REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique.

UNIVERSITE Dr. YAHIA FARES DE MEDEA.

Faculté des Sciences et de la Technologie.

Département du Génie des Procédés et

Environnement

Mémoire de Fin d'Etude pour l'obtention du diplôme de Master
En Génie des Procédés

Option : *Procédés Pharmaceutiques*

Thème:

Etude des interactions protéine/polysaccharide dans une solution aqueuse et à l'interface huile-eau

Proposée et Dirigée par :

-Mme : SEDDARI.S

Etudiées par :

-MOUAZ HABIBA

-MAKHLOUF ZEYNEB

Promotion 2013-2014

Remerciements

Au terme de ce travail,

Nous tiens, en premier lieu à remercie Allah La source de toute connaissance qui nous a offert la volonté et la patience pour accomplir ce travail.

Nous remercions sincèrement notre promotrice Mme Seddari .s pour tous ses encouragements et sa serviabilité qui nous a supervisées pendant ce mémoire.

Nous exprimons tous nos 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

Nos hautes considérations à tous les membres du jury. Pour avoir accepté de Juger ce travail.

Le grand remerciement nous le gardons pour nos parents qui ont toujours veillés sur nous et sur notre avenir.

En fin que toute personne qui de prés ou de loin a attribué à l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de notre profonde sympathie.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire : A ***ma mère*** *qui m'a éclairée.*

A ***mon père*** *mon professeur de toujours qui m'a encouragé.*

A mes très chers frères : ***Mahfoud*** *et* ***Abed El Kader****.*

A ma adorable sœur : ***Nadia****, et bien sur ma chère binôme* ***zeyneb.***

A mes chères amies: ***Rachida, Ghania, Hadjira, Ahlem, Fouzia*** *et* ***Khalida*** *qui ont passé avec moi de bons moments.*

A mes proches et à toute ma famille.

À toutes les personnes qui connaissent ***Habiba*** *de prés ou de loin.*

Habiba



Dédicaces

Avec toute sincérité et modestie, et à la fin de ma formation, je tiens à dédier ce modeste Travail à :

Mes plus grands amours après Allah et son prophète, Aux prunelles de mes yeux.

A la mémoire mon cher père

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

*Qui nous a quitte lissant une blessure profonde dans nos ceours qui ne cicatrisera jamais *A Dieu nous appartenant et luis nous retournent**

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.

Mes chers frères : ***Amar, Abd el Kader et Hamza.***

Mes chères sœurs: ***Cherifa, Zahra, fatena, massouda et Souad.***

Et bien sur mon binôme : ***HABIBA.***

A mes chères amies: ***Dallel, Hayet, Khalida, Hadjira, Nadjat et Amina.*** *Ainsi que tout ma famille*

A tous qui mon aider de prés ou de loin même d'un mot d'encouragement.

Sans oublier toutes la promotion de Master procédé Pharmaceutique 2014.

Zeyneb

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التفاعلات البروتين /متعدد السكريات في محلول وعلى واجهة زيت-ماء. البوليمرات الحيوية التي تم دراستها هي :كازينات الصوديوم (CN)، صمغ الايكزنتان (GX) والبكتين (P) وقد تباينت مجموع تراكيز كتلة البوليمرات الحيوية في محلول أو في مستحلب وفقا لاستقرار المستحلبات في درجة الحموضة الطبيعية ودرجة الحموضة 5 .تتبعنا هذا الاستقرار من خلال دراسة الناقلية ، قياس الضغط السطحي و اللزوجة الظاهرية. أجريت دراسة استقرار المستحلبات لمدة 40 يوما تم الحصول عليها في ترتيب تصاعدي، CN / GX> CN / P> P / GX النتائج التي تم الحصول عليها تظهر أنه من الممكن جعل المستحلبات البسيطة زيت- ماء أو المستحلبات المتعددة زيت-ماء-زيت مستقرة باستخدام مزيج من السكاريد أو السكاريد والبروتين.

كلمات البحث :التفاعل، والبروتين، متعدد السكريات، كازينات الصوديوم، صمغ الاكزنتان ، البكتين، الاستقرار مستحلب الناقلية الضغط السطحية اللزوجة .

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier les interactions protéine/polysaccharide dans une solution et à l'interface Huile-Eau. Les biopolymères étudiés sont : la caséinate de sodium (CN), la gomme xanthane (GX) et la pectine (P). Les concentrations massiques totales des biopolymères dans une solution ou dans une émulsion ont été variées selon la stabilité des mélanges ou des émulsions H/E et cela à pH naturel et à pH5. Cette stabilité était suivie par conductimètrie, tensiométrie et par mesure de la viscosité apparente. L'étude de la stabilité des émulsions a été menée pendant 40 jours. Les stabilités obtenues ont pu être classées par ordre croissant, CN/GX > CN/P> P/GX. Les résultats obtenue montre qu'il est possible de formulés des émulsions H/E simple ou multiple H/E/H stable en utilisant un mélange de polysaccharide ou d'un polysaccharide et une protéine.

Mots clés: interaction, protéine, polysaccharide, caséinate de sodium, gomme xanthane, pectine, émulsion, stabilités, conductémétrie, tensiométrie, viscosité.

Abstract

The objective of this work is to study the protein / polysaccharide interactions in solution and in oil-water interface. Biopolymers studied are: sodium caseinate (CN), xanthan gum (GX) and pectin (P). The total mass concentration of biopolymer in solution or in emulsion has been varied according to the stability of the emulsions or mixtures of O/W and that at natural pH and pH 5. This stability was followed by conductivity, tensiometry and by measuring the apparent viscosity. The study of the stability of the emulsions was carried out for 40 days. Stabilities have been obtained in ascending order, CN / GX> CN / P> P / GX. The results obtained show that it is possible to make the O / W emulsions or multiple single O / W / H using a stable mixture of polysaccharide or polysaccharide and a protein.

Keywords: interaction, protein, polysaccharide, sodium caseinate, xanthan gum, pectin, emulsion stabilities conductémétrie, tensiometry, viscosity.

Sommaire

Introduction générale…….....…….…. 1

Chapitre I : Les émulsions.

I .Introduction…….…. 2

II. Les tensioactifs……..…..…… 2

II.1. Définition……..... 2

II.2. Structure des surfactants……..…..…..... 2

II. 3. Classification des surfactant……..……..…. 3

II. 4. Propriétés des surfactants……..……..…. 3

II. 5. Caractérisation des surfactants……...……. 4

II.5.1. La concentration micellaire critique…… 4

II.5.2. Balances lipophile hydrophile (HLB)……..… 5

II.5.3. La solubilisation des tensioactifs……...…... 6

II.5.4. Le point Kraft……..... 6

II.5.5. Le point de trouble des tensioactifs……..... 6

III. Les émulsions…… 7

III.1.Définition…… 7

III.2.Types d'émulsions…… 7

III.3.Formulation des émulsions…… 8

III.3.1.Choix de type le mieux adapté…… 8

III.3.2.Choix de l'agent émulsionnant……. 8

III.3.3.Préparation d'émulsion simple…… 9

III.3.4.Caractérisation…….. 10

IV .Application des émulsions……. 12

VI.1.Domaine pharmaceutique……... 12

VI.2.Cosmétique…… 12

VI.3.Agro-alimentaire…….. 12

VI.4.Domaine Industrielle……..... 13

V. Conclusion……. 13

Chapitre II : Les biopolymère.

I. Introduction……. 14

II. Les biopolymère…….. 14

II.1. Définition……. 14

II.2. Les différents types de biopolymères……... 14

II.3. Utilisation…… 15

III. Les biopolymères étudiées…… 15

III. 1. Caséinate de sodium……. 15

III.1.1. Structure…… 16

III.1. 2. Caractéristiques…… 17

III.1.3. Utilisation…….. 17

III. 2. Pectine…… 18

III.2. 1. Structure……... 18

III.2. 2. Caractéristiques physico-chimiques……. 19

III.2. 3. Caractéristiques en solution…… 19

III. 3. Gomme xanthane……... 19

III.3. 1. Structure…….. 20

III.3. 2. Propriétés physico-chimiques……. 20

III.3. 3. Utilisation…… 20

IV. Nature des interactions dans mélanges polyccharide protéine…… 21

IV.1. Mécanismes……..... 21

IV.1.1. Co-solubilité…….. 21

IV.1.2. Séparation de phase ségrégative……..... 22

IV.1.3.Co-agrigation…… 22

IV. 2. Nature des interactions leur de l'incompatibilité thermodynamique..... 23

IV.3. Facteur influençant la nature des complexes formés…… 23

IV.3. 1. Charge des macromolécules…….. 24

IV.3. 2. Nature des polysaccharides…….. 25

IV.3. 3. Poids moléculaire du polysaccharide…… 25

IV.3.4. Le pH……..… 25

IV.3. 5. La force ionique……..... 25

IV.3. 6. Le ration protéine/ polysaccharides……... 26

IV.3.7. Le condition de milieu……..….. 26

IV. 4. Interaction protéine/polysaccharide…….……... 26

IV.4.1. Interaction protéines-polysaccharide dans un milieu aqueux 26

IV.4.2. Dans les émulsions……..……. 28

IV.4.3. Propriétés émulsifiant et stabilisantes des protéines et des polysaccharides ……..….. 29

IV.4.4. Le système caséinate de sodium-pectine…….……... 29

IV.4.5. Le système caséinate de sodium-xanthane……...……..… 30

V. Stabilité d'émulsion par les biopolyméres……..……... 31

V.1. Emulsion multiple stabilisée par des protéines……..…….. 31.

V.2. Les émulsions multiples stabilisées par les hydrocolloïdes..…..…….... 32

V.3. Emulsion multiple stabilisée par hybrides de protéine et d'hydrocolloïde 32

VI. Conclusion…….…….... 33

Chapitre III : Etude expérimentale.

I. 1. Introduction……...……...…… 34

I.2. Matériel et produits utilisé……..……..... 34

I.2.1. Matériel utilisée…….…… 34

I.2.2. Produit utilisée……..….. 36

I.3. Etude physico-chimique des mélanges (CN/P), (CN/GX) et (P/GX)……..…. 37

I.3.1. Préparation des solutions de biopolymére……. 37

I.3.2. Etude de solution de caséinate…….**.....** 39

I.3.2.1. Mesure de la conductivité……... 39

I.3.2.2. Mesure la tension superficielle……...… 40

I.3.2.3. Mesure de la viscosité……. 41

I.3.3. Etude de solution de pectine…….. 41

I.3.3.1. Mesure la conductivité…….. 41

I.3.3.2. Mesure la tension superficielle de pectine…….…… 42

I.3.4. Etude de solution de GX……. 42

I.3.4.1. Mesure de la conductivité électrique…… 42

I.3.4.2. Mesure de la tension superficielle de pectine…….. 43

I.3.5. Etude des mélanges (CN/P)……..….. 44

I.3.5.1. Mesure de la conductivité des mélanges (CN/P)……. 44

I.3.5.2. Mesure de la tension superficielle des mélanges (CN/P)……**....** 45

I.3.5.3.mesure de la viscosité des mélanges (CN/P)…….….. 47

I.3.6. Etude des mélanges (CN/GX)……**...** 49

I.3.6.1. Mesure de la conductivité électrique…….. 49

I.3.6.2. Mesure de la tension superficielle…….. 50

I.3.6.3. Mesure de la viscosité des mélanges (CN/GX)…….. 51

I.3.7. Etude des mélanges (P/GX)…… 51

I.3.7.1. Mesure de la conductivité électrique…….. 53

I.3.7.2. Mesure de la tension superficielle (P/GX)…….……. 53

I.3.7.3. Etude de la viscosité (P/GX)…….…….. 54

I.4. conclusion……. 55

II. Formulation des émulsions primaire de type H/E…….. 55

II.1. Protocole expérimental…… 55

II.2. Les émulsions à base de (CN/P)…….. 55

II.2.1.caractérisation physico- chimique des émulsions primaire formulées…..... 56

II.3. Les émulsions à base de (CN/GX)…… 65

II.3.1.caractérisation physico- chimique des émulsions primaire formulées…..... 65

II.4. Les émulsions à bas (P/GX)……... 72

II.4.1.caractérisation physico- chimique des émulsions primaire formulées…….. 73

II.5.conclusion……... 77

III. Formulation des émulsions multiples H/E/H par le procédé indirect…… 78

III.1.caractérisation physico- chimique des émulsions primaire formulées……..... 78

III.2.conclusion…….. 81

Conclusion générale……. 83

Référence bibliographique.

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE I : LES TANSIOACTIFES

Figure I.1. La schématisation classique des tensioactifs……. 3

Figure I.2. Propriétés physico-chimiques des tensioactifs…….……. 5

Figure I.3. Les deux types d'émulsion simple……. 7

CHPITER II : LES MELANGES DE BIOPOLYMERE

Figure II.1. Liaisons à l'intérieur de la micelle de caséine…….…… 16

Figure II.2. Modèle de la micelle de caséine…….……. 16

Figure II.3. Chaîne principale d'une molécule de pectine…….……. 18

Figure II.4. Structure primaire de la gomme xanthane……...…… 20

Figure II. 5. Différentes situations de mélanges polysaccharides - protéines dans de l'eau..... 22

Figure II.6. Mécanisme de l'interaction de déplétion……. 23

CHPITRE III : ETUDE EXPERIMENTALE

Figure III.1.Aspect de solution de P à 2%..... 38

Figure III.2. Aspect de quelques solutions de (CN/P) à pH5……

Figure III.3. Variation de la conductivité en fonction de la concentration en CN à pH naturel et à pH5…… 39

Figure III.4. La variation de la tension superficielle de CN à pH naturel et à pH5…….... 40

Figure III.5. Conductivité de pectine à pH naturel et à pH5…….....… 41

Figure III.6.Tension superficielle de P à pH naturel et à pH5……..… 42

Figure III.7. Conductivité de GX à pH naturel et à pH5……. 43

Figure III.8. La variation de la tension superficielle de GX à pH naturel et à pH5…..... 43

Figure III.9. Conductivité de CN en présence de pectine à pH naturel…….....…… 44

Figure III.10.Conductivité de CN en présence de pectine à pH5……. 45

Figure III.11.Tension superficielle du mélange (CN/P) à pH naturel……. 46

Figure III.12.Tension superficielle du mélange (CN/P) à pH5……... 46

Figure III.13. Effet de la concentration en CN et en pectine sur la viscosité de leur mélange à pH naturel ……. 48

Figure III.14. Effet de la concentration en CN et en pectine sur la viscosité de leur mélange à pH5…….. 48

Figure III.15.La Conductivité de CN en présence de GX à pH naturel…… 49

Figure III.16.La Conductivité de CN en présence de GX à pH5……..……... 49

Figure III.17.Tension superficielle de CN à pH naturel……... 50

Figure III.18. Tension superficielle du mélange (CN/GX) à pH5……... 51

Figure III.19. Effet de la concentration en CN et en GX sur la viscosité de leur mélange à pH naturel……. 52

Figure III.20.Effet de la concentration en CN et en GX sur la viscosité de leur mélange à pH……. 52

Figure III.21.La Conductivité de pectine en présence de GX à pH naturel……. 53

Figure III.22. Tension de surface de pectine en présence de GX à pH naturel……..…... 54

Figure III.23. La viscosité de P en présence de GX à pH naturel…… 54

Figure III.24. Aspect des émulsions H/E à base de (CN/P) après 4H à pH naturel et pH5 57

Figure III.25.Vues microscopiques des émulsions H/E préparé à base de (CN/P) à pH naturel……... 57

Figure III.26.Vues microscopiques des émulsions H/E préparées par (CN/P) à pH5……. 58

Figure III.27. Aspect des émulsions primaires (CN/P) à pH naturel après centrifugation……... 59

Figure III.28. Aspect des émulsions H/E préparées par (CN /P) pH naturel…… 60

Figure III.29. Aspect des émulsions H/E préparées par (CN /P) à pH5…….……. 60

Figure III.30. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/P) en fonction du temps à pH naturel…… 61

Figure III. 31. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/P) en fonction du temps à pH 5…….…… 61

Figure III.32. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparée par (CN/P) en fonction du temps à pH naturel et T =40°C……. 62

Figure III.33. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/P) en fonction du temps à pH5 et T =40°C……...…… 62

Figure III.34. Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions préparées par (CN/P) à pH naturel…….……. 63

Figure III.35. Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions préparées par (CN/P) à pH5…… 63

Figure III.36. Variation de la viscosité apparente des émulsions H/E préparées en fonction des rapports (CN/P) à pH naturel……. 64

Figure III.37. Variation de la viscosité apparente en fonction du rapport de (CN/P) à pH5……... 64

Figure III.38 Aspect des émulsions H/E préparées par (CN/GX) après 10 jours à pH naturel et pH5……..…… 66

Figure III.39.Vues microscopiques des émulsions H/E préparées par (CN/GX) à pH naturel…… 66

Figure III.40.Vues microscopiques des émulsions H/E préparées par (CN/GX) à pH5…… 67

Figure III.41. Aspect des émulsions H/E préparées par (CN/GX) après centrifugation….. 68

Figure III.42. Aspect des émulsions préparées par (CN /GX) à pH naturel après 27 jours 68

Figure III.43. Aspect des émulsions H/E préparées par (CN /GX) à pH5 après 27 jours.. 69

Figure III.44.Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/GX) en fonction du temps à pH naturel……..……..…… 69

Figure III.45.Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/GX) en fonction du temps à pH5……. 70

Figure III.46.variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions préparées par (CN /GX) à pH naturel…….……. 70

Figure III.47.variation de la viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions préparées par (CN/GX) à pH5…….. 71

Figure III.48.Variation de la viscosité apparente en fonction des rapports (CN/GX) à pH naturel……..……. 71

Figure III.49.Variation de la viscosité apparente en fonction des rapport (CN /GX) à pH5……... 72

Figure III.50.Vues microscopiques des émulsions H/E préparée par (P/GX) à pH naturel……..... 74

Figure III.51. Aspect des émulsions à base de (P /GX) à pH naturel et à différente température de stockage après 11 jours……..……. 75

Figure III.52.Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (P/GX) en fonction du temps à pH naturel…… 76

Figure III.53.Variation de la viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions préparé par (P/GX) à pH naturel……..…… 76

Figure III.54.La variation de la viscosité apparente en fonction des rapport des mélanges (P /GX) à pH naturel……... 77

Figure III.55.aspect des émulsions multiples (P/GX), (CN/P) et (CN/GX) après 4 jours…….. 78

Figure III.56. Vues microscopiques des émulsions H/E préparées à par (CN/P) ,(CN/GX) et (P/GX) à pH naturel…… 79

Figure III.57.variation de la viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions préparé par (CN/P), (CN/GX) et (P/GX) à pH naturel……. 80

Figure III.58.La variation de la viscosité apparente en fonction des rapports (CN /P) ,(CN/GX) et (P/GX) à pH naturel……... 81

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE I : LES TANSIOACTIFES

Tableau. I.1 : Classification des agents de surface en fonction de leurs valeurs HLB 6

Tableau. I.2 : la taille moyenne des gouttelettes ……...…… 7

Tableau. I.3 : sens de l'émulsion…….……. 7

Tableau. I.4 : aspect des émulsions……... 10

Tableau. I.5 : les valeurs seuils communément admises…….. 11

CHAPITRE II : LES MELANGES DE BIOPOLYMERES

Tableau. II.1 : Les caractéristiques des caséinate……. 17

Tableau. II.2 : Les spécifications des caséinate…… 17

CHAPITRE III : ETUDE EXPERIMENTALE

Tableau.III.1 : Liste des principaux produits utilisés……...……. 36

Tableau.III. 2 : les différents constituants des émulsions primaires (CN/P) formulées…….. 56

Tableau.III. 3 : stabilité des émulsions (CN/P) à différente pH et vitesse de centrifugation... 59

Tableau.III. 4 : les différents constituants des émulsions primaires (CN/GX) formulées ….. 65

Tableau.III. 5 : stabilité des émulsions (CN/GX) à différente pH et vitesse de entrifugation. 67

Tableau.III. 6 : les différents constituants des émulsions primaires (P/GX) formulées …….. 73

Tableau.III. 7 : stabilité des émulsions (P/GX) à différente vitesse de centrifugation……. 75

Tableau.III. 8 : Les différents constituants des émulsions multiples formulées …….. 78

Liste des Abréviations et symboles

ADN : Acide désoxyribonucléique.

CMC : Concentration micellaire critique.

CN : Caseinate de sodium.

DE : Degré d'estérification.

E/H : Emulsion eau dans huile.

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

GX : Gomme xanthane.

HLB : Balance hydrophile lipophile.

H/E : Emulsion huile dans eau.

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

HM : Hautement méthylée.

H_E : Hauteur de l'émulsion.

H_S : Hauteur de la phase sédimente(en bas).

H_C : Hauteur de la phase crémée (en haut).

I-C : Indice de crémage.

LM : Faiblement méthylée.

O/W : Emulsion oil in water.

P: Pectine.

PI : point isoélectrique.

PLA : Acide Poly-Lactique.

PHA : Acide Poly-Hydroxyalcanoates.

pH : Potentiel d'hydrogène.

PEE: point d'équivalence électrique.

W/O: Emulsion Water in Oil.

W/O/W: Emulsion Water in Oil in Water.

Φ *: fraction volumique de la phase dispersée.*

V_D *: Volume de la phase dispersée.*

V_C*: Volume de la phase continu.*

Introduction générale

Les émulsions à base de protéine sont largement utilisées dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire pour leurs bonnes propriétés nutritionnelles et émulsifiantes. Souvent des polysaccharides naturels sont rajoutés, comme agent épaississant, pour contribuer à la stabilité du produit fini, tels que l'amidon, la gomme guar, le carraghénanes, la gomme xanthane,… Au même titre que les protéines, les sucres et les lipides, les sels minéraux sont indispensables pour la nutrition de l'être humain, c'est la raison pour laquelle on ne trouve, même en petite quantités dans les produits alimentaires et pharmaceutique.

