrique des différentes émulsions préparées sont présentées dans le tableau (III.17).

Tableau III.17 : Valeurs des conductivités électriques de l'émulsion multiple CN-GX: 4/1 en fonction de pH.

Valeur de pH	4	4.5	5	5.5	6	7
Conductivité électrique (mS/cm)	1.9	1.53	1.55	1.33	1.41	1.14

Les mesures conductivimétriques présentent des valeurs élevées, ce qui montre que la phase continue est aqueuse donc il s'agit bien d'une émulsion direct E/H/E.

∗ Teste de centrifugation:

Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 3000 tr/ min, pendant 15 minutes. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (III.18).

Tableau III.18: résultats des test de centrifugation des émulsions E/H/E préparées par CN-XG[4/1] en fonction de pH.

Vitesses de centrifugation	Valeur de pH					
	pH= 4	pH= 4.5	pH=5	pH=5.5	pH=6	pH=7
1000 tr/min	-	+-	+	+	+	+
2000 tr/min	-	+-	+	+	+-	-
3000 tr/min	-	-	+	+	+-	-

- : Séparation; -+ : Légère séparation ; + : stable

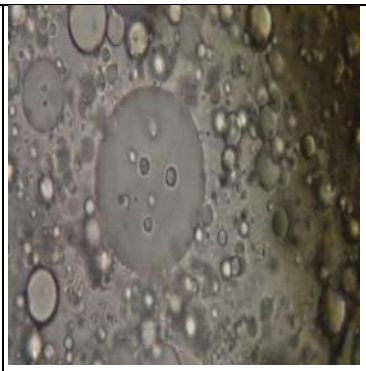
D'après ce test, les émulsions E/H/E sont instables à PH 4, 4.5, et 7 par contre à PH 5 et 5.5 les émulsions sont stables.

∗ Examen microscopique:

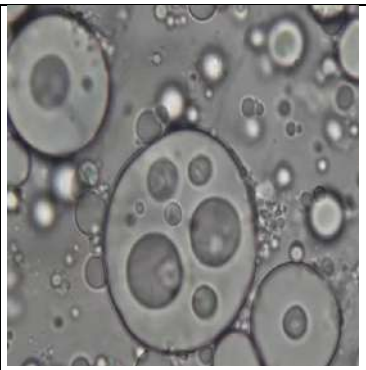
L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 1000 fois. Les vues microscopiques des formulations sont représentées dans la figure (III.29):



Formulation à pH= 4



Formulation à pH= 4,5



Formulation à pH=5

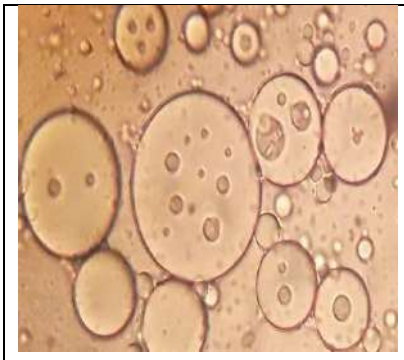
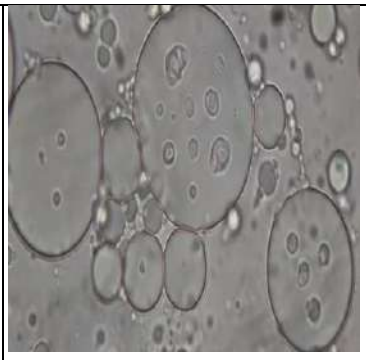
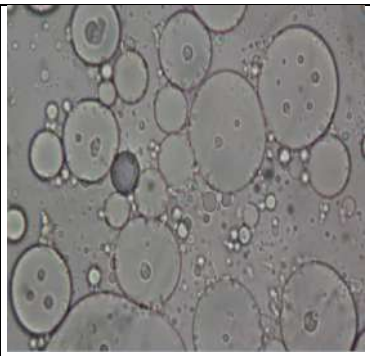
		
Formulation à pH=5,5	Formulation à pH=6	Formulation à pH=7

Figure III.29: Vues microscopiques des émulsions E/H/E préparées par CN-GX[4 :1] en fonction de pH.

L'examen microscopique montre que les émulsions obtenues sont des émulsions E/H/E, chargée à l'intérieure par des gouttelettes aqueuses.