Notre travail a un double objectif : étudier d'une part les interactions entre protéine/polysaccharide dans une solution à différents concentration et pH, et d'autre part, procéder à la formulation des émulsions simples H/E et multiples H/E/H. La phase dispersée est l'huile d'olive. La phase dispersante contient du caséinate de sodium, protéine laitière jouant le rôle du tensioactif, de la gomme xanthane comme agent épaississant ou de la pectine comme agent viscosifiant. Un mélange de GX et de P ont été également étudié. L'effet de la concentration de chaque composant ainsi que l'effet de pH sur la stabilité des émulsions préparées ont été étudié.

On peut subdiviser notre travail en trois chapitres :

- Dans le premier chapitre, nous avons effectué une synthèse bibliographique sur les Tensioactifs et sont propriétés et caractéristiques, ainsi que les émulsions, sont caractéristiques et domaines d'application.
- Le deuxième chapitre a été consacré sur les biopolymères notamment Caséinate, Pectine et Gomme xanthane et sont Propriétés émulsifiantes et stabilisantes .Nous avons également décrit la Stabilités des émulsions par biopolymères
- Le dernier chapitre représente notre travail expérimental relatif à l'étude :
    - ❖ Caractérisations physico-chimique des solutions de biopolymère (CN, P, GX).
    - ❖ Etudes des interactions protéine/polysaccharides, polysaccharide/ polysaccharide dans une solution à pH naturel et à pH5.
    - ❖ Formulation et caractérisation physicochimique et rhéologique des émulsions simples et multiples à pH naturel et à pH5.

On terminera par une conclusion générale et des perspectives pour d'ultérieures études.

Chapitre I



I. Introduction

Les émulsions sont des systèmes formés par la dispersion de fines gouttelettes d'un liquide dans un autre, elles contiennent ainsi une phase dispersée et une phase continue.

Elles sont en général formées de trois composants : une phase aqueuse, une phase huileuse et un tensioactif Pour que l'émulsion soit durable (c'est-à-dire que l'état dispersé demeure lorsque l'agitation mécanique cesse), il est nécessaire d'utiliser un agent émulsionnant ou émulsifiant, son rôle est de stabiliser le système dispersé en inhibant les phénomènes de dégradation. Les tensioactifs, les polymères et les solides divisés sont des agents émulsionnants. Ceux les plus largement utilisés sont les tensioactifs **[1].** Les propriétés des tensioactifs sont dues à leur structure amphiphile. Cette structure leur confère une affinité particulière pour les interfaces de type huile/eau et eau/huile et donc, par là même, leur donne la capacité d'abaisser l'énergie libre de ces interfaces. Ce phénomène est à la base de la stabilisation de systèmes dispersés **[2].**

II. Les tensioactifs :

II.1. Définition

Les agents de surface, encore appelés surfactifs ou agent tensioactifs sont des substances naturelles ou synthétiques **[3].** À poids moléculaire peu élevé, dont les molécules sont constituées d'une tête Polaire appelée : partie hydrophile et d'une chaîne lipophile appelée partie hydrophobe **[4].**

II.2. Structure des surfactants

Tout les tensioactifs sont des molécules amphiphiles, c'est à dire qu'ils sont constitués de deux parties : une qui est soluble dans un fluide spécifique (partie lyophile) et l'autre insoluble (Partie lyophobe), quand le fluide est l'eau, on parle des partie hydrophile et hydrophobe respectivement **[5].**

La partie hydrophile est constituée par un ou plusieurs groupements polaires solubles dans l'eau chargés ou non chargés **[6],** La partie hydrophobe ou apolaire est une chaine hydrocarbonée (de 8 à 18 atomes de carbone) aliphatique linéaire, ramifiée ou aromatique. Le caractère hydrophobe croit avec le nombre d'atomes de carbone, et diminue avec le nombre d'instaurations. Elle est insoluble dans l'eau et posséda de l'affinité pour les milieux organiques **[7].**

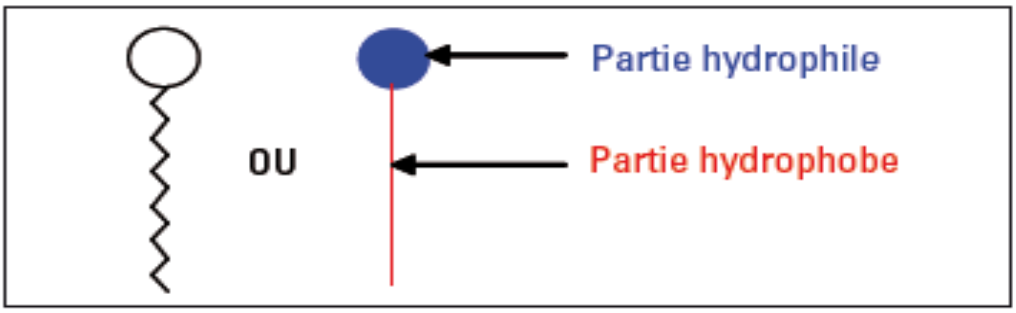


Figure I.1. La schématisation classique des tensioactifs **[8].**

II.3. Classification des surfactants

Les surfactants sont classés en quatre groupes distincts suivant la nature des groupements fonctionnels hydrophiles qu'ils supportent et de l'ion qu'ils développent en milieux aqueux **[9].**

Les surfactants anioniques : Ce sont des surfactants possédant un ou plusieurs groupements fonctionnels s'ionisant en solution aqueuse pour fournir des ions Organiques chargés négativement et qui sont responsables de l'activité de surface.

Les surfactants cationiques : Ce sont des surfactants possédant un ou plusieurs groupements fonctionnels s'ionisant en solution aqueuse pour fournir des ions organiques chargés positivement et responsables de l'activité de surface.

Les surfactants amphotères ou zwitterioniques: Ce sont des surfactants possédant deux ou plusieurs groupements fonctionnels qui peuvent, selon le milieu, s'ioniser en solution aqueuse en conférant au composé le caractère d'agent de surface anionique ou cationique, les composés tensioactifs zwitterioniques les plus répondus sont les alkylbétaines et les sulfobétaines.

Les surfactants non ioniques: Ces composés ne s'ionisent pas dans l'eau, ils sont classés selon la nature de la liaison qui unit la partie hydrophile à la partie lipophile **[10].**

II.4. Propriétés des surfactants

Grace à leurs adsorptions aux interfaces et à la possibilité qu'ils ont de donner des micelles, les surfactifs possèdent un certain nombre de propriétés intéressantes :

a- Propriétés tensio-actives

Ils abaissent la tension superficielle des liquides et la tension interfaciale entre les liquides **[11].**

b- Propriétés mouillantes

Les surfactifs, en abaissant la tension superficielle d'un liquide, diminuent la valeur de l'angle de contact entre un solide et ce liquide. Ils favorisent ainsi l'étalement de ce dernier à la surface du solide **[11].**

c- Propriétés émulsionnantes

Les surfactifs favorisent la dispersion d'un liquide dans un autre liquide non miscible .il favorisent la formation des émulsions en abaissant la tension interfaciale entre les deux liquides **[11].**

d- propriétés moussantes

Les surfactifs favorisent la formation de mousses (dispersion d'un gaz dans un liquide) puis augmentent leur stabilité. La formation des mousses est rendu plus facile par l'abaissement de la tension interfaciale entre le gaz et le liquide **[11].**

e- propriétés solubilisantes

Certains surfactifs, dont le HLB est suffisamment élevé, sont des solubilisant, c'est-à-dire des corps capables de faire passer en solution des substances normalement insolubles dans le solvant utilisé **[11].**

f- propriétés détergentes

Certains surfactifs sont des détergents, c'est-à-dire des corps facilitant l'élimination des souillures fixées sur un support solide. Cette propriété est la somme des effets mouillants, solubilisant et dispersants des surfactifs **[11].**

II.5. Caractérisation des surfactants

II.5.1. La concentration micellaire critique (CMC)

La concentration micellaire critique (CMC) est la concentration seuil de tensioactif au-delà de laquelle des micelles se forment dans une solution aqueuse. Au-dessous de la CMC, les molécules de tensioactif sont présentes sous forme de monomères, mais au-dessus, il existe un équilibre entre les molécules de tensioactif à l'état monomérique et les molécules incluses dans des micelles. La représentation des propriétés physiques de solutions diluées de tensioactif, en fonction de la concentration de soluté, montre un changement brutal à la CMC, c'est pourquoi la

concentration micellaire critique est l'une des propriétés les plus caractéristiques des tensioactifs **[12].**

Les différents changements des propriétés physico-chimiques des tensioactifs au voisinage de la CMC sont illustrés sur la (figure I.2) La valeur de la CMC dépend de la nature chimique du tensioactif (longueur de la chaîne lipophile, nature de la tête polaire) mais également des facteurs externes tels que la concentration en électrolytes ou de la température **[12].**

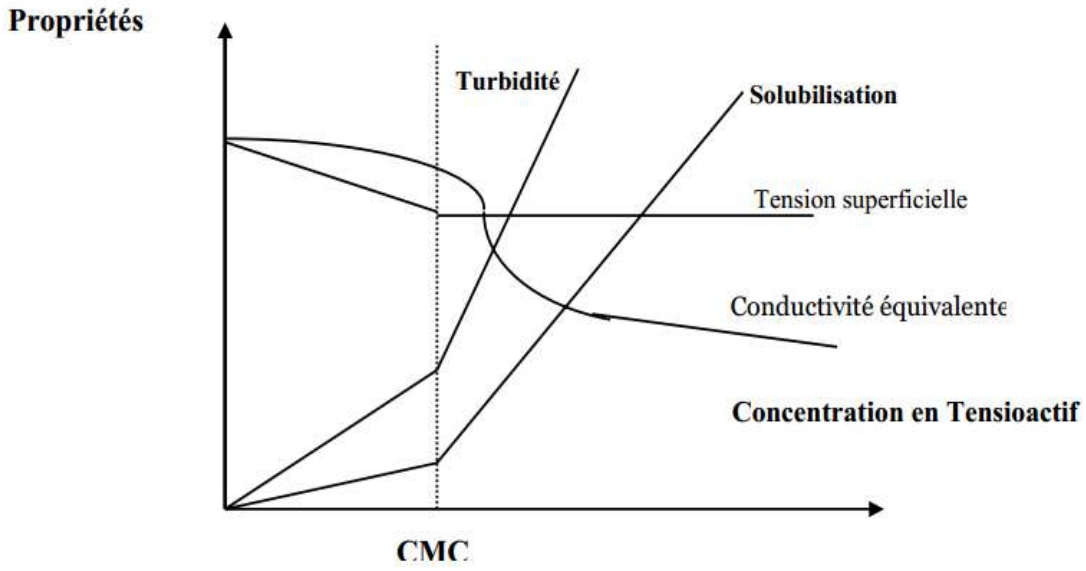


Figure I.2. Propriétés physico-chimiques des tensioactifs **[11]**

II.5.2. Balance lipophile-hydrophile (HLB)

La balance lipophile-hydrophile est une caractéristique des surfactants. La valeur du HLB est une fonction directe de la partie hydrophile dans la molécule du surfactant, elle est importante lorsque la fraction hydrophile est prédominante. La HLB d'un émulsifiant est l'expression directe de son équilibre hydrophile/lipophile, c'est à dire le rapport qui existe entre la proportion des groupements hydrophiles ayant une affinité pour l'eau et la longueur de l'enchaînement lipophile ayant une affinité pour l'huile, les premiers sont polaires ou non, l'enchaînement hydrocarboné est apolaire **[13].** Le tableau (I.1) rassemble les différentes propriétés tensioactives et leurs utilisations en fonction de la valeur HLB **[14].**

Propriétés des agents de surfaces	Valeur HLB
Emulsion eau dans huile	3-6
Emulsion huile dans eau	8-13
Antimousse	1.5-3
Mouillante	7-9
Détergente	13-15
Peptisante- solubilisante	15-18

Tableau I.1. Classification des agents de surface en fonction de leurs valeurs HLB **[14]**

II.5.3 La solubilisation des tensioactifs

La solubilisation des tensioactifs dépend fortement de la température, cette dépendance Se manifeste par le point de kraft, qui représente la température au-dessous de laquelle Les molécules d'un tensioactif précipitent sous la forme de cristaux hydratés du coté structure. La formation des micelles n'est réalisée que si les chaînes hydrocarbonées du tensioactif Sont à l'état liquide, d'où la nécessité de travailler à des températures supérieures à celle de Kraft **[12].**

II.5.4. Le point de Kraft

Correspond à la température à laquelle toutes les chaînes apolaires se transforment à l'état solide, formant des configurations inflexibles appelées aussi cristaux hydratés **[15].**

II.5.5. Le point de trouble des tensioactifs

On rencontre la notion de point de trouble dans de nombreux domaines d'applications et pour divers substances telle que : les fractions pétrolières, les polymères et les tensioactifs polyéthoxylés. Le point de trouble caractérise les tensioactifs non ioniques polyéthoxylés, il correspond à la température à laquelle une solution aqueuse de concentration donnée en tensioactif devienne trouble. Au-dessous de cette température, la solution forme deux phases non miscibles, une riche en tensioactif et l'autre pauvre en ce dernier **[15]**

L'apparition du trouble dans une solution de tensioactif non ionique est due à l'abaissement de la solubilité de ce dernier dans l'eau, causée par l'élévation de la température. La valeur du point de trouble croit avec le nombre des motifs éthoxylés, elle dépend du pH de la solution et de la présence des additifs, surtout les électrolytes et les tensioactifs ioniques **[15].**

III. Les émulsions

III.1. Définition

Elles sont composées d'une phase lipophile, d'une phase hydrophile et d'un émulsifiant. Suivant que la phase continue est lipophile ou hydrophile. Les émulsions de type huileux étant les moins courantes, elles sont parfois appelées émulsions inverses. La (figure I .3) donne une représentation schématique des deux types d'émulsions. En fonction de la taille moyenne des gouttelettes (tableau I.2) on distingue des émulsions plutôt grossières, appelées émulsions ou macro-émulsions et des émulsions plus fines, submicroniques, appelées mini ou nano émulsions **[8].**

Tableau I.2 : la taille moyenne des gouttelettes **[8]**

Taille (µm)	Désignation
1 à 10	Macroémulsions ou émulsions
0,1 à 1	Miniémulsions ou nanoémulsions

III.2. Types d'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)

Tableau I.3 : sens de l'émulsion **[8]**

SENS DE L'ÉMULSION	PHASE DISPERSÉE	PHASE DISPERSANTE	SYMBOLES
Émulsion Huile dans Eau (= Huile/Eau = Oil/Water) = émulsion de type aqueux = émulsion à eau externe	lipophile	hydrophile	L/H, O/W, H/E
Émulsion Eau dans Huile (= Eau/Huile = Water/Oil) = émulsion de type huileux = émulsion à huile externe	hydrophile	lipophile	H/L, W/O, E/H

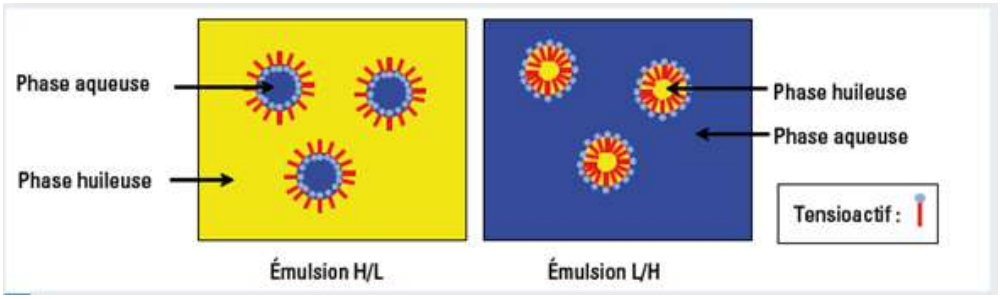


Figure I.3. Les deux types d'émulsion simple **[8]**

III.3. Formulation des émulsions

La formulation d'une émulsion vise à apporter au mélange le ou les produits qui vont permettre la formation d'un système stable au repos pour un temps plus au moins long suivant l'usage prévu. Les paramètres suivants cherchent à illustrer les principales règles de formulation **[3].**

II.3.1.Choix du type d'émulsion le mieux adapté

Le choix du type d'émulsion et la teneur en phase dispersée se décident cas par cas en fonction des contraintes techniques, économiques, toxicologique, et autres, imposés par l'industrie utilisatrice. C'est le système H /E qui est choisi dans le plus grand nombre de cas. De point de vue pratique on distingue trois groupes d'émulsions :

- Les émulsions à faible teneur en phase interne contiennent jusqu' 20% de phase dispersée. Ce sont des émulsions fluides, de faible viscosité et leurs comportement rhéologique est le plus souvent newtonien.
- Les émulsions à teneur moyenne en phase interne contiennent de 20 à 60 % de phase dispersée. elles sont beaucoup plus visqueuses que les précédents et ne sont généralement pas newtoniennes.
- Les émulsions à teneur élevée en phase interne contiennent plus de 60% de phase dispersée. Ces émulsions correspondent à des cas très particuliers, relativement peu fréquents **[16].**

III.3.2.Choix de l'agent émulsionnant

Pour les émulsions à très faible concentration en phase dispersée, on a recours à des agents tensioactifs ioniques qui stabilisent le système par la charge électrostatique qu'ils apportent à l'interface gouttelettes émulsionnées- phase continue. Dans ce cas, on doit obtenir une émulsion dont les gouttelettes ont des dimensions très petites. Lorsque la teneur en phase dispersée augmente, la formation d'un film protecteur à l'interface particule- phase continue par adsorption de l'agent émulsionnant devient le facteur prépondérant de stabilisation. Ce sont les émulsionnants non ioniques qui sont les plus aptes à former ce film protecteur aux interfaces. En règle générale, un mélange d'agents émulsionnants, soit deux non ioniques, soit un non ionique plus un ionique, est plus efficace qu'un seul produit pour stabiliser une émulsion.

La répartition des agents émulsionnants dans chaque phase, en fonction des solubilités semble jouer un rôle important dans la stabilisation de l'émulsion **[16].**

III.3.3. Préparation d'émulsion simple

Avant qu'une émulsion soi préparé, les constituants liposolubles et hydrosolubles sont séparément dissous dans la phase appropriée, un agent émulsionnant convenable est choisi selon le type d'émulsion désiré, et celui-ci est aussi dissout dans la phase aqueuse ou huileuse suivant leur nature. Le volume de la phase dispersante doit être entre 40% et 60% du volume total **[17].**

a. Mode de préparation

Le mode opératoire fixe l'ordre d'introduction des constituants, les températures à respecter à différentes étapes de la préparation, les types d'agitation, les vitesses et les temps d'agitation, le temps de refroidissement. Deux modes opératoires différents par l'ordre d'introduction des constituants peuvent aboutir à deux émulsions radicalement différentes.

D'ordinaire, la phase à disperser est introduite progressivement dans la phase continue ou l'on impose l'agitation mécanique par exemple, l'huile sera versée dans la phase aqueuse pour préparer une émulsion huile dans eau (H /E).

Si des constituants sont introduits à chaud ou s'il est nécessaire de passer par une étape ou la température est élevée (80°C par exemple), le mode opératoire doit prendre en compte l'existence d'autres constituants qui peuvent être volatils (huile de silicone, parfums et arômes) ou de stabilité insuffisante (parfum vitamines) : ces constituants fragiles ou occasionnant un risque, seront ajoutés à la fin de la fabrication **[17].**

b. Moyen mécanique de dispersion

Bien qu'une agitation manuelle suffise par fois, un moyen d'agitation mécanique et le plus souvent indispensable à l'obtention d'émulsion ayant une durée de vie importante. Différents moyens mécaniques de dispersion sont utilisables : ancre, hélice, mobile multiple, mélangeur statique, moulin colloïdal, à ultrasons, homogénéisateurs haute pression. Le type de système de dispersion est à choisir en fonction de la finesse désirée pour l'émulsion **[18].**

III.3.4. Caractérisation

Les méthodes de caractérisation les plus éprouvées sont :

a. Aspect

L'aspect des émulsions dépend de trois paramètres :

- la taille des gouttelettes de la phase dispersée.
- la concentration de l'émulsion.
- le rapport d'indice de réfraction entre phase dispersante et phase dispersée.

Le (tableau I.4) donne l'aspect des différents types de dispersions liquide-liquide, systèmes non diphasiques compris. L'aspect des émulsions dépend de l'importance de la lumière transmise par rapport à la lumière diffusée. Plus les gouttelettes sont grosses, plus la diffusion est importante. Pour les nano émulsions, une partie de la lumière est transmise. Plus l'émulsion se rapproche de la solution (finesse des gouttelettes, dilution importante), plus elle est transparente **[8].**

DIAMÈTRE (µm)		
10^2	Émulsions grossières (macro-émulsions)	Gouttes visibles
10		Blanc laiteux
1	Émulsions fines (mini-émulsions)	Opalescent (blanc bleuté)
10^{-1}	Micro-émulsions	Translucide
10^{-2}		

Tableau I.4 : aspect des émulsions **[8].**

b. Concentration

La concentration de l'émulsion, ou concentration de la phase dispersée, est mesurée par la fraction volumique de phase dispersée Φ ou taux de rétention :

$$\Phi = \frac{V_D}{V_D + V_C}$$

Ce paramètre est important car il influe sur la stabilité de l'émulsion, sa fabrication et ses propriétés macroscopiques. Le (tableau I.5) donne les valeurs seuils communément admises

Φ	Type d'émulsion
< 0,02	Émulsion diluée
0,3 < Φ < 0,74	Émulsion concentrée
> 0,74	Émulsion très concentrée

Tableau I.5. Les valeurs seuils communément admises **[8].**

La distinction entre émulsions diluées et concentrées renvoie aux interactions entre gouttelettes de la phase dispersée : les gouttelettes d'une émulsion diluée ont peu d'interactions les unes avec les autres, contrairement à celles d'une émulsion concentrée. Généralement une émulsion est dite concentrée si la phase dispersée représente plus de 30 % de l'ensemble en volume. Un taux de rétention de 0,3 peut être retenu comme valeur seuil **[8].**

c. 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 granulométries à laser **[8].**

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.

Diffraction laser : cette technique s'intéresse surtout à la dépendance angulaire de l'intensité diffusée. Une particule sphérique diffusante n'émet en effet pas de manière homogène dans l'espace, et l'étude de la variation d'intensité diffusée lorsque l'on se déplace autour de la particule renseigne sur la taille **[19].**

d. Rhéologie des émulsions

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 **[20].**

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 **[21]**

IV. Application des émulsions

Dans la vie quotidienne, de nombreux produits sont des émulsions.

IV.1. Domaine pharmaceutique

Les émulsions détoxifiantes répondent donc à un véritable besoin en permettant le traitement en urgence des empoisonnements par voies cutanée et orale, sang artificiel et encapsulations de diverses substances antimitotiques, antigéniques) **[22].**

IV.2. Domaine cosmétique

Les émulsions ont de multiples champs d'application en cosmétique : lait visage et corps, maquillage (mascaras, fonds de teint, crèmes de soin pour le visage) **[23].**

IV.3-Domaine agro-alimentaire

Les principales émulsions utilisées dans l'industrie agro-alimentaire sont :

- La lécithine naturelle, notamment en chocolaterie, beurre et margarines.
- les mono et di-glycérides d'acides gras alimentaires que l'on retrouve en particulier dans les glaces et les brioches industrielles.
- Mayonnaise H/E à très faible volume de phase aqueuse continue d= 0,2 μm **[24].**

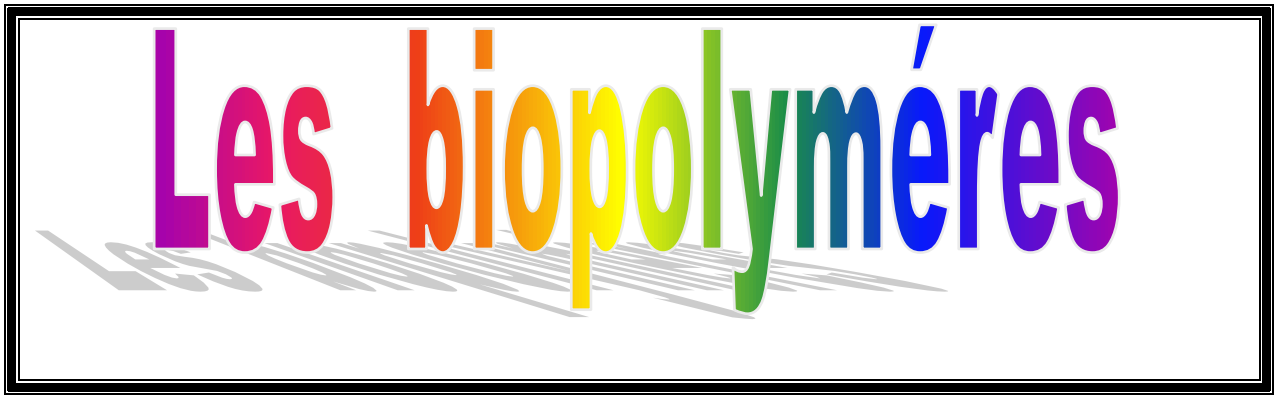
IV.4. Domaine industrielle

Les émulsions sont utilisées pour la fabrication de peintures, les produits d'entretien, le phytosanitaire, le travail des métaux (ex fluides de coupe), A l'échelle industrielle, les émulsions sont utilisées pour le revêtement des routes ou l'étanchéité des bâtiments (mastics) **[25],** les carburants pour automobiles («Aquazole » : émulsion d'eau dans de gazole). Il existe même des émulsions explosives **[26].**

V. Conclusion

Les émulsions sont des systèmes thermodynamiquement instables qui conduisant inéluctablement vers leur rupture. De ce fait, la stabilité de tels systèmes nécessite un soin particulier, elle n'existe que grâce à la capacité à ralentir ou inhiber les mécanismes qui conduisent normalement à la démixtion des phases non miscibles. Cette instabilité peut se présenter sous trois formes essentielles: chimique, physique et microbiologique.

Chapitre II



I. Introduction:

La chimie des polymères est née de la connaissance des biopolymères. Ces derniers sont des polymères présents dans des organismes vivants ou ils se sont produits par eux même. Ils comprennent notamment les polysaccharides et sont soient issue de la pétrochimie (associés à un composé naturel), soient totalement dérivés à partir de ressources renouvelables par lesquelles sont fabriqués à partir des polymères naturels d'origine agricole, microbienne ou synthétique **[28].** 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 **[29].** Les protéines du 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 **[30].**

II. Les biopolymères

II.1. Définition

Les biopolymères sont des macromolécules constituées de plusieurs unités identiques appelées monomères. Le nombre moyen de ces unités dans les macromolécules est le degré de polymérisation. Si ce degré est élevé on parle de hauts polymères, lorsqu'il est faible, le polymère est dit oligomère. 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. Les biopolymères peuvent être produits par les systèmes biologiques, ou être synthétisés chimiquement à partir des produits d'origine biologique **[31].**

II.2.Les différents types de biopolymères

On dénombre cinq types différents de biopolymères que l'on peut regrouper en trois classes

- Polymères de synthèse : ce sont des polymères d'origine fossile.
- Polymères biodégradables : ce sont des polymères d'origine fossile (issus du pétrole) auxquels est ajouté un additif qui permet de favoriser leur dégradabilité.
- Bio-based polymers : ce sont les polymères issus de la biomasse. Il en existe trois sortes:
  - Biopolymères issus de la faune et de la flore : cette famille comprend par exemple l'amidon, la cellulose, les protéines, etc.

- Biopolymères produits par polymérisation chimique : cette famille est essentiellement constituée des PLA (acide polylactique).
- Biopolymères produits par des micro-organismes génétiquement modifiés : (PHA.... **[32].**

II.3. Utilisation des biopolymères

Trois grands créneaux d'applications sont identifiés par rapport aux propriétés des biopolymères : la médecine, l'agriculture et les emballages **[33].**

a) En médecine et pharmacie:

Les premières applications des biopolymères sont médicales d'autant plus que leurs coûts élevés de départ se justifient dans ces applications à haute valeur ajoutée. Leurs propriétés de biocompatibilité et de biorésorbabilité associées à leur résistance mécanique sont très importantes pour assurer les fonctions attendues dans ce domaine **[33].**

b) En agriculture:

En agriculture, la propriété de biodégradabilité des biopolymères est essentielle dans les applications dans ce domaine **[33].**

c) En emballage:

Le secteur de l'emballage est un autre créneau important pour le marché des polymères biodégradables. Ces derniers apportent une solution aux problèmes de déchets mais nécessitent toutefois la mise en place d'une filière de gestion de déchets adéquate à ce type de produits. Ainsi l'organisation d'une filière de compostage est indispensable pour assurer une valorisation optimale de ces emballages biodégradables **[33].**

III. Les biopolymères étudiés

III.1. Caséinates de sodium

Les caséines sont des produits insolubles dans l'eau. Or, les principaux utilisateurs en industrie, ont besoin d'une forme soluble qui peut être obtenue en raison du caractère amphotère des protéines du lait, soit par la préparation des solutions alcalines « caséinates », soit par dispersion des protéines dans des solutions acides « sels de caséine ». Les caséinates se trouvent sous la forme de monomère ou de petits polymères **[34].**

III.1.1. Structure

Le caséinate de sodium est un mélange de plusieurs composants contenant non seulement les monomères principaux de caséine (alpha-s1-caséine et béta-caséine), mais également d'autres composants importants de caséine tels que la kappa-caséine et alphas2-caséine, aussi bien que de petites quantités de lipides et de sels minéraux **[35].**

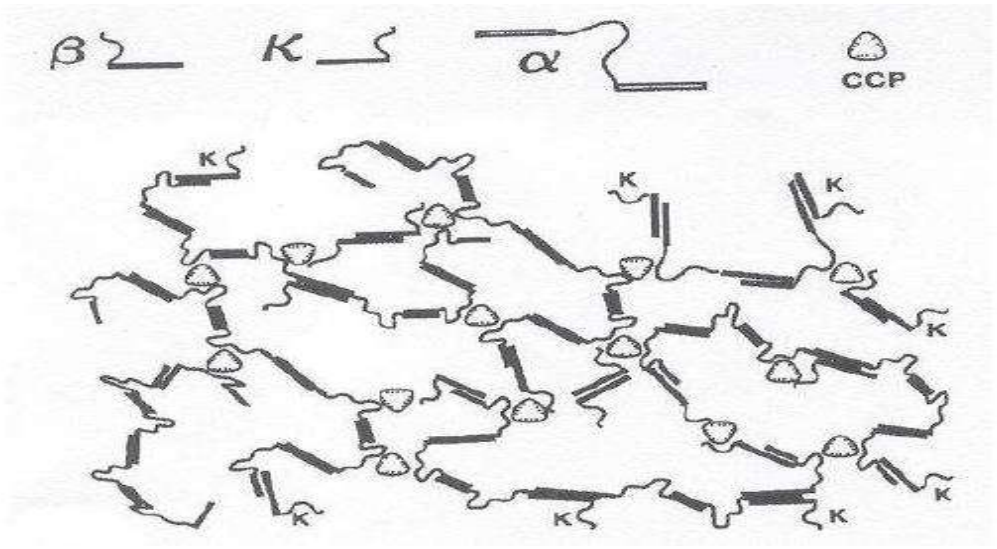


Figure II. 1 : Liaisons à l'intérieur de la micelle de caséine **[36].**

Puisque les différentes caséines contiennent des régions hydrophobes et hydrophiles, elles s'associent réversiblement dans le soluté. Une étude récente a montré en utilisant la dispersion dynamique de la lumière (Dynamique light scattering) que les solutions de Caséinate de sodium peuvent coexister sous forme de micelles secondaires **[34].**

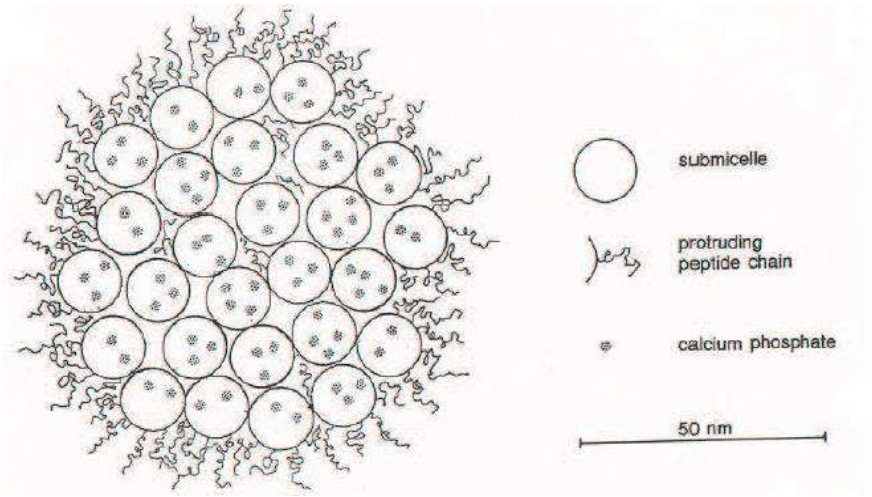


Figure II. 2. Modèle de la micelle de caséine **[36].**

III.1.2. Caractéristiques

Les principales caractéristiques et spécifications des caséinates sont regroupées dans les tableaux(II.1) et (II.2) respectivement.

Tableau II.1. Les caractéristiques des caséinates **[32].**

• Aspect	Blanc pur ou crème
• Odeur	Inodore
• Solubilité	Insoluble dans l'eau froide et chaude
• Stabilité	Très stable de la chaleur et de l'émusification

Tableau II.2. Les spécifications des caséinates **[32].**

• Protéine (basse sèche)	90.00%
• Graisse	2.00%
• Cendres	6.0%
• Humidité	1.00%
• Lactose	200-3000mPa.s
• pH	6.0-7.5
• Numération des coliformes totaux	30000/g
• Coliforme	40/100g
• Métaux Lourds(Pb)	0.002%
• Arsenic	0.0002%
• Bactérie thérapeutique	No

III.1.3. Utilisation

Utilisé non seulement comme un excellent additif avec protéine et nutrition à haute valeur, mais aussi il est la source des oligoéléments pour les humains. En outre, il est également un bon stabilisateur d'émulsification et d'agent d'épaississement. Dans l'industrie alimentaire il est utilisé pour améliorer la qualité des produits. Le caséinate de sodium est

autorisé par la FAO et WHO comme additif, dans toutes les activités de produits alimentaires, de traitement de viande, nourriture rôtie, crème artificielle, supplémentaires de café, aliment pour bébé, fromage, diverses gâteau et sucreries, boissons, médecine, tabac, produits de beauté, et produits chimiques courants **[19].**

III.2.Pectine

La pectine est un polysaccharide de structure, hétérogène et complexe retrouvé dans les fruits et les légumes **[37]**. 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 yoghourts **[38].**

III.2.1.Structure

Ce polysaccharide anionique linéaire est constitué majoritairement d'unités α-D-acide galacturonique reliées en (1→4) (Fig. II.4). Des molécules de L-rhamnose (1-4%) sont parfois introduites dans la chaîne en α (1→2) produisant des irrégularités. Plusieurs glucides neutres tels le galactose, le glucose, le rhamnose, l'arabinose et la xylose participent à sa structure par la formation de chaînes latérales **[39].**

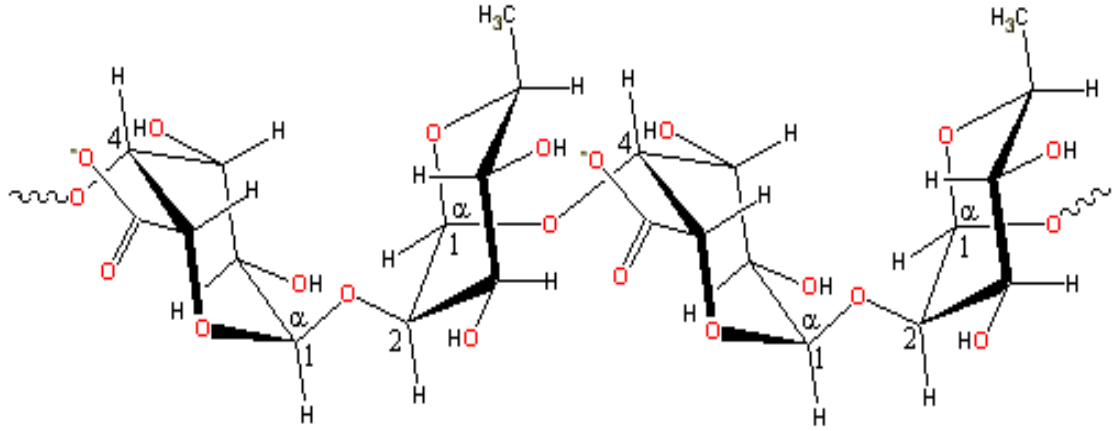


Figure II.3. Chaîne principale d'une molécule de pectine **[39].**

III.2.2.Caractéristiques physicochimiques

La pectine est un acide polycarboxylique dont le poids moléculaire varie entre 50 000-200 000 Da **[38]**. La charge induite par la présence de groupements COOH est fonction du pH et de la force ionique. À pH neutre, la molécule est chargée négativement. Cette charge diminue avec une diminution de pH et une augmentation du DE. Le pK_a de la pectine a une valeur entre 3,5-4,5 **[37].** Une augmentation de la force ionique masque les charges de la pectine, effet observé avec l'ajout d'ions monovalents et bivalents **[38].** Cependant, les ions bivalents causent aussi la dimérisation des chaînes d'acides galacturoniques par le modèle « boîte d'œuf ». Les cations se fixent dans la série de cavités électro-négativement chargées des chaînes. L'affinité des cations diffère : $Mg^{2+} << Ca^{2+} \sim Sr^{2+} < Ba^{2+}$ **[40]** .Ces interactions sont d'une grande importance dans la gélification de la pectine LM.

III.2.3. Caractéristiques en solution

En solution, la pectine conduit à une augmentation de viscosité ou à la gélification dépendamment de sa concentration, de son DE, du pH et de la concentration en solides totaux. La gélification de la pectine HM et LM diffère. La formation d'un gel est possible avec une pectine HM à pH acide en présence d'une quantité minimale de sucre. Ces deux éléments favorisent les interactions pectine-pectine plutôt que les interactions pectine-eau premièrement suite à la diminution des répulsions électrostatiques (pH acide) et deuxièmement par la diminution de l'activité de l'eau (présence de sucre). La pectine LM gélifie quand à elle en présence d'ions calcium à pH acide. Les ions calcium permettent la formation de jonctions entre les différentes chaînes de pectine menant ainsi à la formation d'un réseau **[38].**

III.3. La gomme xanthane

Le xanthane est un polysaccharide bactérien utilisé dans plusieurs sphères de fabrication industrielle. En alimentaire, ses nombreuses propriétés en font un ingrédient de choix. Le 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 **[41].**

III.3.1. Structure

La structure primaire de la gomme xanthane consiste en une chaine principale de cellulose. Cette chaine porte un branchement latéral triosidique tous les 2 glucoses comme le montre la figure II.4.

Ainsi la gomme xanthane est un polymère constitué d'une unité penta-saccharidique branchée, acetylée et pyruvylée. Deux groupements carboxyliques confèrent à la gomme xanthane un caractère anionique **[42,43].**

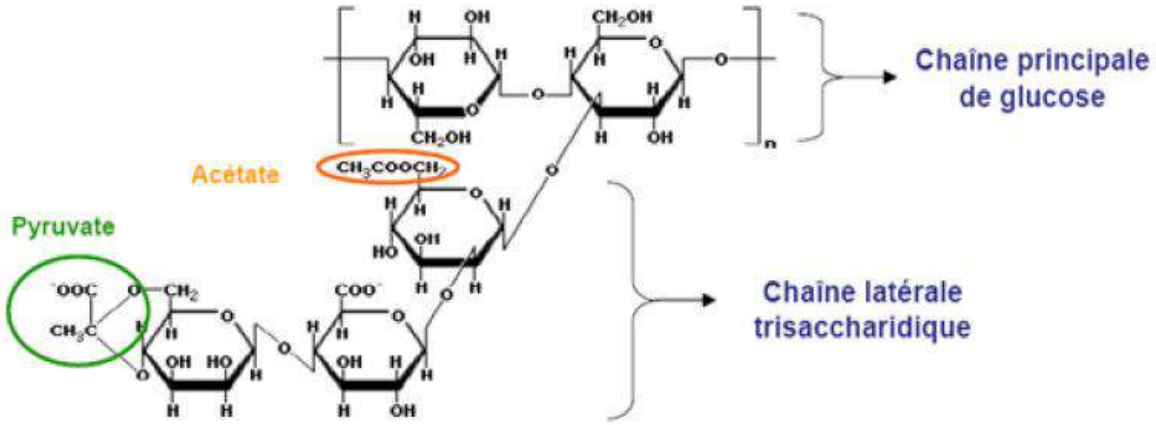


Figure II.4. Structure primaire de la gomme xanthane **[42].**

III.3.2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques principales de la gomme xanthane sont liées aux interactions entre les macromolécules et l'eau **[44].**

La gomme xanthane est soluble dans l'eau à froid (des 10 à 20°C) mais est insoluble dans la plupart des solvants organiques **[45].** La gomme xanthane a une viscosité élevée dès les basses concentrations (1g/L). Cette viscosité augmente avec la teneur en gomme et en électrolytes. Les propriétés rhéologiques varient peu avec la température et avec le pH (gamme de 2 à 11) **[46].**

III.3.3. Utilisations

La gomme xanthane trouve des applications industrielles nombreuses et variées, grâce à ses propriétés rhéologiques exceptionnelles. Le marché mondial, estime a plus de 30 000 tonnes par an (tous secteurs confondus : alimentaire et non alimentaire), connait une croissance soutenue de plus de 5% par an. La gomme xanthane est utilisée :

- Dans les plats préparés pour stabiliser les suspensions ; Les plats reconstitues (saucisses, jambons) seront maintenus avec 0,2 à 0,5% de gomme xanthane.
- Dans les produits foisonnes (mousses) ; Pour augmenter la viscosité des produits liquides et pâteux sans les gélifier ; Comme stabilisant en particulier pour les sauces émulsionnées: marinades, sauces chaudes… et pour maintenir les solides (épices) **[42, 46,47].**

IV. Nature des interactions dans les mélanges polysaccharides-protéines

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 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 **[34].**

IV.1. Mécanismes

Dans l'eau, le mélange de protéines et de polysaccharides peut conduire à 3 situations : La Co-solubilité, l'incompatibilité thermodynamique et la Co-agrégation. Ces différentes situations sont illustrées schématiquement dans la figure II.5**. [34].**