* Etude de la stabilité accélérée à différentes températures de stockage:

Les différentes formulations ont été soumises à différentes températures de stockage 25°C et 40°C, pendant une semaine. L'état des émulsions après une semaine est représenté dans la figure (III.30).

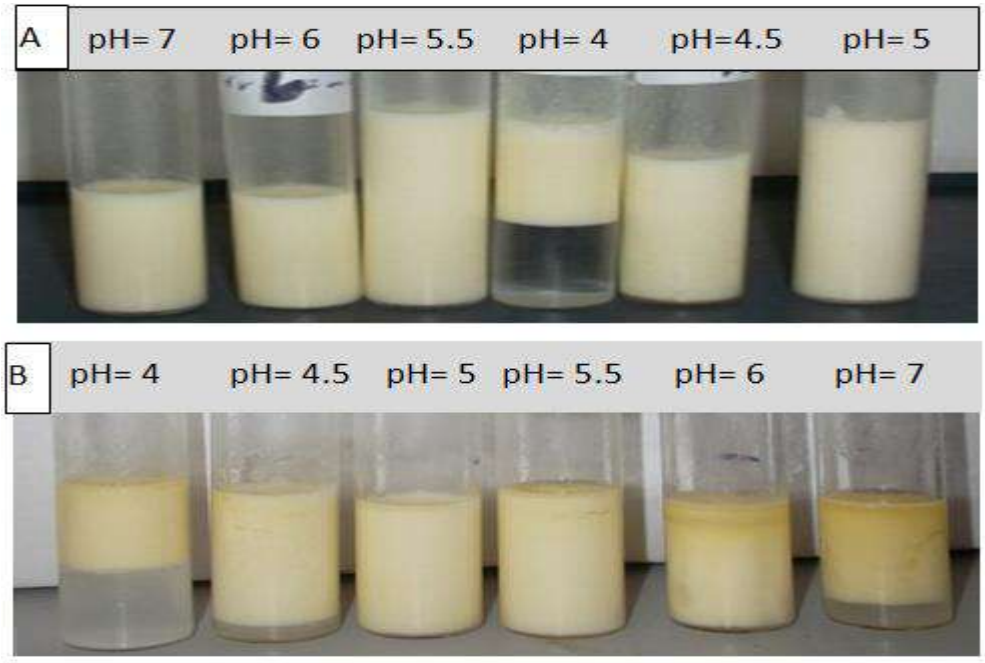


Figure III.30: l'aspect des émulsions multiples après une semaine de stockage.

[CN-GX: 4/1] A:T°= 25°C , B:T° =40°C

A partir de cette figure, ont remarqué que la stabilité des émulsions variée en fonction de pH. Pour la figure B, les émulsions E/H/E sont complètement séparées en deux phases à pH 4, 4.5 et 7. A pH= 6 la couleur de l'émulsion est devenue jaune, cela peu probablement être due au phénomène de crémage. Par contre à pH= 5 et 5.5, les émulsions ont gardé leur aspect laiteux homogène. Donc pour une meilleure stabilité des émulsions multiples préparées par le mélange CN/GX, il est préférable de travailler à un pH de 5 ou 5,5.

* Mesure de la viscosité:

Les mesures de la viscosité est réaliser par un viscosimètre de tige N°6 et à température ambiant. Les résultats de mesures sont représenté dans la figure (III.31).