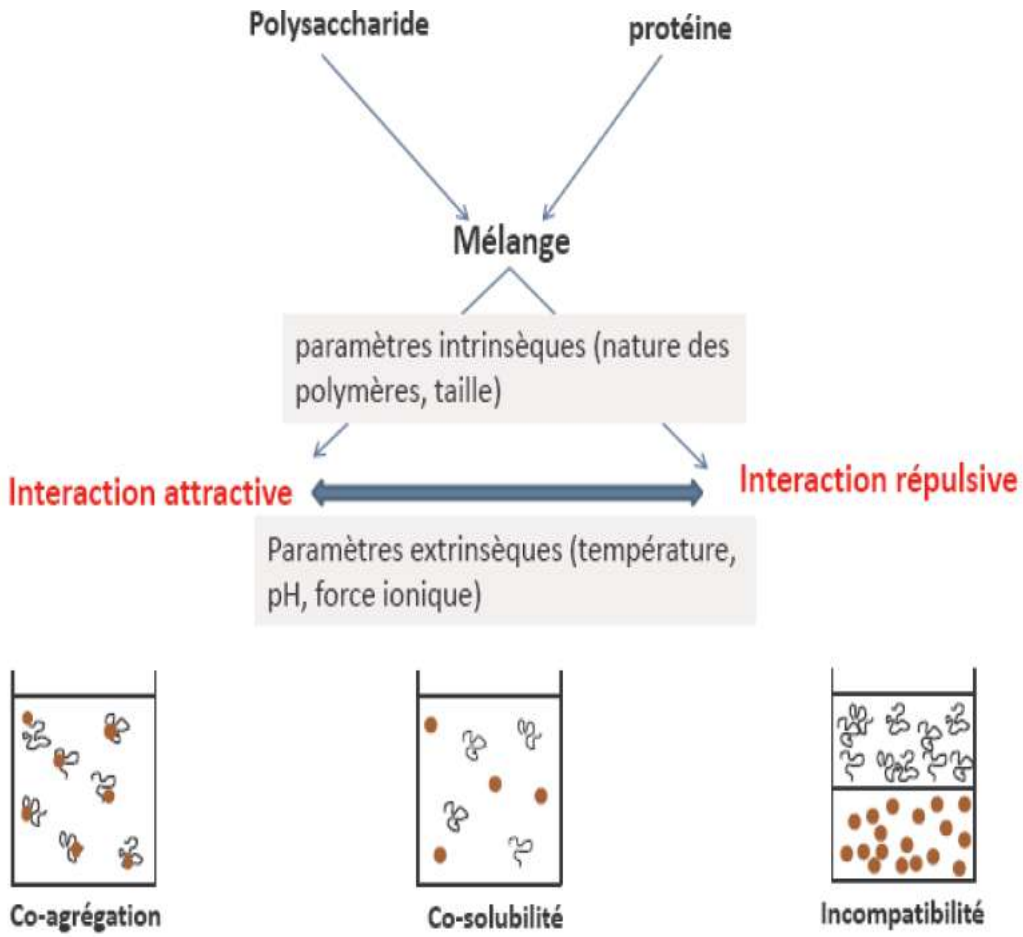


Figure II.5. Différentes situations de mélanges polysaccharides – protéines dans de l'eau **[34].**

IV.1.1. Co-solubilité

Dans les solutions diluées et en absence d'interactions fortes, les biopolymères sont Co-solubles car cela augmente l'entropie **[34].**

IV.1.2. 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 **[34].**

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 **[34].**

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 (Figure II.6). 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 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 **[34].**

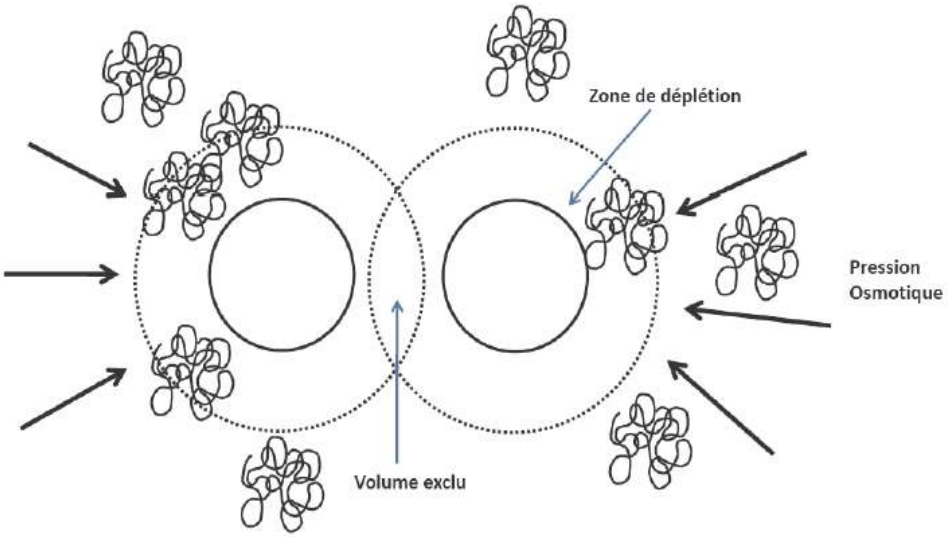


Figure II.6. Mécanisme de l'interaction de déplétion **[34].**

IV.1.3. 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 **[34].**

IV.2. Nature des interactions lors d'une compatibilité thermodynamique

Les interactions impliquées lors de la formation de complexes peuvent être de différents types. La force, la spécificité ainsi que leur nature attractive ou répulsive influencent le type de complexe formé. Lorsque le polysaccharide et la protéine doivent être de charges opposées pour avoir la formation d'un complexe, on parle d'interactions électrostatiques. Les complexes solubles et insolubles sont les deux types de complexes pouvant être obtenus de ces interactions selon le rapport entre les charges de chacune des molécules **[48].**

Des liens hydrogènes peuvent stabiliser le complexe lorsqu'un atome d'hydrogène situé sur un atome électronégatif tel un azote ou un oxygène, interagit avec un autre hydrogène situé sur un groupe carboxyle ou carbonyle. Ces liens hydrogènes permettent parfois la formation d'un complexe au-dessus du point isoélectrique de la protéine. La formation de complexes à basse température indique la présence de ce type de liens. Les interactions hydrophobes sont favorisées lors d'une augmentation de température **[48].**

Ces interactions jouent un rôle crucial lors de la stabilisation de complexes par un chauffage à des températures visant l'exposition des sites réactifs des protéines par dénaturation thermique **[44].**

IV.3 Facteurs influençant la nature des complexes formés

IV.3.1.Charge des macromolécules

La nature et la densité des charges présentes sur les deux macromolécules sont les facteurs ayant le plus d'influence sur la formation de complexes. La formation de complexes est inhibée lorsque les densités de charge des molécules sont faibles alors qu'une précipitation ou une gélification peut se produire lorsque cette densité est élevée.

Des complexes électrostatiques peuvent être formés même au-dessus du point isoélectrique de la protéine par l'intermédiaire de zones chargées positivement qui annulent l'effet de répulsion des charges de même signe **[48].**

IV.3.2. Nature du polysaccharide

Les polysaccharides contenant des groupes carboxyles forment moins de complexes. Leur action se situe principalement dans la diminution des liens protéine/protéine. Ces polysaccharides ne complexent pas les protéines globulaires à une force ionique supérieure à 02 ou à des valeurs de pH supérieures au point isoélectrique des protéines. Les polysaccharides anioniques n'ont pas tous le même degré de compatibilité avec les protéines, dans un ordre décroissant : la pectine, le CMC (carboxyméthylcellulos), l'alginate de sodium, la gomme arabique et le dextran sulfate **[48].**

IV.3.3. Poids moléculaire du polysaccharide

Lorsque les interactions électrostatiques entre la protéine et le polysaccharide sont très fortes, l'effet du poids moléculaire du polysaccharide sur la quantité de protéines complexées est plutôt négligeable. Lorsque ces interactions sont faibles, un polysaccharide de poids moléculaire élevé permet la précipitation d'une plus grande quantité de protéines dû à l'espace plus grand occupé par le polysaccharide en solution favorisant ainsi le contact avec les protéines **[48].**

IV.3.4. Le pH

Le pH a un effet sur la nature des charges présentes sur les groupes amines et carboxyliques, affectant ainsi la nature de la charge nette portée par la macromolécule. Un maximum de complexations survient lorsque le pH d'équivalence électrique est atteint (PEE). À ce point, la protéine et le polysaccharide ont la même charge en valeur absolue **[48]**

IV.3.5. La force ionique

Habituellement, la formation de complexes insolubles se produit à faible force ionique et sous le point isoélectrique de la protéine. À force ionique élevée, les ions diminuent la charge totale des macromolécules inhibant, ainsi la limite, la complexation. Une trop faible force ionique serait aussi responsable d'une inhibition de la complexation. Le mécanisme expliquant ce comportement est mal connu.

Une des hypothèses est que la forte charge portée par les macromolécules modifie leur configuration de manière à favoriser la formation de petits agrégats plutôt que de complexes **[48]**

IV.3.6. Le ratio protéine / polysaccharide

Le ratio protéine/polysaccharide influence grandement les propriétés du complexe obtenu. Le ratio optimal est propre à chaque système et dépend des propriétés recherchées. Lorsque la concentration d'une macromolécule par rapport à l'autre est en excès, la présence de charges résiduelles sur les complexes permet de les solubiliser. La formation de complexes peut cependant être inhibée lorsque la concentration en macromolécules est trop importante. On observe alors le phénomène d'incompatibilité thermodynamique **[48].**

IV.3.7. Les Conditions du milieu

La température affecte la formation de complexes en favorisant les interactions hydrophobes et covalentes à haute température et les liens hydrogènes 5 basse température. Le temps du traitement de cisaillement influence la taille des complexes, plus il est long plus les complexes auront une grande taille. L'application d'une pression hydrostatique peut faciliter la formation des complexes en induisant une dénaturation partielle des protéines, donc une exposition de sites réactifs. La micro-fluidisation, employant les hautes pressions dynamiques, a permis de réduire la taille de 20 mm à 0,2 mm de complexes xanthane/protéines de lactosérum en fractionnant les fibres de xanthane par des forces de cisaillement, cavitation et turbulence **[48].**

IV.4. Interactions protéines -polysaccharides

IV.4.1. Interactions protéines -polysaccharides dans un milieu aqueux

Les protéines, les polysaccharides et leurs mélanges sont des biopolyméres ayant une surface naturellement active, sous des conditions spécifiques, les protéines et les polysaccharides forment des hybrides (complexes) avec des propriétés fonctionnelles améliorées en les comparants avec les protéines et les polysaccharides seuls. Si des mélanges non compléxés de biopolymères sont formés, une adsorption compétitive sur les surfaces hydrophobes se produit, inversement, une compléxation électrostatique entre les protéines et les polysaccharides ayant des charges opposées, permet un ancrage meilleur de la macromolécule amphiphile nouvellement formée dans les interfaces H/E **[49].**

Plusieurs modèles ont été développés pour décrire les interactions des polymères et leur incompatibilité qui se produit lorsqu'on mélange deux solutions de polymères. Les interactions entre les polymères (protéines-protéine, protéine-polysaccharide, polysaccharide-polysaccharide) en solution et avec le solvant (l'eau dans ce cas) gouverneront la solubilité et la co-solubilité des biopolyméres, et les propriétés viscoélastiques du mélange final et même leur comportement à différentes interfaces (solide-liquide, ou liquide-solide).

Les macromolécules amphiphiles naturelles ou les biopolymères sont principalement basés sur les protéines et les polysaccharides, les attractions et les répulsions sont les deux types majeurs des interactions qui se produisent entre les protéines et les polysaccharides en solution et peuvent en résulter la formation de complexes ou l'immiscibilité des deux biopolyméres (incompatibilité thermodynamique).

Dans les solutions aqueuses, une coacervation complexe se produit entre deux polymères de charges opposées en raison d'une attraction électrostatique, par exemple, une compléxation entre les protéines et les polysaccharides anioniques se produit en dessous du point isoélectrique de la protéine et à faible force ionique **[50].**

Les facteurs qui influencent la compatibilité et la formation du complexe sont le rapport protéine/polysaccharide, le pH, la force ionique et la flexibilité des chaînes **[51].**

Des diagrammes de phase peuvent être fait pour décrire les interactions pour chaque paire de biopolymères lorsque les interactions protéine-protéine ou polysaccharide-polysaccharide sont suffisamment élevées, en comparaison avec les interactions polymère-solvant. Une séparation de phase ségrégative est observée, conduisant à une phase supérieure riche en polymères, et une couche inférieure riche en protéine **[52,53].**

Une compléxation entre deux biopolyméres chargés est d'habitude, un processus réversible dépendant du pH et de la force ionique. A une force ionique élevée (0.2-0.3) ou à des valeurs de pH supérieures au point isoélectrique de la protéine, le complexe se dissociera. Cependant, les interactions électrostatiques entre les polymères anioniques et les protéines positivement chargées peuvent se produire à pH supérieur au point isoélectrique de la protéine.

IV.4.2. Interactions protéine -polysaccharide dans les émulsions

Les interactions protéine- polysaccharide jouent un rôle important dans la structure et la stabilité de plusieurs produits à structure complexe à l'instar des émulsions. Le contrôle de ces interactions macromoléculaires est un facteur clé dans le développement de nouveaux procédés et la formulation de nouveaux produits **[54].**

Ces macromolécules ont l'avantage d'améliorer la texture et la stabilité des produits formulés, et ont l'avantage d'être des produits biodégradables. Néanmoins, leur présence simultanée dans une formulation peut conduire à plusieurs situations d'instabilité et dans certains cas à une séparation de phases **[54].**

Il a été reconnu que les polysaccharides peuvent interagir à l'interface avec d'autres polymères (non protéiniques, autres polysaccharides) aussi bien avec des groupes résiduels à l'interface (protéine-eau, huile-eau ou air-eau) avec la formation d'un matériau aqueux structuré avec des propriétés mécaniques, viscoélastiques utiles sous des conditions de faibles forces de cisaillement **[55].** La compléxation entre les protéines et les polysaccharides à la surface des gouttelettes de l'émulsion peut améliorer la stabilisation stérique; la taille des gouttelettes peut être réduite si le polysaccharide est présent durant l'homogénéisation et par conséquent, la vitesse de crémage peut être à son tour réduite. Une compléxation covalente protéine-polysaccharide peut aussi fournir une stabilisation effective à l'émulsion **[56].**

La grande amélioration de la stabilité résultant de la présence du polysaccharide, durant l'émulsification, est attribuée à la formation d'une couche de stabilisation stérique forte et épaisse autour des gouttelettes. Un effet synergique similaire des complexes protéine-polysaccharide dans la stabilisation des émulsions a été reporté avec les émulsions huile/eau préparées avec des complexes polysaccharide/caséine acidifiée. Les complexes adsorbés à l'interface H/E ont augmenté la viscosité interfaciale, formant une structure de gel autour des gouttelettes d'huile **[57].**

De plus, ces émulsions présentent une stabilité thermique relativement élevée à 95°C à cause de la microstructure du gel à l'interface. Les émulsions préparées avec les complexes de protéine-alginate de sodium présentent une stabilité thermique améliorée en comparaison avec les émulsions stabilisées par les protéines seules. L'amélioration de la stabilité est attribuée au dépliement de la protéine à l'interface qui favorise les interactions protéine-polysaccharide, en exposant les groupements cationiques et ceux hydrophobiques **[58].**

Néanmoins, les complexes protéine-polysaccharide dans les émulsions peuvent contribuer dans certains cas à une diminution de la stabilité de l'émulsion .ont envisagé la floculation, le crémage et une modification des propriétés rhéologiques des émulsions huile/eau stabilisées avec des biopolymères. Par ailleurs, Dickinson et al .ont comparé l'influence des interactions ioniques et covalentes protéine-polysaccharide sur les émulsions stabilisées par des biopolymères chargés **[59].**

IV.4.3. Propriétés émulsifiantes et stabilisantes des protéines et des polysaccharides

Les protéines sont des substances macromoléculaires complexes amphiphiles et hydrosolubles, elles sont généralement mois tensioactives que les petites molécules amphiphiles, mais elles sont capables, une fois présentes à l'interface, de conférer une bonne stabilité à long terme à une émulsion. Cependant, les polysaccharides sont essentiellement utilisés comme agent stabilisant puisque ils ne peuvent pas être utilisé seuls pour faire une émulsion mais seulement pour stabiliser une émulsion déjà formée. Les protéines quand à elles agissent essentiellement grâce aux propriétés de leurs films interfaciaux et sont par conséquent, souvent capables de jouer un rôle à la fois émulsifiant et stabilisant. L'activité de surface des protéines résulte de la répartition des résidus d'acides aminés hydrophobe à différents niveaux de la chaîne polypeptidique. En revanche, la plupart des polysaccharides sont essentiellement hydrophiles et par conséquent peu tensioactifs. Le principale effet stabilisant des polysaccharides de masse molaire élevée est du à la formation d'un gel ou à la modification de viscosité qu'ils induisent dans la phase aqueuse dispersante **[60].**

IV.4.4. 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 **[61].**

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 **[62].**

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 **[63].** 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 **[62].**

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 **[64].**

IV.4.5. Le système caséinate de sodium-xanthan

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 **[65].**

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 **[66].**

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. En termes de comportement rhéologique, les échantillons avec ou sans GX tous les deux ont présenté un

comportement de cisailler-éclaircissement. Avec l'augmentation de la concentration de GX, le comportement de cisailler-éclaircissement est amélioré et la viscosité apparente a augmenté au même taux de cisaillement **[66].**

Par ailleurs à la surface 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**.**

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 **[67].**

V. 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.

V.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 **[68].**

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].**

V **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].**

V. **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

L'acétaminophène, un ingrédient hydrosoluble a été encapsulé avec succès par double émulsion E/H/E. Dans une double émulsion H /E/H, un composé hydrophobe, la fluméthrine,

a été encapsulée avec une efficacité d'encapsulation de plus de 95% en utilisant un mélange de protéines de lactosérum et de gommes (xanthane, fenugrec) comme agent stabilisateur. La glycine, les immunoglobulines Ig du lait et des protéines du colostrum ont aussi été encapsulées avec succès dans une émulsion double E-H-E avec un pourcentage d'encapsulation allant jusqu'à 59, 21 et 50%, respectivement **[72].**

VI. Conclusion

A l'issue de cette synthèse bibliographique, nous pouvons retenir qu'il est possible d'utiliser des biopolymères seuls ou en combinaison avec des protéines pour stabiliser des systèmes miscillaires. Toute fois, ces systèmes doivent être bien réfléchis pour éviter les interactions ségrégatives entre ces deux biopolymères conduisant à une instabilité des émulsions.

Chapitre III

Etude expérimentale

I.1. Introduction

L'objectif de ce travail est l'étude des interactions protéine/polysaccharide dans une solution et à l'interface H/E**.**

C'est dans cet ordre d'idée que notre partie expérimentale a été réalisée. Elle consiste en une :

- Caractérisations physico-chimique des solutions de biopolymères (Caséinate, Pectine Gomme xanthane) à pH naturel et à pH5.
- Etudes des interactions protéine/polysaccharides dans une solution.
- Formulation et caractérisation des émulsions simples H/E.
- Formulation et caractérisation des émulsions multiples H/E/H.

I.2. Matériels et produits utilisés

I.2.1. Matériels utilisés

Agitateurs magnétiques chauffants: l'agitation nécessite un agitateur magnétique à vitesse variable est ajustable de 30 à 1400 tr/min, et une plaque chauffante qui atteint une température maximum de 300ºC grâce à la puissance de chauffe de 800 W (marque Heidolph MR Hei Standard)

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^{-4} g (Marque Denver instrument).

Centrifugeuse: Centrifugeuse (Hettid Zentrifugen EBA 20) c'est un appareil qui fonctionne avec des vitesses comprises entre 1000 à 6000 tr/min dans un intervalle du temps choisi selon l'utilisation.

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.



Homogénéiseur: l'homogénéiseur (Ultra-turax T-25, tige S25N-/01.797959 G18) 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 tr/min.



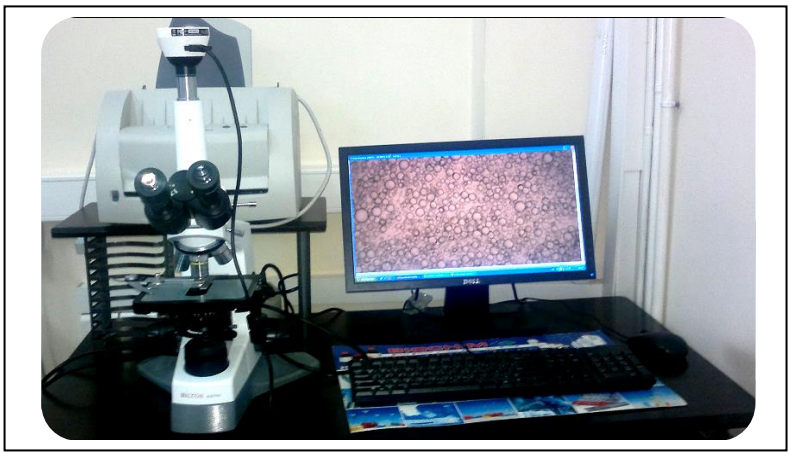
Tensiomètre : Les mesures tensiométriques ont été effectué en utilisant un tensiomètre à anneau qui permet de mesurer la force qu'exerce un fil de traction juste avant l'arrachement d'un anneau plongé dans le liquide dont on veut mesurer la tension superficielle. L'anneau en platine suspendu au fil a un diamètre d = 19.65 mm (marque PHYWE 02416.00).

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



Viscosimètre: pour l'analyse viscosimétriques, on a utilisé un viscosimètre de type Bohlin Visco 88 est un outil facile à utiliser qui fournit des mesures précises de la viscosité de cisaillement à taux de cisaillement simples ou multiples. Il est approprié pour une utilisation dans une variété d'industries et facilite une large plage de mesure : fluides à faible viscosité jusqu'à pâtes visqueuses, bien que sa grande plage de mesure permet également adapté pour les applications de développement de base. Le Visco 88 viscosimètre est fourni comme une unité de stand avec trois DIN cylindre concentrique systèmes de mesure.

Microscope: l'examen microscopique était réalisé à l'aide d'un microscope optique (marque DAFFODIL MCX version 2/09) qui permet un agrandissement jusqu'à 1000 fois.



I.2.2. Produits utilisés

Les principaux produits utilisés pour la réalisation de nos expériences sont regroupés dans le tableau III.1

Tableau III .1 . Liste des principaux produits utilisés.

Produits	caractéristiques
* Protéine: **Caséinate de sodium (CN-Na).**	❖ **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

∗ Biopolymère 01 : **pectine**	❖ **Apparence:** Poudre fine d'une couleur marron. Extrais de citron. ❖ **Teneur en méthyle:** Hautement méthylé 62%. ❖ **Solubilité :** soluble dans l'eau, insoluble dans l'éthanol.
∗ Biopolymère 02 : **Gomme xanthan**	❖ **Apparence:** poudre blanchâtre inodore et insipide. ❖ **Formule brute:** $(C_{35}H_{49}O_{29})_n$. ❖ **Solubilité** : soluble dans l'eau, insoluble dans l'éthanol
∗ Phase huileuse **Huile d'olive**	❖ **Couleur : jaune** ❖ **pH=** 6.70.
Phase aqueuse: Eau distillée	❖ C'est une eau préparée par distillation à partir de l'eau potable. Utilisée pour la préparation des solutions et La phase aqueuse des différentes formulations des émulsions.
∗ Tensioactif lipophile : **Dehymuls E**	❖ Sorbitane sesquioleate ❖ HLB 4 ❖ T° de fusion 45°C-60°C

I.3. Etude physico-chimique des mélanges (CN/P), (CN/GX) et (P/GX).

Pour mettre en évidence les effets liés à la concentration en polymère dans les systèmes (CN/P) et (CN/GX), nous avons étudié une gamme de concentrations en polysaccharide étendant de 0,1% à 2% pour la pectine et de 0.01 à 0.3% pour GX.

Nous avons étudié les systèmes par conductimétrie et tensiométrie 24 heures après formulation.

I.3.1. Préparation des solutions de biopolymère

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

Les solutions de CN ont été préparées par dispersion de la poudre de CN (%) dans l'eau distillée additionné d'un conservateur le benzoate de sodium à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 3 minutes. Les solutions de CN ont été conservées pendant 24H à température ambiante pour compléter leur hydratation.

b). Préparation des solutions des polysaccharides

b).1. Préparation des solutions de P

Les solutions de pectine ont été préparées par la dispersion de la poudre du biopolymère dans un bécher contenant de l'eau distillée et un conservateur, le benzoate de sodium, sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique à 60°C pendant 5 minute et cela pour faciliter l'hydratation et empêcher la formation des argémons dans les solutions. Les solutions de pectine ont été refroidies sous agitation continue à température ambiante pendant 24 h pour compéter leur hydratation. Les solutions de Pectine préparées ont été stockées à 4°C jusqu'à l'utilisation, la figure III.1 représente l'aspect dune solution de pectine à 2%

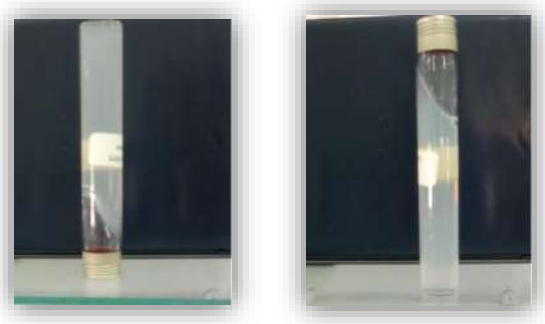


Figure III.1. Aspect de solution de P à 2%.

b).2. Préparation des solutions de GX

Les solutions de GX ont été préparées en introduisant la poudre du biopolymère dans un bécher contenant de l'eau distillée et un conservateur, le benzoate de sodium, sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique à 60°C pendant 5 minute et cela pour faciliter l'hydratation et empêcher la formation des argémons dans les solutions. Les solutions de polysaccharides ont été refroidies sous agitation continue à température ambiante pendant 24H pour compléter leur hydratation. Les solutions de GX préparées ont été stockées à 4°C jusqu'à l'utilisation.

c). Préparation des mélanges de (CN/P), (CN /GX) et de (P/GX).

Les solutions de (CN/P), (CN /GX) et de (P/GX) ont été préparées en mélangeant les solutions de CN et de P, CN et de GX, P et de GX respectivement pendant 1H à température ambiante et à pH naturel. L'ajustement de pH a été réalisé par additionnement d'une solution de HCl 1% sous agitation jusqu'à pH5 en utilisant un pH mètre. Les solutions préparées ont été stockées à 4°C jusqu'à l'utilisation. Notant que quelques solutions

préparées ont présenté un phénomène d'incompatibilité caractérisé par une séparation de phase comme le montre la figure III.2.

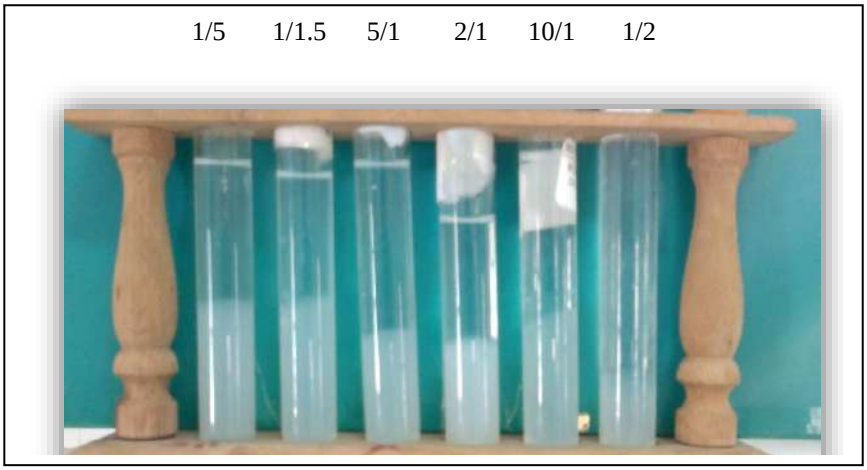


Figure III.2. Aspect de quelques solutions de (CN/P) à pH5.

I.3.2.Etude des solutions de CN

I.3.2.1.Mesure de la conductivité

Les mesures de la conductivité électrique des solutions 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, La figure III.3 montre la variation de la conductivité électrique en fonction de la concentration en CN à pH naturel et à pH5. Cette courbe permet de déterminer la valeur de la CMC de CN dans le milieu considéré.

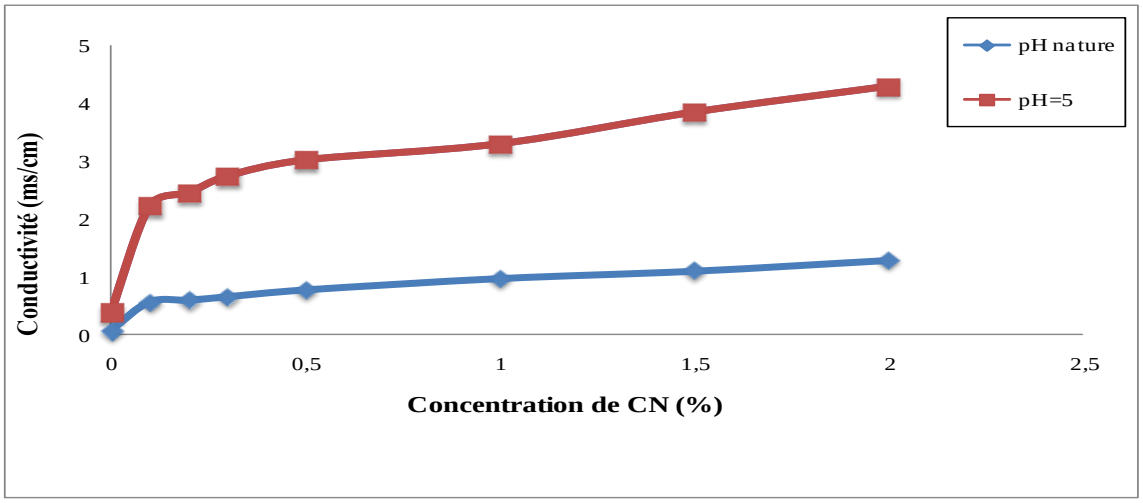


Figure III.3. Variation de la conductivité en fonction de la concentration en CN à pH naturel et à pH5

La figure III.3 montre que la conductivité de CN augmente fortement et linéairement avec sa concentration. Au-dessus de la valeur de CMC du CN qui est d'environ 0.1%.La conductivité croît plus lentement. Les valeurs de la CMC du CN à (pH naturel et pH5) sont dans le même intervalle mais les valeurs de conductivité sont élevées à pH5 par rapport à pH naturel. Il semblerait donc que le changement du pH n'influe pas le phénomène de micellisation du CN.

I.3.2.2.Mesure de la tension superficielle

La tension de surface ou tension superficielle est un phénomène qui résulte des forces Intermoléculaires qui agissent sur les molécules de la surface (liaisons hydrogène, forces de Vander Walls ou interactions dipôle-dipôle), et à l'intérieur du liquide.

Les mesures de la tension de surface en fonction de la concentration en CN à pH naturel et pH5 sont illustrées sur la figure III.4.

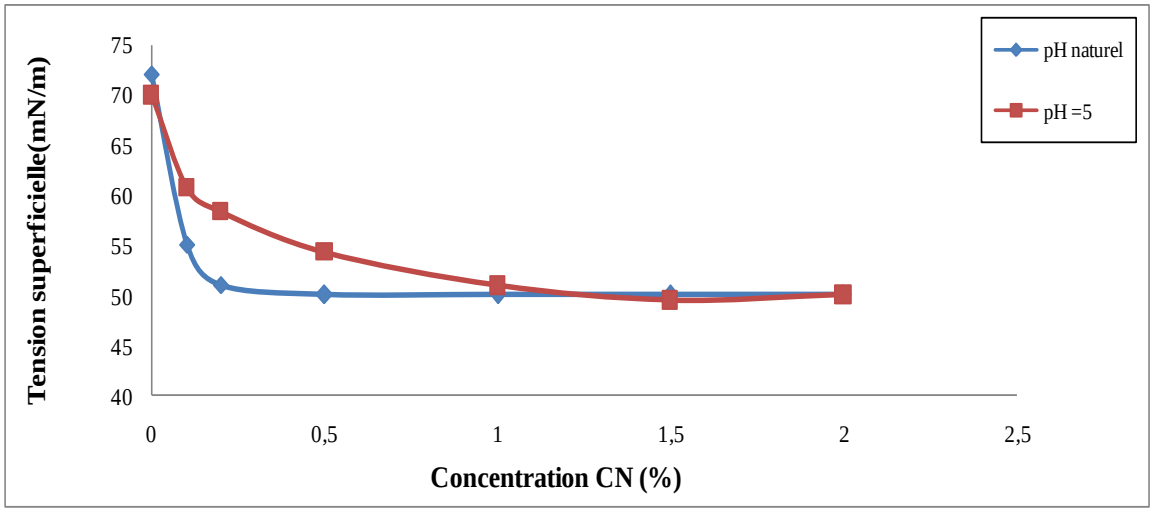


Figure III.4. La variation de la tension superficielle de CN à pH naturel et à pH5.

L'analyse de cette figure montre que la tension superficielle diminue avec l'augmentation de la concentration en CN puis se stabilise à une valeur relativement constante à partir de la CMC. C'est une caractéristique des tensioactifs ioniques 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. En comparant la tension superficielle des solutions de CN à pH naturel et à pH5, on peut conclure que l'ajustement de pH à une influence sur la tension superficielle des solutions de CN (entre 0.1% et 1%). Pour une solution de 0.2% de CN par exemple, la valeur de la

tension superficielle était 51 mN/m à pH naturel et 58.37 mN/m à pH5, mais ce changement de pH n'a pas une grande influence sur la CMC du CN.

I.3.2.3. Mesure de la viscosité

La viscosité des caséinates est très faible pour des concentrations inférieures à 100g/L **[36].** Les solutions de CN préparées ont présenté une faible viscosité et le viscosimètre utilisé n'a pas permet de les déterminer.

I.3.3.Etude de solution de pectine

I.3.3.1.Mesure de la conductivité

L'aptitude d'une solution macromoléculaire à conduire le courant électrique peut être caractérisée soit par la conductivité soit par la résistivité. La conductivité spécifique d'une solution de polyélectrolyte est la somme des contributions apportées par le biopolymère, les ions libres et les ions liés. La mobilité des petits ions libres (ou conductivité équivalente) est considérée comme indépendante de la présence du polyélectrolyte. La figure III.5. Montre la variation de la conductivité électrique des différentes solutions de P à pH naturel et à pH5

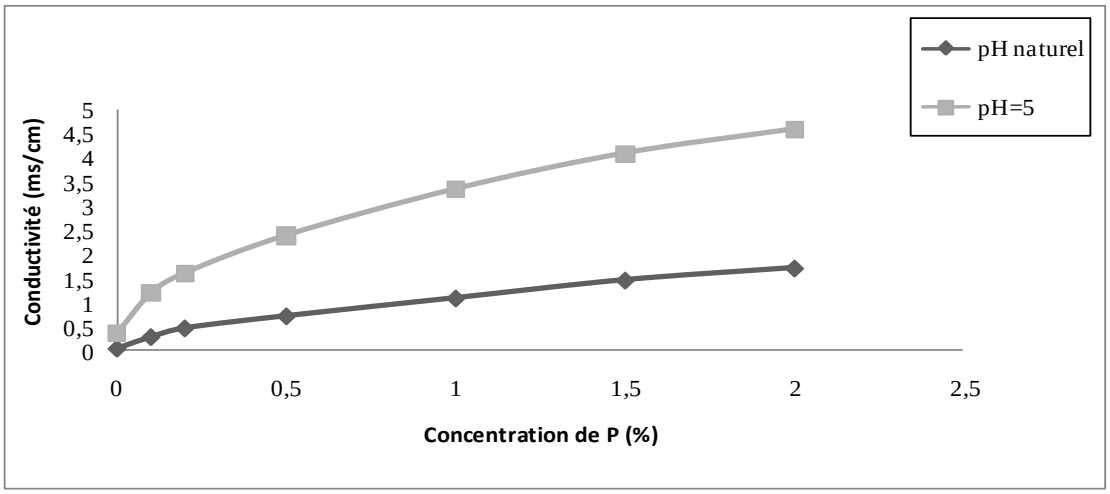


Figure III.5. Conductivité de pectine à pH naturel et à pH5.

À partir de cette figure on peut constater que les valeurs de la conductivité électrique des solutions de pectine sont élevées. Ceci rend compte du fait que notre polysaccharide est chargé dans ces conditions de pH. Cette figure montre aussi que l'ajustement de pH a une influence sur la conductivité des solutions. Les valeurs de la conductivité électrique des solutions de P sont élevées à pH5 qu'à pH naturel.

I.3.3.2.Mesure de la tension superficielle de pectine

Les mesures de la tension de surface en fonction de la concentration en pectine sont présentées sur la figure III.6.

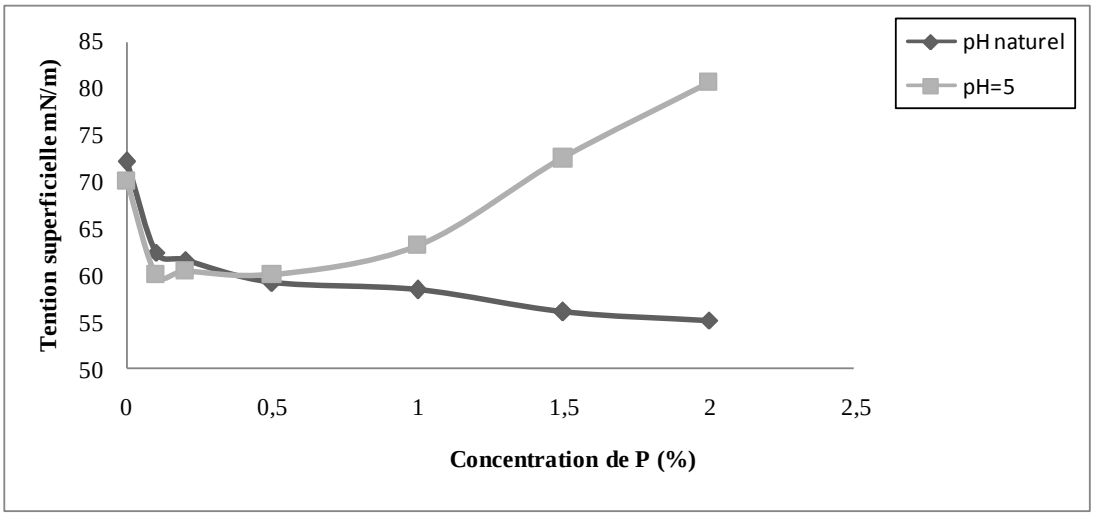


Figure III.6. Tension superficielle de P à pH naturel et à pH5.

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

À partir de 0.5% de pectine et à pH5 on remarque une augmentation important de tension superficielle. Donc on peu choisir des concentrations de pectine inférieure à 0,5% à pH5 pour les quelles la pectine possède des propriétés émulsifiantes.

I.3.4.Etude de solution de GX

I.3.4.1.Mesure de la conductivité

La figure III.7 montre la variation de la conductivité électrique des différentes solutions de GX à 25°C.

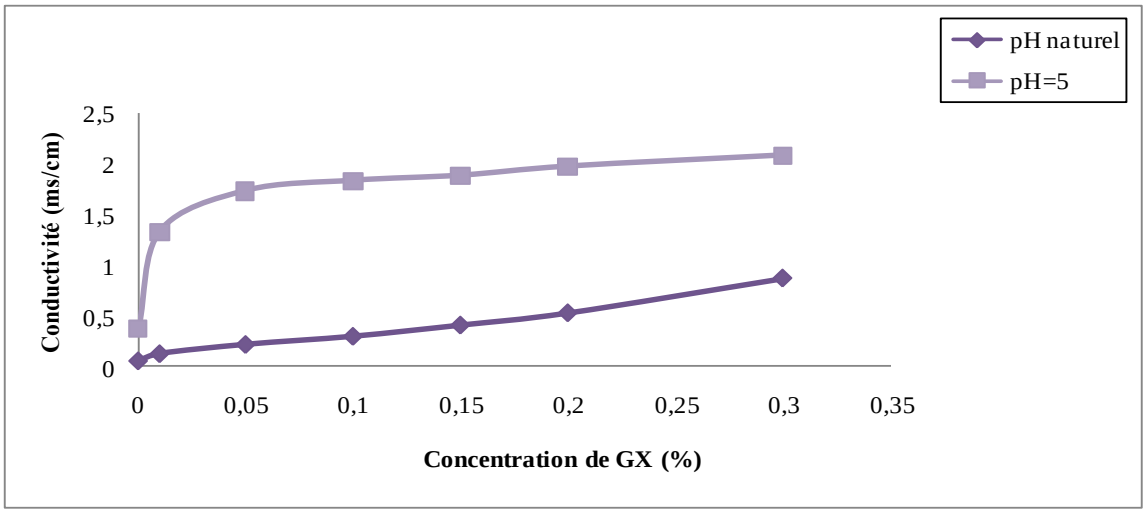


Figure III.7. Conductivité de GX à pH naturel et à pH5.

L'analyse de cette figure révèle que la conductivité électrique est proportionnelle à la concentration en GX. Cela est du au caractère ionique (anionique) de GX et qui se comporte comme un polyélectrolyte en solution, et donc l'augmentation de la concentration en GX qui contribue à l'augmentation des charges présentes en solution, ce qui conduit à une augmentation de la conductivité électrique. Les valeurs de la conductivité électrique des solutions de P sont élevées à pH5 qu'à pH naturel.

I.3.4.2.Mesure de la tension superficielle

Les mesures de la tension de surface en fonction de la concentration en GX sont présentées sur la figure III.8.

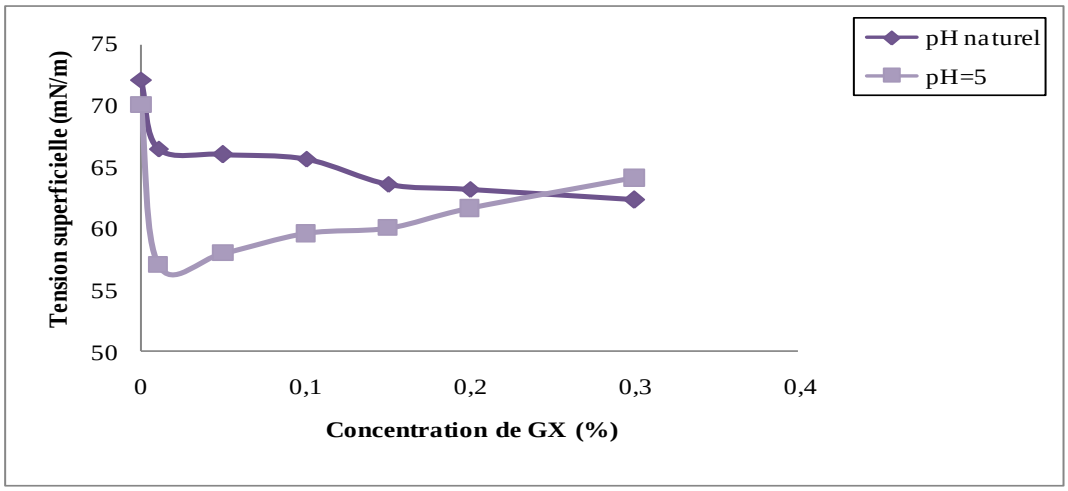


Figure III.8. La variation de la tension superficielle de GX à pH naturel et à pH5.

La figure III.8 représente l'évolution de la tension de surface des solutions de GX. On observe que la tension superficielle diminue progressivement jusqu'à atteindre une valeur minimale. À pH5 et à partir de 0.05% de GX la tension superficielle augmente, cela peut être expliqué par une transition conformationnelle subite par la molécule de GX. A faible concentration en HCl (0.1%), le GX se présente sous sa structure native qui correspond à la conformation adoptée par la macromolécule, une structure hélicoïdale qui résulte des différentes liaisons intermoléculaires et intra- macromoléculaires et qui contribue à l'augmentation de la tension superficielle des solutions.