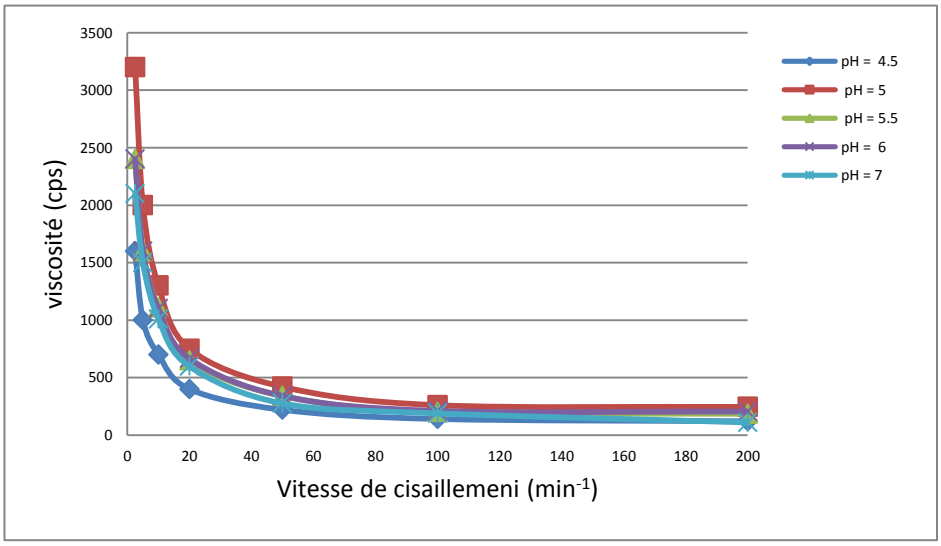


Figure III.31: Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions multiples préparées par CN-GX (4/1) en fonction de pH.

A partir de cette figure nous remarquons que les valeurs de la viscosité des émulsions varient en fonction du pH à différentes vitesses de cisaillement. La viscosité augment avec l'augmentation du pH jusqu'à pH 5, au-delà de cette valeur elle diminue à pH 5.5, 6 et 7. Ce résultat peut justifier la bonne stabilité de l'émulsion formulée à ce pH. L'augmentation de la viscosité de la phase contenue ralentie les mouvements des gouttelettes est par conséquent diminue la vitesse de crémage.

5.2.3. Conclusion:

D’après cette étude, on peut conclure que le pH des émulsions doubles préparées par un mélange de CN/GX a une grande influence sur la viscosité de ses émulsions et par conséquent sur leur stabilité. Cela peut être dû probablement au changement des charges autour des gouttelettes causé par le changement des charges des deux biopolymères qui s’adsorbe à l’interface eau/huile. A pH 5 l’émulsion multiple préparée à donner une valeur de viscosité importante et une meilleure stabilité à différente température de stockage et différente vitesse de centrifugation. Notant en plus que le procédé de formulation n’a pas une grande influence sur le pH optimale de la préparation des émulsions doubles, à pH 5 l'émulsion multiple E/H/E préparée par CN-GX est stable quel que soit le procédé de formulation direct ou indirect.

Conclusion Générale

L'étude de la stabilité des émulsions doubles à base des mélanges de protéines et de polysaccharides (CN/Pectine, CN/GX) et la mise en évidence des différents phénomènes d'instabilité reste une tâche difficile pour le chercheur. Cela nécessite des moyens de caractérisation plus poussés.

Dans le cadre de ce projet de fin d'études, la formulation des émulsions double ainsi que l'effet de différents facteurs pouvant influencé leur stabilité ont été abordé. Les facteurs retenus sont les concentrations de différents ingrédients, à savoir le caséinate, la gomme xanthane et la pectine, le pH ainsi que le procédé de formulation.

Pour ce faire, et selon une méthodologie bien déterminée, deux procédés de formulation ont été envisagés. Le premier concerne la formulation des émulsions par étapes, alors que le deuxième procédé est le procédé direct.

Les moyens de caractérisations des différents systèmes obtenus sont concrétisés par des études physico-chimiques, l'étude de viscosité, ainsi que les études microscopiques.

La première partie de l'étude expérimentale des propriétés physicochimiques des systèmes CN /Pectine a monté l'effet des concentrations des deux biopolymères sur les caractéristiques de leurs mélanges. Les résultats obtenus ont permets de sélectionner les meilleurs concentrations pour la formulation des émulsions doubles à base de ces deux biopolymères.

L'élaboration des émulsions multiples E/H/E à base de CN et pectine à pH 5 a montré que, plus la concentration de pectine augmente, plus la viscosité de l'émulsion augmente, d'autre part la viscosité influe directement sur la stabilité des émulsions. Il a été observé que la durée de stabilité croit en fonction de la concentration de pectine.

La deuxième partie de l'étude expérimentale à montrer qu'a pH 5 l'émulsion multiple préparée à base de CN et de GX à donner une valeur de viscosité importante et une meilleure stabilité à différente température de stockage et différente vitesse de centrifugation. A pH 5 l'émulsion multiple E/H/E préparée par CN-GX est stable quel que soit le procédé de formulation direct ou indirect.

Sachant que les émulsions multiples soient des systèmes très instables, cette étude a montré qu'il est possible de préparer des émulsions multiples stables pour une durée considérable.