I.3.5. Etude du mélange (CN/P)

I.3.5.1.Mesure de la conductivité des mélanges (CN/P)

Les figures III.9 et III.10 représentent la variation de la conductivité ionique des solutions (CN/P) en fonction de la concentration totale en CN% et en P%, à pH naturel et à pH5.

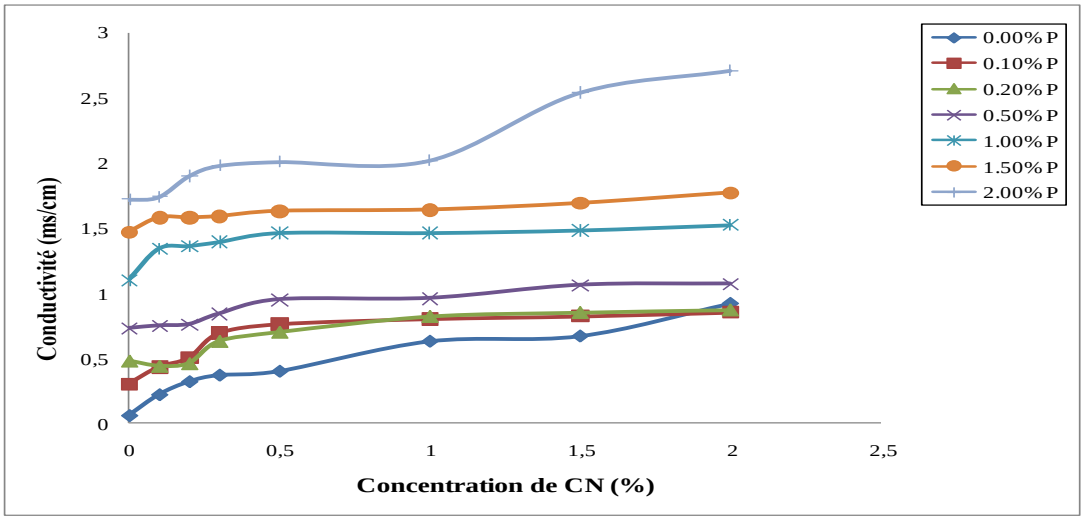


Figure III.9. Conductivité de CN en présence de pectine à pH naturel.

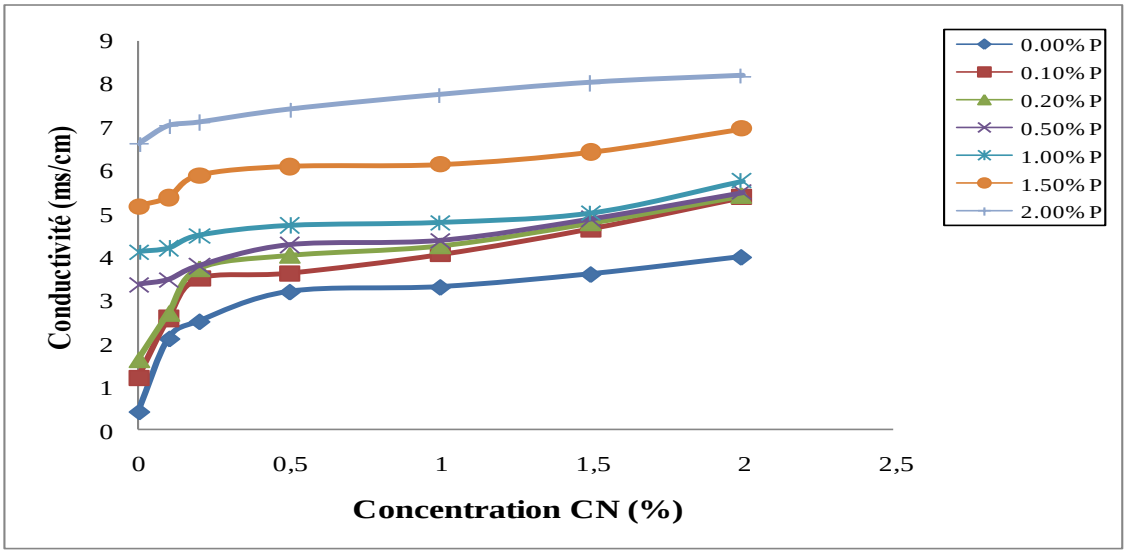


Figure III.10.Conductivité de CN en présence de pectine à pH5.

Les courbes des systèmes (CN/P) 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.

Quand on varié la valeur de pH jusqu'à 5 on remarque que la conductivité de mélange augmente considérablement a cause des interactions électriques.

La valeur de la CMC du CN à différent pourcentage de pectine reste dans le même intervalle. Il semblerait donc que l'ajout de la pectine n'influe pas le phénomène de micellisation du CN à pH naturel et à pH5.

En conclusion, on peu choisir des concentrations de CN entre 0.3 et 2% avec des concentrations inférieures à 0.5% de pectine à pH naturel et à pH5.

I.3.5.2.Mesure de la tension superficielle des mélanges (CN/P)

Nous avons mesuré la tension superficielle des solutions de CN à différentes concentrations en pectine. Pour mieux comprendre l'influence des interactions (CN/P) sur la tension de leur mélange. Les figures III.11 et III.12 représentent la variation de la tension de surface des solutions de CN en présence de pectine à température ambiante et à pH naturel et à pH5.

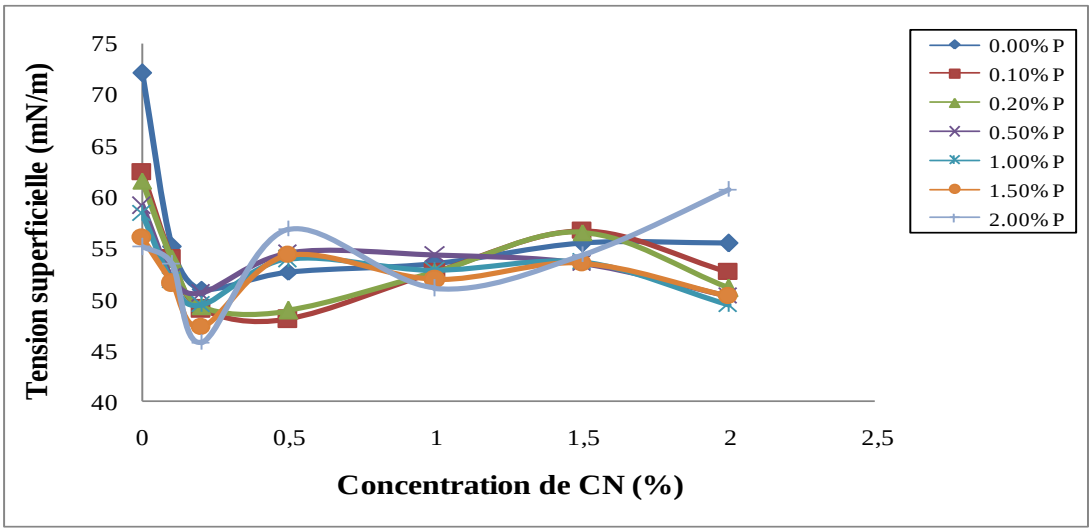


Figure III.11. Tension superficielle du mélange (CN/P) à pH naturel.

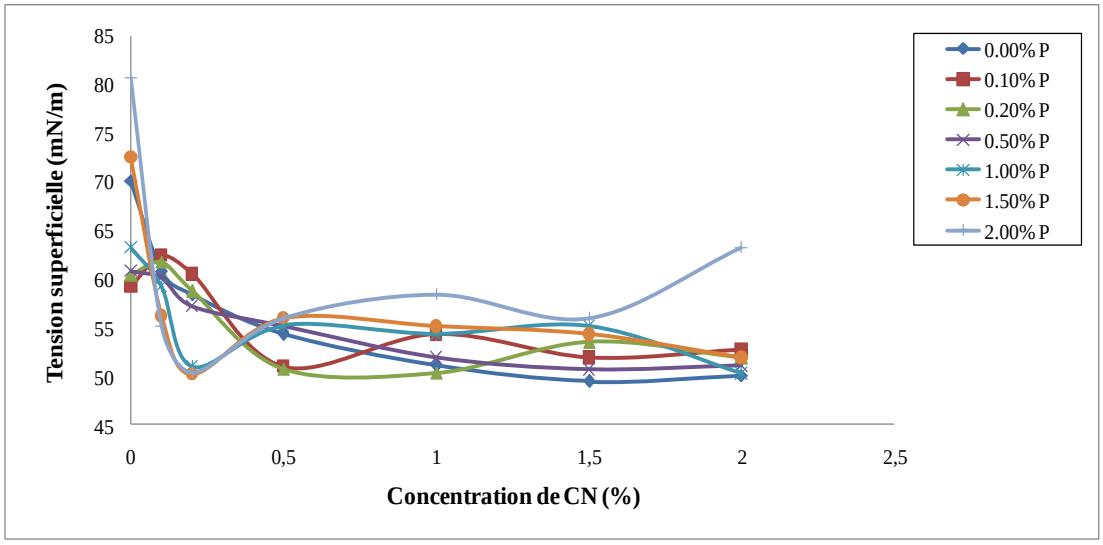


Figure III.12. Tension superficielle du mélange (CN/P) à pH5.

Pour mieux comprendre l'influence des interactions (CN/P) sur la tension de leur mélange nous avons mesuré la tension superficielle des solutions de CN à différentes concentrations en P et à différent pH.

La figure III.11 représente l'évolution de la tension de surface des solutions de CN en présence de pectine à 25°C et à pH naturel. L'analyse de cette figure montre que pour des faibles concentrations en pectine (< 0.5%) 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 0.5%, la tension superficielle du mélange est supérieure à 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 0.5% la tension superficielle du mélange est nettement supérieure à celle de CN lorsque sa concentration est supérieure à 0,2%. 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.2). Ce relâchement structural dû à une séparation ségrégative entre les deux biopolymères est causé par une incompatibilité thermodynamique entre eux. À pH5 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 les quelles chacun des 2 biopolymères se retrouve concentré individuellement.

I.3.5.3.Mesure de la viscosité des mélanges (CN/P)

Les polysaccharides sont utilisés dans diverses applications alimentaires et pharmaceutiques pour augmenter la viscosité des solutions. Pour étudier l'effet de la concentration en pectine sur la viscosité des mélanges (CN/P) nous avons mesuré leur viscosité par un viscosimètre de tige numéro un (R_2), à une vitesse constante (60 tr /min), à température ambiante, et à pH naturel et à pH 5. Les résultats de mesures sont représentés sur les figures III.13 et III.14.

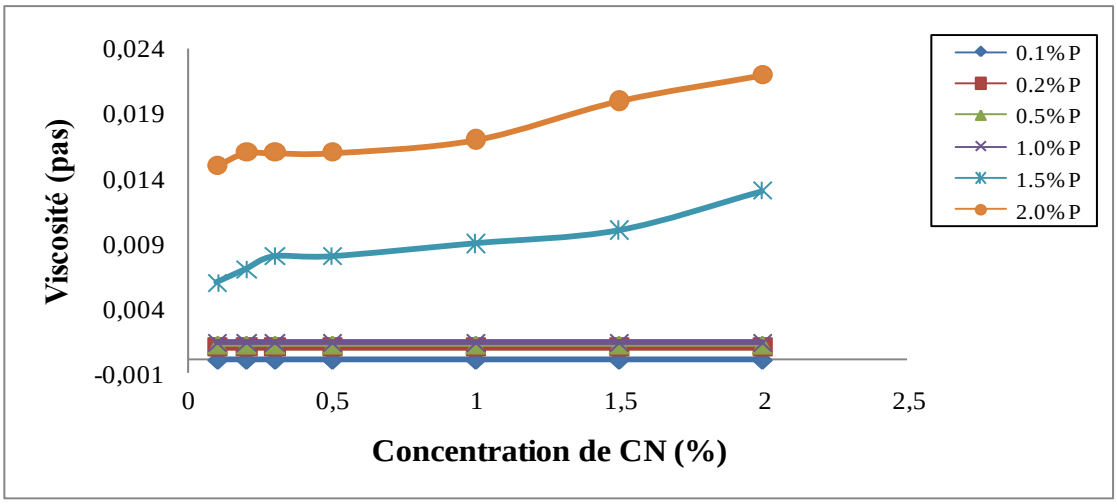


Figure III.13. Effet de la concentration en CN et en pectine sur la viscosité de leur mélange à pH naturel

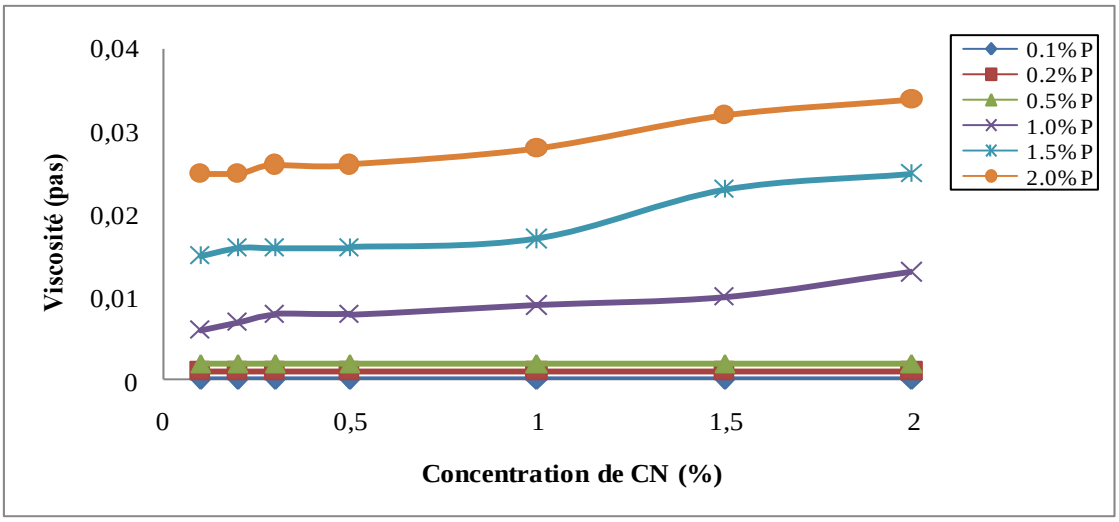


Figure III.14. Effet de la concentration en CN et en pectine sur la viscosité de leur mélange à pH5

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 0.025 pas. Si on variée le pH à 5 on constate que les valeurs de viscosité augmente à partir de 1% de pectine. Donc pour avoir une viscosité importante des solutions de CN et de pectine il faut travailler avec des concentrations supérieures à 1% en pectine et à pH5.

I.3.6. Etude des mélanges CN/GX

I.3.6.1 Mesure des conductivités électriques

Les figures III.15 et III.16 représentent la variation de la conductivité ionique des solutions (CN/GX) en fonction de la concentration totale en CN% et en GX%, à pH naturel et à pH5.

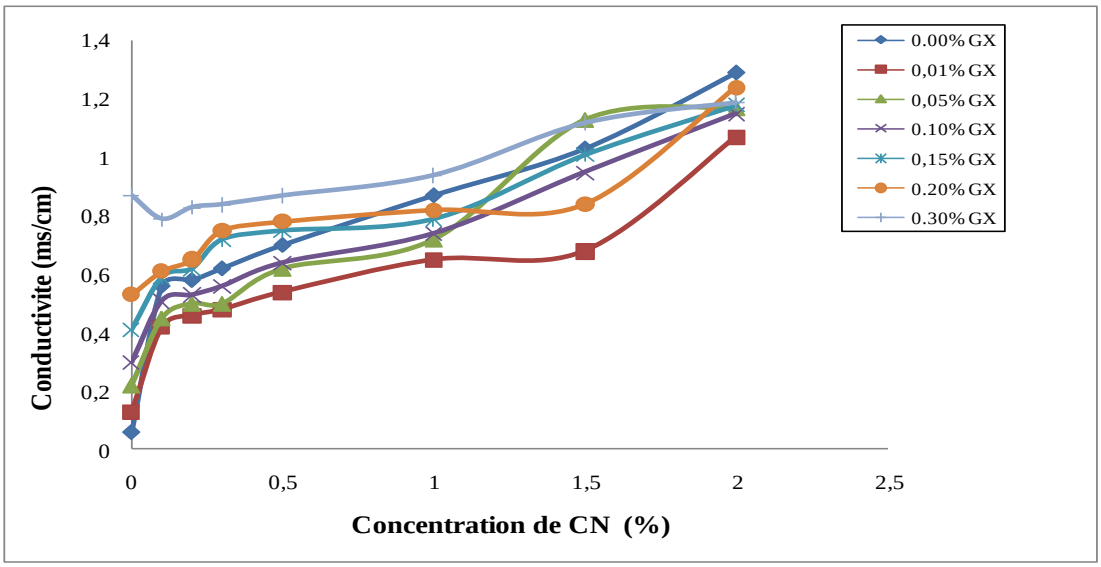


Figure III.15. La Conductivité de CN en présence de GX à pH naturel.

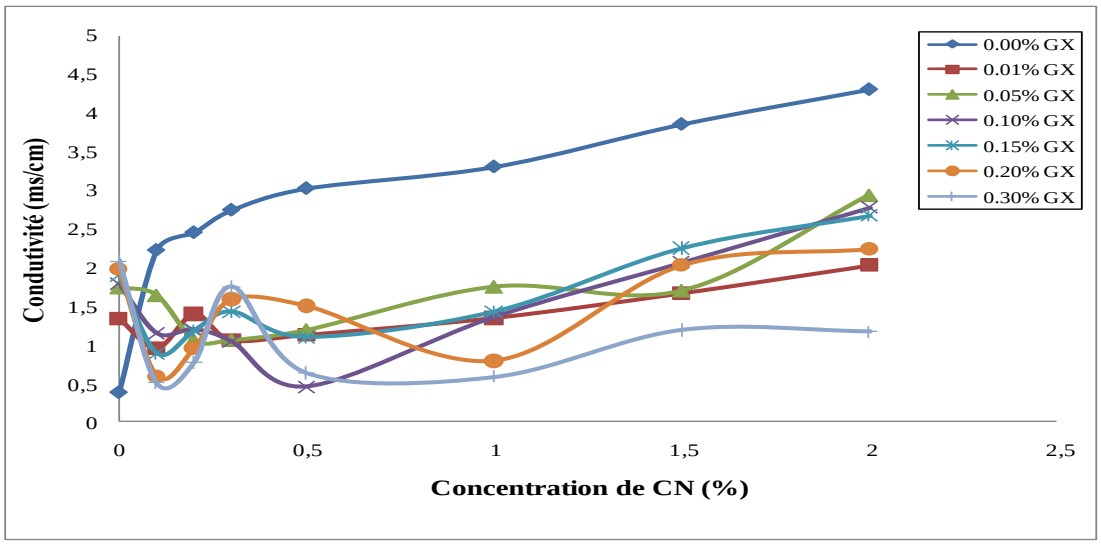


Figure III.16. La Conductivité de CN en présence de GX à pH5.

La figure III.15 montre que la conductivité des mélanges (CN/GX) prend la même allure que sel de CN seul jusqu'a des concentrations de 0.2% en GX quelque soit la concentration en CN. A partir de cette concentration, on remarque une augmentation de la

conductivité électrique du mélange et cela peu être du à un excès en GX qui est chargé négativement.

La figure III.16 montre aussi que l'ajustement de pH a une influence sur la conductivité électrique des solutions des mélanges de (CN/GX). On remarque que la conductivité de ces solutions est inférieure à celle des solutions de CN seul à cause de changement de la charge de la protéine. Notons que le PI de CN est de 4.6 donc à pH5, cette protéine est non chargé.

En conclusion pour minimiser les interactions électrostatiques répulsives entre la GX et la CN, on peut choisir un pH proche du PI de la protéine.

I.3.6.2 Mesure de la tension superficielle

Nous avons mesuré la tension superficielle des solutions de CN à différentes concentrations en GX pour mieux comprendre l'influence des interactions (CN/GX) sur la tension superficielle de leur mélange. Les figures III.17 et III.18 représentent la variation de la tension de surface des solutions de CN en présence de GX à température ambiante et à pH naturel puis à pH5.

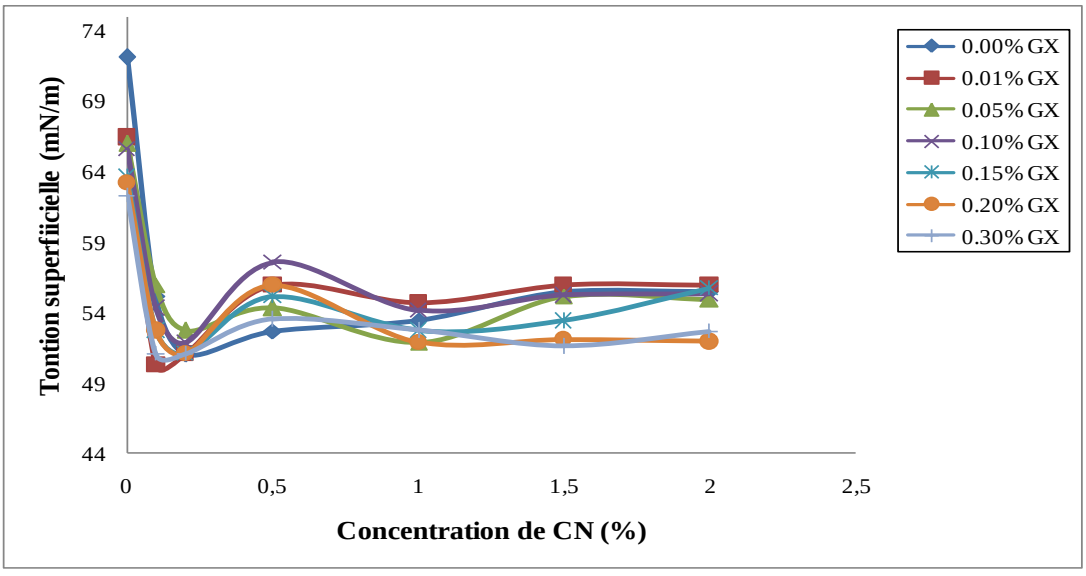


Figure III.17.Tension superficielle de CN à pH naturel.

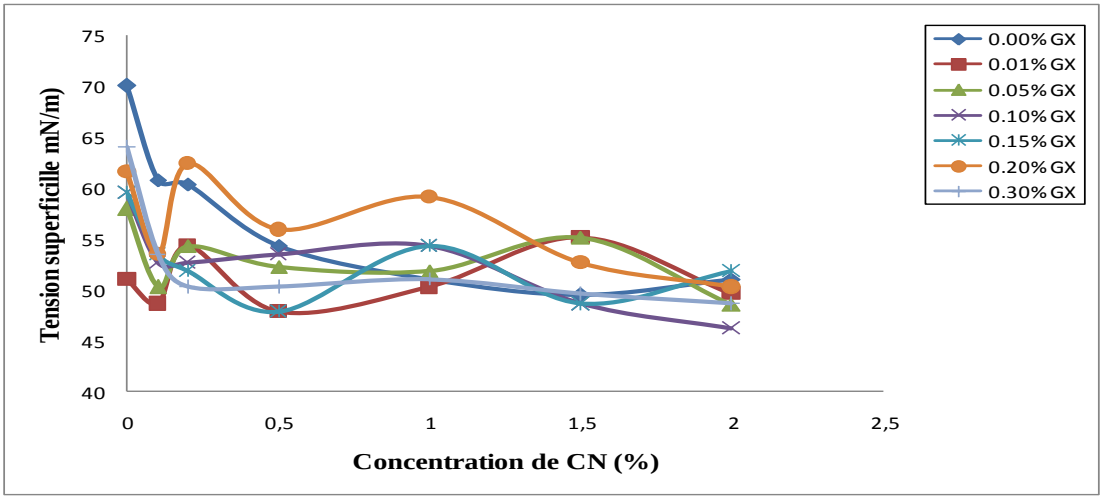


Figure III.18. Tension superficielle du mélange (CN/GX) à pH5.

L'analyse de cette figure montre que l'ajout du GX aux solutions de CN influe beaucoup sur la tension de surface de ces solutions à pH naturel et à pH5. La GX étant un polysaccharide anionique joue un double rôle en solution par sa charge nette et sa concentration qui influe beaucoup sur la solubilité de CN. Cette solubilité est fonction de la force ionique et des interactions de répulsion entre les macromolécules du GX et celles des CN qui sont chargées négativement à pH naturel **[30].**

D'autre part, la présence du GX dans la solution conduit à une auto-association des macromolécules du GX entre elles par des interactions intermoléculaires, et donc vont occuper un volume important dans la solution, ce qui conduit à une exclusion des macromolécules de CN par des effets stériques (effet duc volume exclu), et elles vont se retrouver à la surface, ce qui explique la diminution de la tension de surface en présence de GX **[30].** À pH5 on observe une perturbation de la tension superficielle à cause du changement des interactions électrostatiques entre les deux biopolymères dû au changement de la charge de la protéine (non chargée).

I.3.6.3.Mesure de la viscosité des mélanges (CN/GX)

Pour étudier l'effet de la concentration en GX sur la viscosité des mélanges (CN/GX) nous avons mesuré leur viscosité par la même procédure que pour (CN/P), à température ambiante, à pH naturel et pH5. Les résultats de mesure de la viscosité apparente sont représentés sur les figures III.19 et III.20.

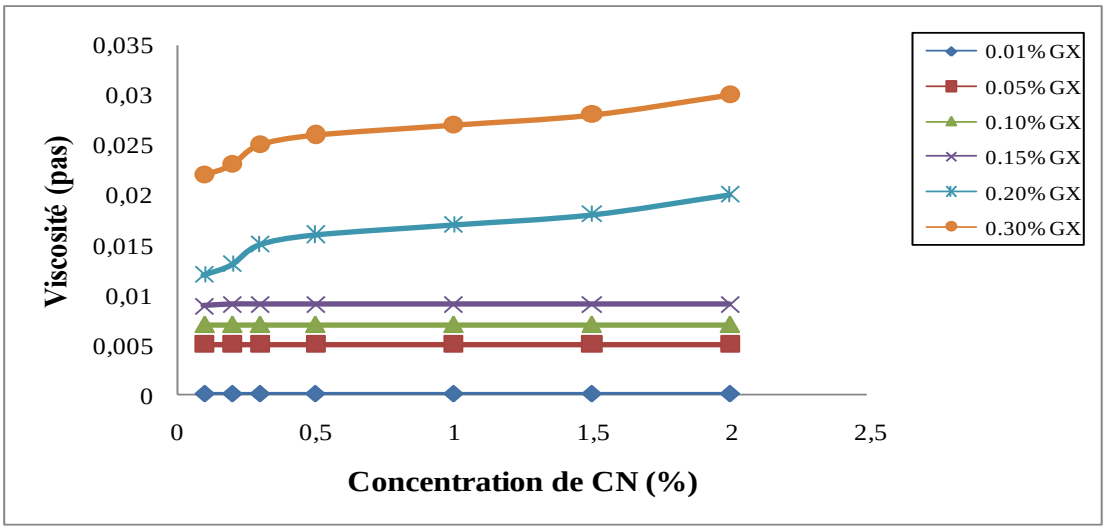


Figure III.19. Effet de la concentration en CN et en GX sur la viscosité de leur mélange à pH naturel.

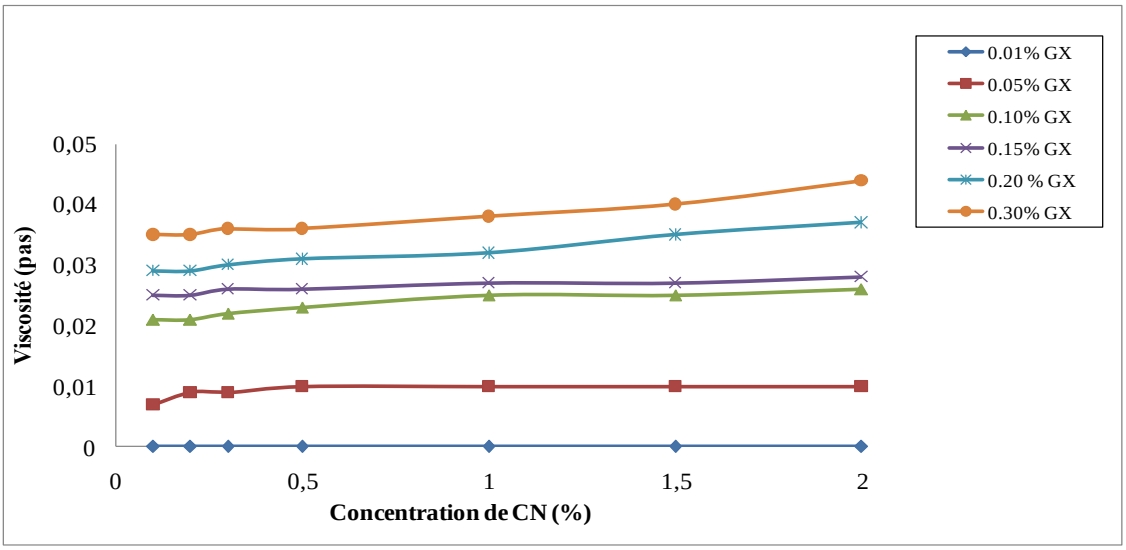


Figure III.20.Effet de la concentration en CN et en GX sur la viscosité de leur mélange à pH5.

L'examen des figures III.19 et III.20 montre que la viscosité des solutions augmente avec l'augmentation de la concentration en GX quelques soit la concentration en CN. Notons que pour des faibles concentrations de GX la viscosité augment considérablement par apport aux mélanges (CN/P).

L'ajustement de pH des mélanges (CN/GX) a une influence sur leur viscosité. Une valeur de viscosité de 0.028 Pas était mesurée pour un rapport de 0.15/0.3 en (CN/GX) à pH

naturel contre 0.04 Pas pour le même rapport en (CN/GX) à pH5. Cela peu être dû au changement de la charge en protéine donc au changement de la nature des interactions entre les deux biopolymères se qui influe sur la structure interne du réseau formé par la CN et la GX.

I.3.7.Etude des mélanges (P/GX)

I.3.7.1.Mesure de la conductivité

La figure III.21 représente l'évolution de la conductivité ionique des mélanges (P/GX) en fonction de la concentration totale en P et en GX.

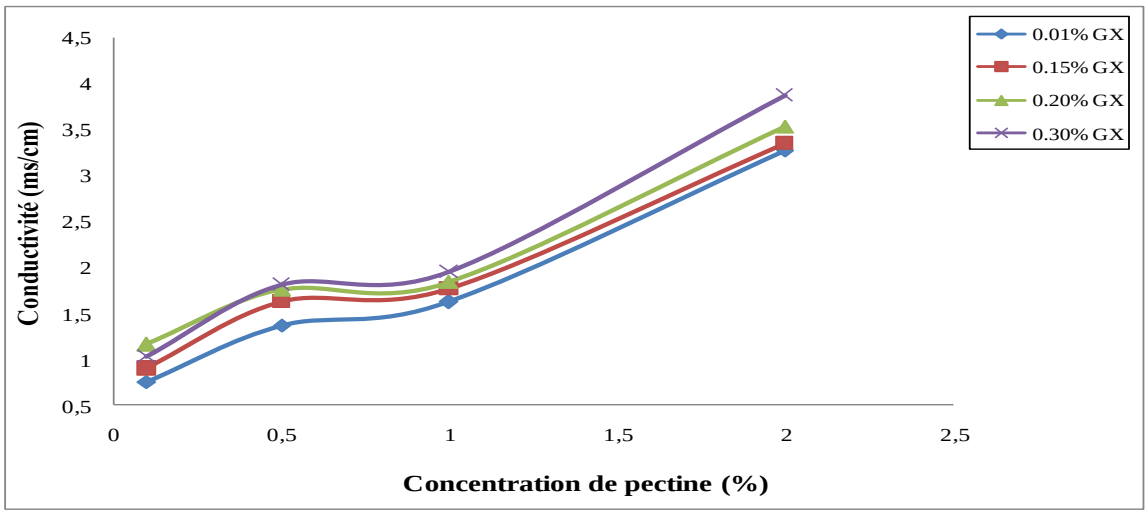


Figure III.21. La Conductivité de pectine en présence de GX à pH naturel.

L'analyse de cette figure montre que l'augmentation de la concentration de la GX ou du P à une influence sur la conductivité électrique du mélange (P/GX). Pour des concentrations constantes en P, plus on augmente la concentration en GX, plus la conductivité du mélange augmente et pour des concentrations constante en GX, plus en augmente la concentration en pectine plus la conductivité augmente, cela peut être dû au caractère anionique des deux polysaccharides.

I.3.7.2.Mesure de la tension de surface (P/GX)

Nous avons mesuré la tension superficielle des solutions (P/GX) pour mieux comprendre l'influence des interactions (P/GX) sur la tension de leur mélange .Les mesures de la tension de surface de mélange (P/GX) sont illustrées sur la figure III.22.

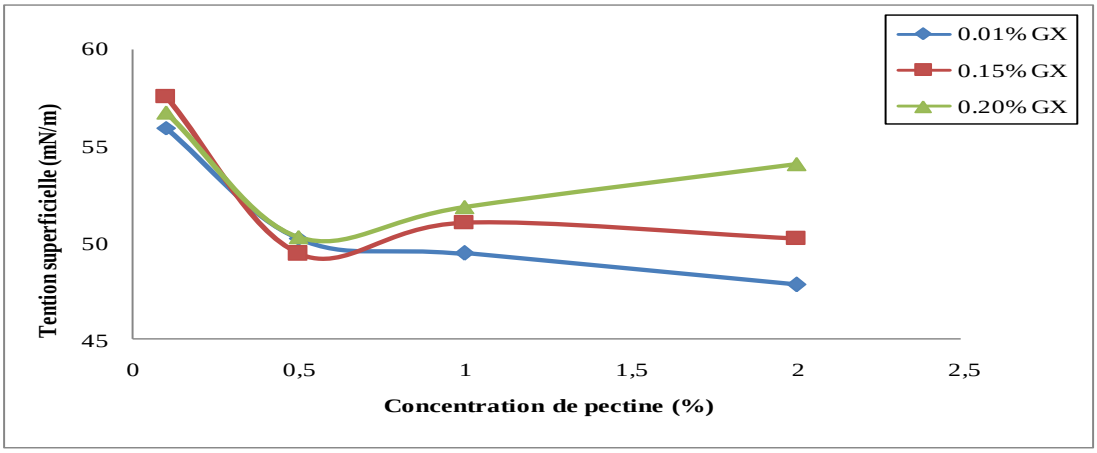


Figure III.22. Tension de surface de pectine en présence de GX à pH naturel.

On observe que la tension superficielle diminue progressivement jusqu'à atteindre une valeur minimale quelque soit le rapport (P/GX). A partir de cette valeur et pour une concentration de 0.01% en GX, la tension superficielle diminue mais pour des concentrations de 0.15% et 0.2% en GX la tension superficielle augmente, donc pour ces concentrations, le phénomène de micillisation du mélange est masqué. Cela peut être dû à un excès en GX. Notons que pour des concentrations plus élevées en GX (0.3%), les solutions obtenues étaient d'une grande viscosité et la mesure de la tension superficielle du mélange était difficile.

I.3.7.3.Mesure de la viscosité (P/GX)

Pour étudier la viscosité des solutions (P/GX) on mesurée ca valeur a l'aide de même procédure utilisée pour (CN/P) et (CN/GX), Les résultats de mesure sont représentés sur la figure III.23.

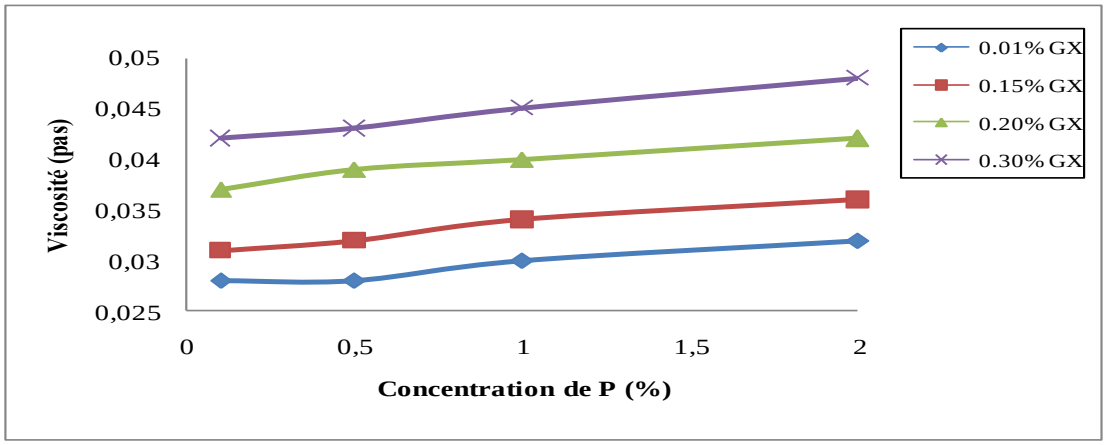


Figure III.23. La viscosité de P en présence de GX à pH naturel.

L'examen de la figure III.23 montre que la viscosité des solutions augmente avec l'augmentation de la concentration en pectine et en GX. Pour des concentrations constantes en GX, en augmentant la concentration en P, la viscosité apparente du mélange augmente légèrement par contre, pour des concentrations en P constante, en augmentant la concentration en GX, la viscosité apparente du mélange augmente considérablement, donc la GX est plus viscosifiante que la P.

I.4.Conclusion

Cette étude nous a permis de sélectionner les solutions de mélanges des protéine/polysaccharide et polysaccharide/ polysaccharide optimale pour la formulation des émulsions primaires.

II. Formulation des émulsions primaires de type H/E

II.1. Protocol expérimental

L'émulsion primaire de type H/E a été préparée en additionnant la phase huileuse (huile d'olive) à la phase aqueuse contenant des quantités appropriées de (CN/P), (CN/GX) ou (P/GX) sous agitation de 1400 tr/min pendant 10 min à l'aide d'un agitateur magnétique à température ambiante. Afin de diminuer la taille des gouttelettes, l'émulsion obtenue est homogénéisée à l'aide d'un homogènèiseur (Ultra-turax T-25).L'ajustement de pH a été réalisé par une solution de HCl 0.1%.

II.2.Emulsions H/E préparée à base de (CN/P)

La composition des différentes émulsions H/E préparées est présentée dans le tableau III.2.

Tableau III.2 : les différents constituants des émulsions primaires (CN/P) formulées.

	N° de formulation					
Composition (% massiques)	01	02	03	04	05	06
Huile d'olive	20	20	20	20	20	20
CN/P	1/4	1/6	1/8	2/4	2/6	2/8
benzoate de sodium E211	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Eau	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp
Conductivité (ms/cm) à pH naturel	2.15	2.94	4.12	2.29	3.14	4.03
Observation après préparation	H	H	H	H	H	H
Conductivité (ms/cm) à PH5	2.46	3.05	4.40	2.93	3.26	4.10
Observation après préparation	H	H	H	H	H	H

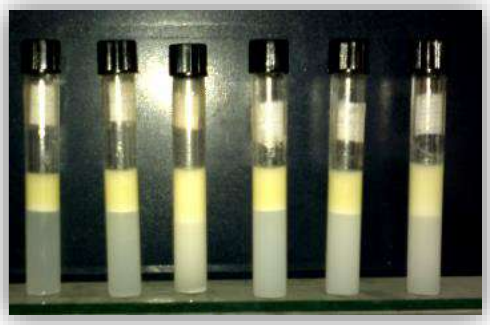
H : Homogène**.**

II.2.1.Caractérisations physico-chimiques des émulsions primaires formulées à pH naturel et pH5

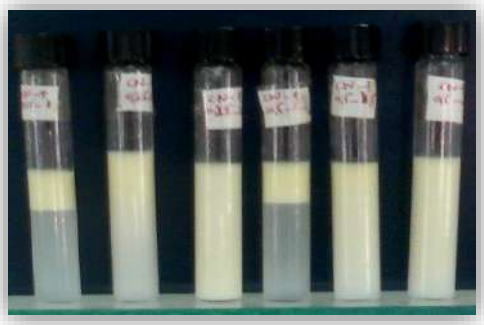
- **Etat macroscopique**

Les émulsions préparées à pH naturel ont un aspect homogène d'une couleur jaune. Les mesures de la conductivité électrique obtenue sont importantes en (ms/cm) qui indique que les émulsions sont de natures aqueuses. Après 4H toutes les formulations préparées ont présenté une séparation de phase.

Les émulsions préparées à pH5 ont aussi un aspect homogène d'une couleur jaune. A ce pH, on observe une séparation de phase pour les formulations 1et 4 après 4H, les autres formulations ont gardé une stabilité pendant 24 heures (figure III.24).



pH naturel

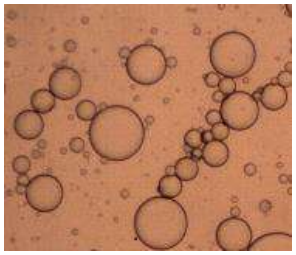


pH5

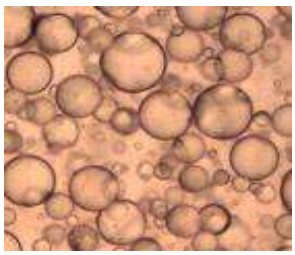
Figure III.24. Aspect des émulsions H/E à base de (CN/P) après 4H à pH naturel et pH5.

- **Analyse microscopique**

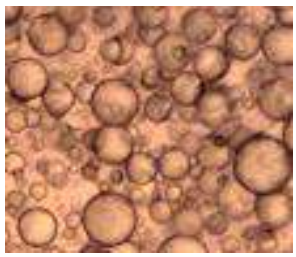
L'examen microscopique des émulsions H/E préparée a été réalisé à l'aide d'un microscope DAFFODIL MCX 100 (version 2/09) à un agrandissement de 100 fois. Pour une meilleure dispersion des gouttelettes l'échantillon est placé entre lame et lamelle. La figure III.25 représente la micrographie des émulsions H/E préparé par (CN/P) à pH naturel.



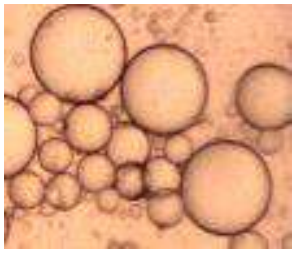
f_1



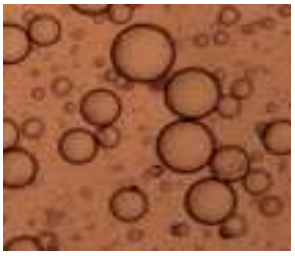
f_2



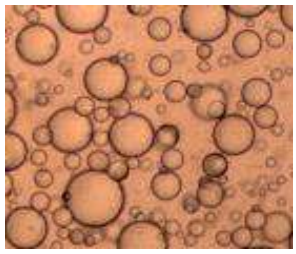
f_3



f_4



f_5



f_6

Figure III.25.Vues microscopiques des émulsions H/E préparé à base de (CN/P) à pH naturel.

Cette figure montre bien la dispersion des globules huileuse dans la phase aqueuse. Le nombre des globules augmente avec l'augmentation de la concentration en biopolymères.