En conclusion, les stabilités des émulsions obtenues ont pu être classées par ordre croissant, CN/GX > CN/Pectine.

A l'issue de cette étude, on peut faire les recommandations suivantes :

- Utiliser d'autres procédés de formulation.
- Utiliser d'autres moyens de caractérisation (étude rhéologique, microscopie électronique à balayage, zétamétrie…..) et cela pour mieux comprendre les interactions qui existent entre les constituants des émulsions multiples.

Références Bibliographiques

[1]:M .P .RODRIGUEZ ROJAS: Emulsification en cuve agitée, thèse de l'université l'institut national polytechnique de Toulouse, 2007.

[2]: CABANE BERNARD: liquides: solution, dispersion, émulsion, gels: [ch 15,p 240-243].édition dunod, paris, 2003.

[3]: M.RONDON GONZALAZ: inversion de phase d'émulsion induite per agitation, thèse de l'université l'institut national polytechnique de Loraine, 2007**.**

[4]: JEAN-LOUIS SALAGER: surf actifs : types et usages, cahier firp n° f300-a, université de los Andes, version 2 (2002).

[5]:A. BOUMENIR: effet de l'interaction des tensionactifs sur la stabilité d'une émulsion multiple. mémoire de C.U.médea -2002.

[6]: CHLOÉ GIARDI: synthèse de surf actifs à base de polyoxazoline propriétés physicochimiques et formulation, thèses de l'école nationale supérieure de chimie de Montpellier, 2011

[7]:M. TIR: traitement des émulsion d'huiles de couple par floculation-electroflottation et electro-floculation "étude comparative" mémoire magister de c.u.medea .

[8]:K.TEIXEIRA DA SILVA DE LA SALLES: approche thermodynamique et cinétique de l'extraction a deux phases aqueuses à l'aide de tension actif non ioniques, thèse de institut national polytechnique de Toulouse, 2004.

[9] : BANCROFT WD (1913): the theory of emulsification, journal of physical chemistry, vol. 17,pp. 501

[10]: OSCAR ALBERTO ALVAREZ SOLANO: émulsions inverses très concentrées influence du procédé et de la formulation sur leurs propriétés rhéologiques, thèse de l'institut national polytechnique de lorraine, 2006.

[11]:O DOUMEIX: Operations unitaires en génie biologique: les émulsion

[12]:R.KUMAR, M.S.KUMAR, N.MAHADEVAN: multiple emulsions: a review, international journal of recent advances in pharmaceutical research,2012

[13]:E.A.PARUTA TUARAZ: émulsion inverse très concentrées, thèses de l'université de l'institut national polytechnique de Loraine, 2010**;**

[14]:HANS MOLLET, ARNOLD GRUBENMANN: formulation technology: emulsion, suspensions, solid forms (chap 2, p 63) ;wiley-vch, 2001

[15]:GUADALUPE VACA MEDINA: élaboration des émulsions natives issues des graines oleoproteagineuses et transformation catalytique de la fraction lipidique en biolubrifiants ecolabellisables, thèse de institut national polytechnique de toulouse,2010;

[16]:K DJALLOUL: cours de pharmacie galénique tome I, Edition opu,1989.

[17]:A.BENKIAR: la formulation et la caractérisation physico-chimique et rheologique,c.u.medea,2002.

[18]:T.GUZUN: peroxydation des lipides émulsionnes et transfert d'ions de fer a l'interface huile/eau stabilisée par des protéines de lait : influence des résidus phosphates et de la stabilité de chelaté de fer: thèse de l'université université de bourgogne, 2010

[19]:É.BARDEZ: chimie générale p[93,94],éduction dunod, paris, 2009;

[20]:M.BONNET: libération contrôlée du magnésium par des émulsions doubles : impact de paramètres de formulation, thèse de l'université l'université bordeaux 1,2008;

[21]: S. ARDITTY: fabrication, stabilité et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales ,thèse de l'université bordeaux 1**,**2004**;**

[22]:H. FERSADOU: étude de la libération de principes actifs depuis les émulsions concentrées : caractérisation et modélisation, thèses de l'institut national polytechnique de lorraine, 2011;

[23]:J.M.G.ALVAREZ: étude de l'inversion de phase catastrophique lors de l'émulsification de produits visqueux, thèse de l'institut national polytechnique de lorraine, 2008;

[24]:T .D. DIMITROVA, T D. GURKOV, N VASSILEVA kinetics of cream formation by the mechanism of consolidation in flocculating emulsions, journal of colloid and interface science,2000

[25]:T.FELICIE: conception et mise en oeuvre d'un procédé intensifie continu de micro encapsulation par polycondensation interfaciale, thèse de institut national polytechnique de toulouse,2009;

[26]:M GIRARD: étude des propriétés d'émulsifiantes d'un complexe de protéines de lactosérum et de carboxyméthylceuulose, thèses de université Laval, 2000

[27]:D.N.PETSEV: emulsion: structure, stability and interactions [chap 09, p 353;354],elsevier,2004

[28]:F.THIVILLIERS: gels d'émulsions à base d'huiles cristallisables: mécanismes de formation et propriétés rhéologiques, thèses de l'université bordeaux 1,2007

[29]:H.MOUSSAOUI, F.GHEZAL: optimisation d'une émulsion huileuse en vue d'obtention d'une emulsion multiple a usage pharmaceutique, mémoire de Univ de Blida, 2004.

[30]:J.P.MARTY, R.GUY: les forme topic (chap 18, p466), edition londres, new york,1996

[31]:S.SEDDARI: formulation et caractérisation rhéologique d'une émulsion multiple a usage pharmaceutique, mémoire C.U. Yahia farés. Médéa, 2001

[32]:N. M.RASNANI, H. MIRHOSSEINI*, B. SHAM BIN. BAHARIN, CHIN P TAN: effect of pH on physicochemical properties and stability of sodium caseinate-pectin stabilized emulsion, *journal of food, agriculture & environment*,2011

[33]:S.FERARSA,H.BOUCHAABA: étude de la stabilité des émulsions multiples au moyen des mélanges proteines/biopolymeres, mémoire de Univ Yahia farés. Médéa, 2011

[34]:A. ASERIN: multiple emulsions :technology and applications, wiley-interscience, 2007

[35]:T. SCHMIDTS , D. DOBLER, C. NISSING, F. RUNKEL: influence of hydrophilic surfactants on the properties of multiple w/o/w emulsions,journal of colloid and interface science. elsevier,2009

[36]:A. KOVÁCS, I. CSÓKA, M. KÓNYA, E. CSÁNYI, A. FEHÉR AND I. ERS: structural analysis of *w/o/w* multiple emulsions by means of DSc, *journal of thermal analysis and calorimetry*,2005

[37]:L. VERMEIR: formulation and characterization aspects of low fat whipping cream by water/oil/water technology, memoire de Univ gent, 2011.

[38]:J.PORE: émulsion, microémulsions, émulsion multiple, éditeur : les éditions techniques des industries des corps gras[p 147],1992

[39]:N.GARTI AND C. BISPERINK: double emulsions: progress and applications. *current opinion in colloid & interface science, 3,* 657-667.1998

[40]:F. BENAISSA: émulsion multiple stabilisées par des hybrides de bio polymères naturels, mémoire de c.u. Yahia farès. Médéa, 2006

[41]: H.Y. LEEA, M.J. MCCARTHYB, AND S.R. DUNGANA: experimental characterization of emulsion formation and coalescence by nuclear magnetic resonance restricted diffusion techniques, jaocs, vol. 75, no. 4 (1998)

[42]: N. PIERAT : préparations d'émulsions par inversion de phase induite agitation, thèse de l'université université Henri Poincare- Nancy 2010.

[43]:A.KOVÀCS: structural evaluation of w/o/w multiple emulsions, these de univ: Szeged, 2007

[44]:J. ALLOUCHE: développement de nouvelles méthodes pour l'élaboration d'émulsions multiples eau/huile/eau, thèse de institut national polytechnique de lorraine,2003

[45]: NUNTACHAI HANPRAMUKKUN : development of multiple emulsions for drug stability enhancement, these de l'université silpakorn ,2009.

[46]: FLORENCE, A.T., AND D. WHITEHILL: the formulation and stability of multiple emulsions. international journal of pharmaceutics 11 (1982): p 277-308.

[47]:J. GUERY: émulsions doubles cristallisables: stabilité, encapsulation et relargage, thèse de l'université paris vi,2006.

[48]: ROSANO, H. L., F.G. GANDOLFO.,AND J.P. HIDROT: stability of $w_1/o/w_2$ multiple emulsions influence of ripening and interfacial interactions, colloids and surfaces a: physicochemical and engineering aspects 138 (109) : 1998

[49]:M. DE LUCA; P. ROCHA-FILHO, J.L. GROSSIORD,A. RABARON , C. : les émulsions multiples, international journal of cosmétique science,1991

[50]:F. COURNARIE, M.P. SAVELLI, V. ROSILIO, F. BRETEZ, CH.VAUTHIER, J.L GROSSIORD, M.SEILLER: insulin-loaded w/o/w multiple emulsions: comparison of the performances of systems prepared with medium-chain-triglycerides and fish oil, European journal of pharmaceutics and bio pharmaceutics. elsevier,2004

[51]:J.FRELICHOWSKA: émulsions stabilisées par des particules solides: études physico-chimiques et évaluation pour l'application cutanée, thèses de l'université de lyon,2009

[52]: NATHALIE JARROUX: les bio polymères : différentes familles, propriétés et applications; dossier techniques de l'ingénieur, am3580,2008.

[53]: RAM. A: fundamentals of polymer engineering, ed. plunumpression, new york 1997.

[54]: **MARIE-CLAUDE GENTÈS**: utilisation de complexes formes de pectine et d'isolat de protéines sériques dans la formulation de yogourts brasses, mémoire de l'université Laval Québec, 2007

[55]: ROLIN,C., NIELSEN, B.U. & GLAHN, R-E..:pectin. dans : dumitriu, s. *polysaccharides: structural diversity and functional versatility* (pp.377-431). new york : marcel dekker, inc. (1998)

[56]: VORAGEN, A.G.J., PILNIK, W., THIBEAULT, J.-F., AXELOS, M.A.V. & RENARD, C.M.G.C. pectins. dans : a.m. stephen, *food polysaccharides and their applications* (pp.287-339). new york : marcel dekker, inc. (1995).

[57]: MARIE-EVE BERTRAND: étude des propriétés gélifiantes et viscosifiantes de systèmes mixtes isolat de protéines de lactosérum polysaccharides en conditions associatives, thèse de université Laval Québec, 2008

[58]: PELLETIER, E., VIEBKE, C., MEADOWS, J. & WILLIAMS, P.S: a rheological study of the order-disorder conformational transition of xanthane gum. *biopolymers*, 59, 339- 346. (2001).

[59]:GAUCHERON, F. (2003): minéraux et produits laitiers. *éditions tec & doc*, p.56-61 et p.83-85.

[60]:ELEONORE .B, GHOZLENE .M, VERONIQUE .R,J.L.GROSSIORD, F. AGNELYA: proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field, international journal of pharmaceutics 436 (2012) 359– 378

[61]:DICHINSON. E: les colloïdes alimentaires, série sciences de l'ingénieur, collection industries alimentaires et biologiques, ed. masson, paris, 1996.

[62]: HORNE, D. S: encyclopedia of dairy sciences, 1902-1909. milk proteins. caseins, micellar structure.(2004).

[63]:DICKINSON, E: structure formation in casein-based gels, foams, and emulsions. *colloids and surfaces a: physicochemical and engeneering aspects*, 288(1-3), 3-11. (2006).

[64]:HADJSADOK, A., PITKOWSKI, A., BENYAHIA, L., NICOLAI, T. & MOULAI-MOSTEFA, N: characterisation of sodium caseinate as a function of ionic strength, ph and temperature using static and dynamic light scattering, *food hydrocolloïds*, **22**, 1460-1466. (2008)

[65]:PITKOWSKI, A., DURAND, D. & NICOLAI, T: structure and dynamical mechanical properties of suspensions of sodium caseinate, *journal of colloid and interface science*, **326**, 96-102. (2008)

[66]:MERVEILLE CLAY. N: Etude structurale et rhéologique des systèmes mixtes caseinates/carraghenanes, thèse de *université du Maine*, 2011

[67]: L. GHERAIRI: Etude de l'effet de la température sur la stabilité des émulsions à base de caseinate de sodium à l'aide des plans d'expériences, mémoire de université kasdi Marbach Ouargla. 2011

[68]:SU J , FLANAGAN J , HEMAR Y , SINGH H: synergistic effects of polyglycerol ester of polyricinoleic acid and sodium caseinate on the stabilisation of water - oil – water emulsions . *food hydrocolloids* 20 : 261 – 268.2006 .

[69]:DICKINSON E , EVISON J , OWUSU RK , WILLIAMS A: protein stabilized water - in - oil - water emulsions . in: gums and stabilizers for the food industry , vol. 7, phillips go , williams pa , wedlock dj , eds. oxford : irl oxford university press , pp 91 – 101 . 1994 .

[70]:FLORENCE AT , WHITEHILL D: stability and stabilization of water - in - oil - in - water multiple emulsion . in: macro - and microemulsions: theory and application , shah do, ed. acs symp. ser. washington, dc : american chemical society , pp 359 – 380, 1985 .

[71]:KANOUNI M , ROSANO HL , NAOULI N: preparation of a stable double emulsion (*w*1 / *o/w*2): role of the interfacial films on the stability of the system . *colloid interface* 99 : 229 – 254 , 2002 .

[72]: DAVID LACHKAR: développement d'une nouvelle approche technologique pour le fractionnement du colostrum bovin, thèse de université Laval Québec, 2009

[73]: ALISON MATALANIS, OWEN GRIFFITH JONES, DAVID JULIAN MCCLEMENTS: structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds, food hydrocolloids 25 (2011) 1865-1880

[74]: KOUADIO GERARD BEDIE: microencapsulation de composes nutraceutiques dans des complexes proteines-polysaccharides, these de universite laval quebec, 2008

[**75]: TURGEON, S.L., BEAULIEU, M., SCHMITT, C., SANCHEZ, S:** protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects, current opinion colloid & interface science, 8: 401-414.2003

[76]: REDIGUIERI C.F., DE FREITAS O., LETTINGA M.P.. TUINIER R: thermodynamic incompatibility and complex formation in pectin/caseinate mixtures. *biomacromolecules* 8(11):3345-3354. (2007)

[77]: SURHJ., DECKER E.A., MCCLEMENTS D.J: influence of pH and pectin type on properties and stability of sodium-caseinate stabilized oil-in-water emulsions. *food hydrocolloids* 20(5):607-618.(2006)

[78]:DICKINSON E., SEMENOVA M.G., ANTIPOVA A.S: salt stability of casein emulsions. *food hydrocolloids* 12:227-235. (1998)

[79]:JeongheeSurh, Eric A. Decker, D. Julian McClements: influence of pH and pectin type on properties and stability of sodium-caseinate stabilized oil-in-water emulsions, food hydrocolloids 20. 607–618.(2006)

[80]:LIYA LIU, QIANGZHONG ZHAO, TONGXUN LIU, ZHAO LONG, JING KONG, MOUMING ZHAO: sodium caseinate/xanthan gum interactions in aqueous solution: effect on protein adsorption at the oile water interface , food hydrocolloids 27. 339-346. (2012)

[81]: ZHAO LONG, QIANGZHONG ZHAO, TONGXUN LIU, WANMEI KUANG, JUCAI XU, MOUMING ZHAO: influence of xanthan gum on physical characteristics of sodium caseinate solutions and emulsions , food hydrocolloids 32.123-129. (2013)**.**

[82]:HEMAR, Y., TAMEHANA, M., MUNRO, P. A., & SINGH, H: influence of xanthan gum on the formation and stability of sodium caseinate oil-in-water emulsions. food hydrocolloids, 15, 513-519. (2001a)

[83]: KOBORI, T., MATSUMOTO, A., & SUGIYAMA, S: pH-dependent interaction between sodium caseinate and xanthan gum. carbohydrate polymers, 75, 719-723. (2009).

[84]:LIANGZHI HONG,GUANQING SUN,JINGE CAI,TO NGAI: one-step formation of w/o/w multiple emulsions stabilized by single amphiphilic block copolymers. langmuir , 28, 2332−2336.(2012)

[85]:NEGAR MOHAMMADIAN RASNANI, HAMED MIRHOSSEINI, BADLISHAH SHAM BIN BAHARIN AND CHIN PING TAN: effect of pH on physicochemical properties and stability of sodium caseinate-pectin stabilized emulsion. journal of food, agriculture & environment vol.9 (1): 1 2 9 - 1 3 5 . (2 0 1 1)