À pH naturel pour des concentrations constantes en CN en augmentant la concentration en P, on observe une augmentation de nombre des globules et diminution de leurs tailles. Quand en augmentant les concentrations en CN et en P on remarque l'augmentation des taille des globules des formulations N° 4 et 5 par rapport aux formulations N° 1et 2 et diminution de taille de formulation N°6 par rapport à N°3.

En ajustant le pH à 5 des 06 formulations préparées on observe que le nombre des globules huileux augmente tandis que leur taille diminue comme le montre la figure III.26.

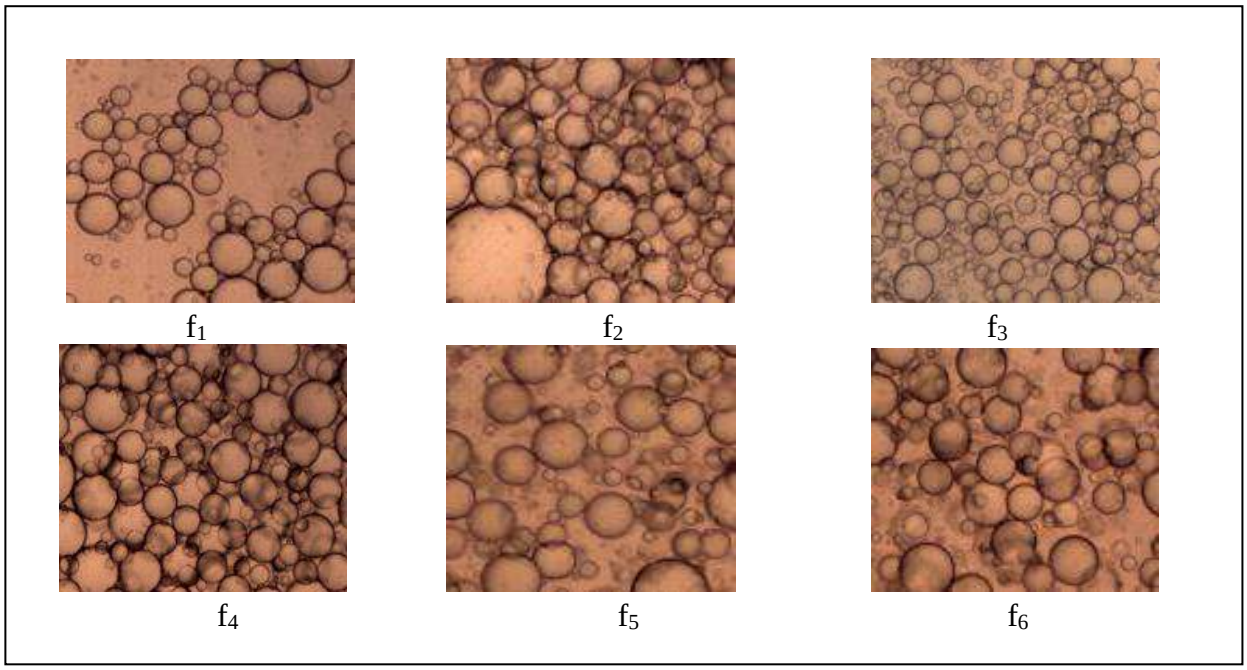


Figure III.26. Vues microscopiques des émulsions H/E préparées par (CN/P) à pH5.

A pH naturel, les deux biopolymères sont chargés négativement ce qui augmente leurs interactions électrostatiques répulsives, donc la GX ne favorise pas l'absorption du CN à l'interface H/E. A pH5, la CN est proche de son PI donc faiblement chargé, dans ce cas les interactions électrostatiques répulsives diminuent et la GX favorise l'absorption du CN à l'interface.

- **Test de stabilité à la centrifugation**

Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 2000 tours/minute, pendant 5 minutes. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.3.

Tableau III.3. Résultat de test de centrifugation.

vitesses de centrifugation		N° de formulation					
		01	02	03	04	05	06
à pH naturel	1000 tr/min	+-	+	+	+-	+	+
	2000 tr/min	-	+-	+	-	+-	+-
à pH5	1000 tr/min	+	+	+	+	+	+
	2000 tr/min	+	+-	+-	+	+	-

+ : Stable +- : légère séparation - : séparation

D'après ce test, les formulations N° 1,4 et 5 sont instables à pH naturel et stables à pH5.
L'aspect des émulsions après le test de centrifugation à pH naturel est représenté sur la figure III.27.

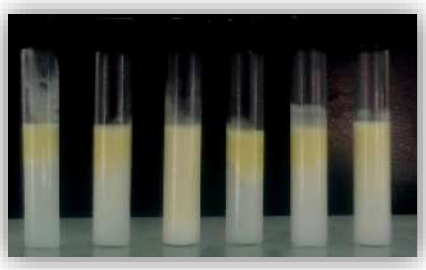


Figure III.27. Aspect des émulsions primaires (CN/P) à pH naturel après centrifugation.

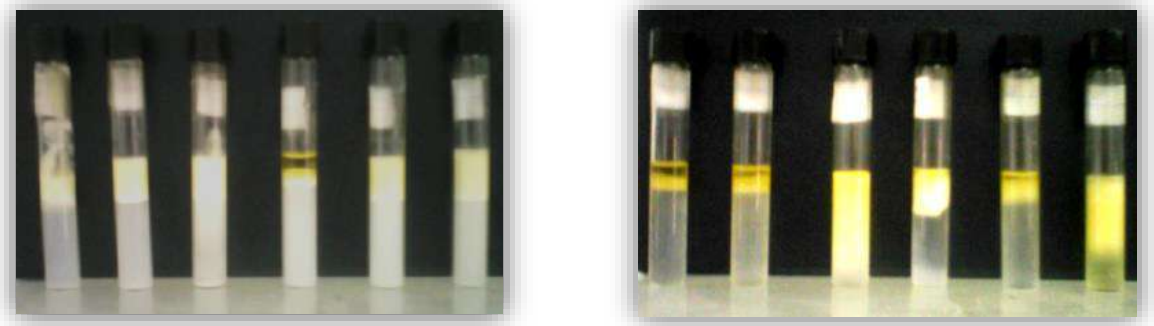
- **Etude de stabilité accélérée à différentes températures de stockage**

Le suivi de la stabilité des émulsions est réalisé par diverses techniques comme la granulométrie, la rhéologie, la spectroscopie infrarouge. L'observation de la séparation macroscopique de la phase dispersée en fonction du temps est aussi la plus utilisée pour contrôler leur stabilité **[73].**

Les émulsions instables sont identifiées par observation d'une séparation de leurs phases, quantifiée par un paramètre qui est l'indice de crémage. Ce dernier a pour formule

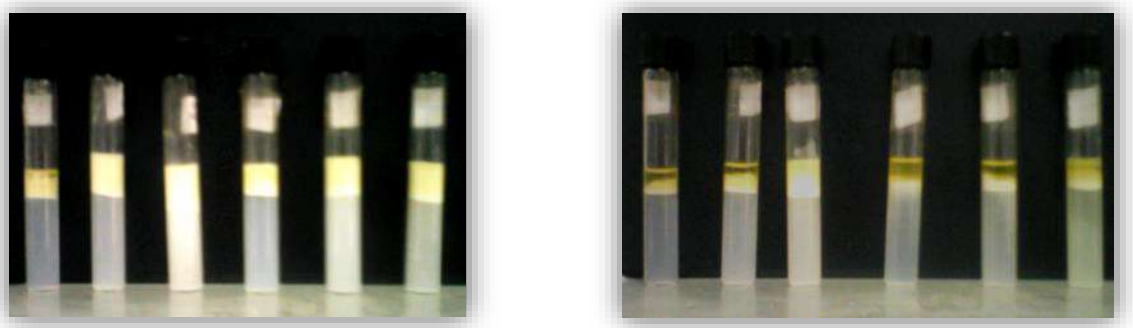
$$I.C = \frac{H_E - (H_S + H_C)}{H_E} \qquad [73].$$

Les figures III.28 et III.29 représente l'aspect des émulsions H/E a déférentes températures de stockage à pH naturel et à pH5.



À T ambiante À T=40°c

Figure III.28. Aspect des émulsions H/E préparées par (CN /P) pH naturel après 12 jours



À T ambiante À T=40°c

Figure III.29. Aspect des émulsions H/E préparées par (CN /P) à pH5 après 12 jours.

On remarque que la température accélère la séparation de phase des émulsions préparées quelque soit la valeur de pH.

Les figures III.30 et III.31 représentent la variation de l'indice de crémage des émulsions formulées à pH naturel et à pH5 en fonction du temps.

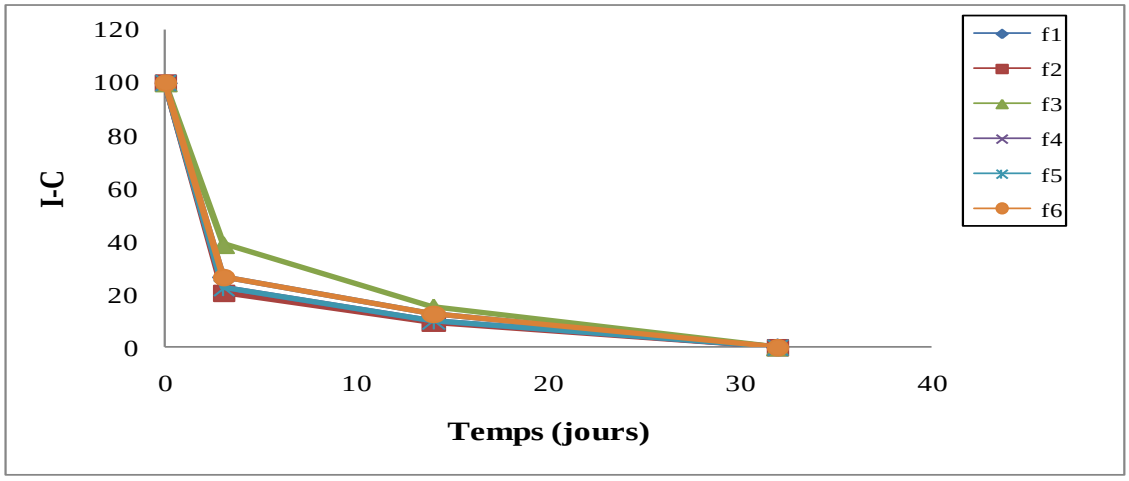


Figure III.30. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/P) en fonction du temps à pH naturel.

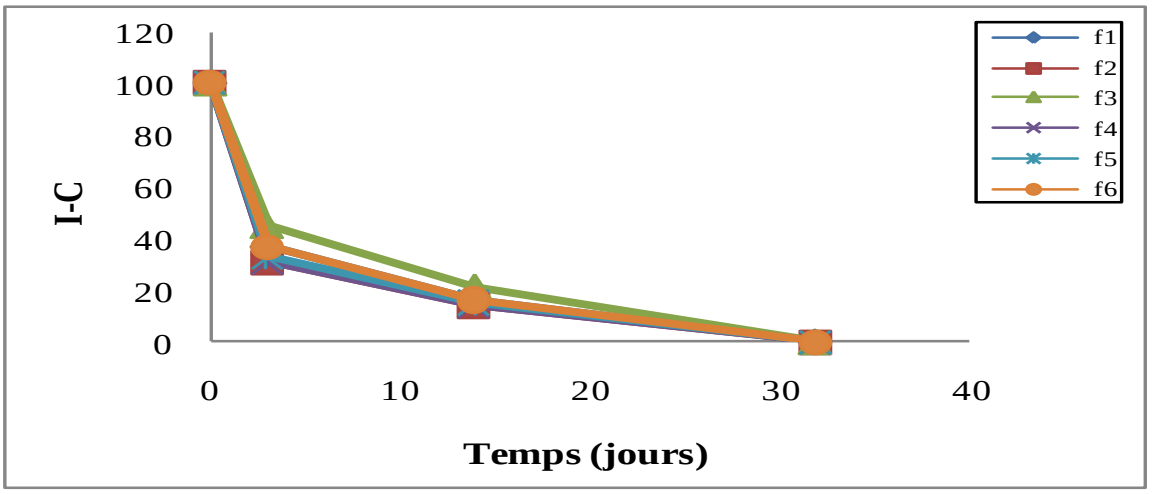


Figure III. 31. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/P) en fonction du temps à pH 5.

L'analyse de ces deux figures montre que le crémage à pH naturel est plus rapide par rapport à pH5. La température de stockage a une influence sur l'indice de crémage comme la montre les figures III.32 et III.33.

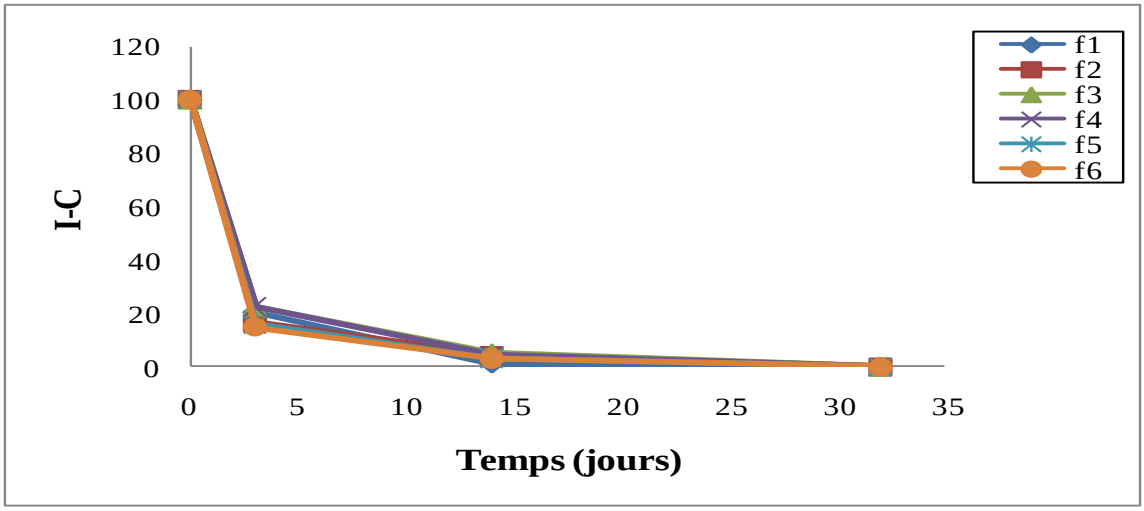


Figure III.32. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparée par (CN/P) en fonction du temps à pH naturel et T =40°C**.**

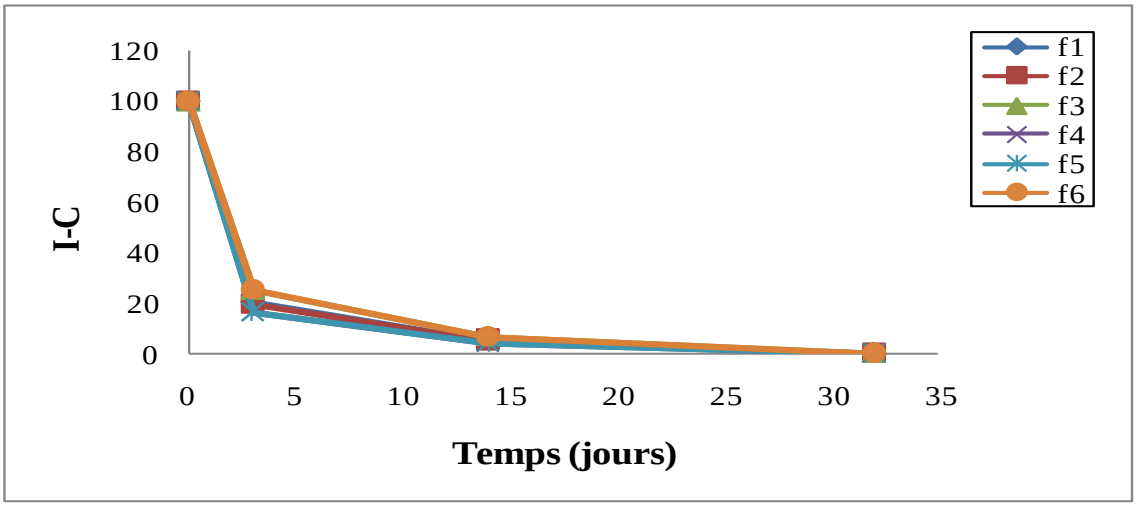


Figure III.33. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/P) en fonction du temps à pH5 et T =40°C.

Ces figure montre que l'indice de crémage diminue en fonction du temps quelque soit la concentration en P. On peut conclure que les rapports utilisés en (CN/P) n'ont pas donné des émulsions stables et cela peut être dû à la faible viscosité de la phase extérieure du au faible caractère viscosifiant de P.

- **Etude de la viscosité**

Ce test consiste à étudier la variation de la viscosité en fonction des vitesses de cisaillement. Les mesures de la viscosité apparente sont effectuées par un viscosimètre de tige numéro deux (R_2), à une vitesse constante (60 tr /min) et à température ambiante.

L'évolution de la viscosité en fonction des vitesses de cisaillement est représentée sur les figures III.34 et III.35.

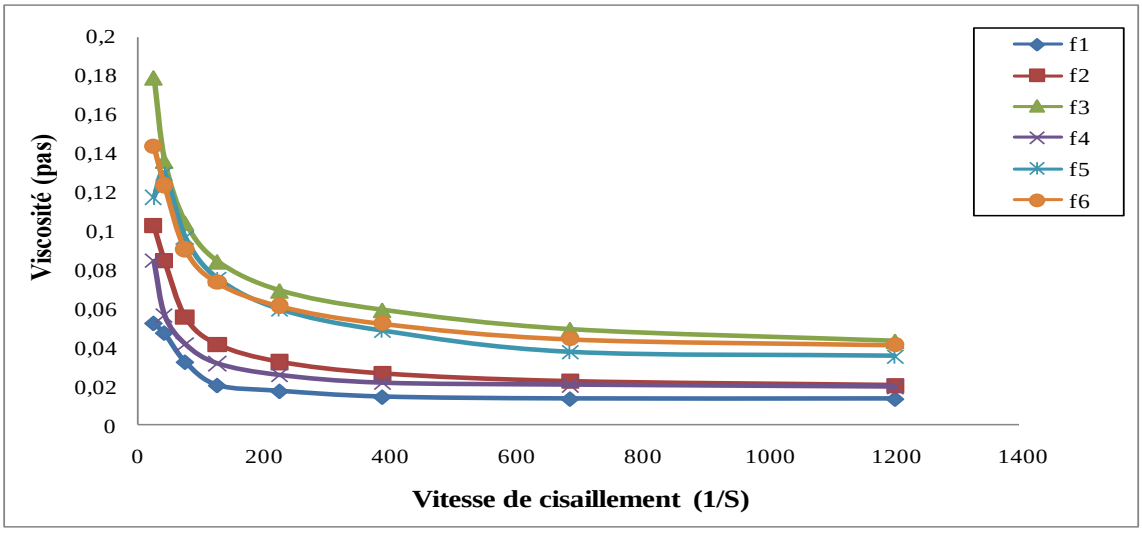


Figure III.34. Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions préparées par (CN/P) à pH naturel.

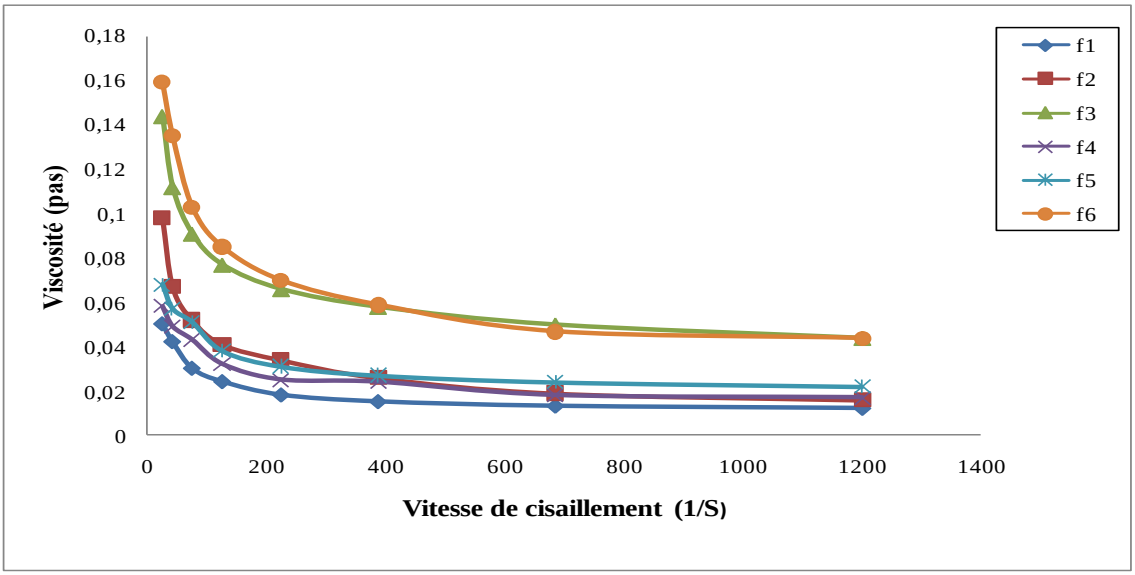


Figure III.35. Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions préparées par (CN/P) à pH5.

Les résultats obtenus montrent que la viscosité apparente pour toutes les formulations diminue en fonction de la vitesse de cisaillement à pH naturel et à pH5 pour des faibles vitesses puis prend une valeur constante quelque soit la vitesse. De ce fait nous pouvons conclure que les émulsions obtenues sont de type fluide non newtonien d'un comportement pseudo-plastique (rhéofluidifiant).

La viscosité apparente en fonction de rapport CN/P pour les six formulations à pH naturel et pH5 sont présentée sur les figures III.36 et III.37.

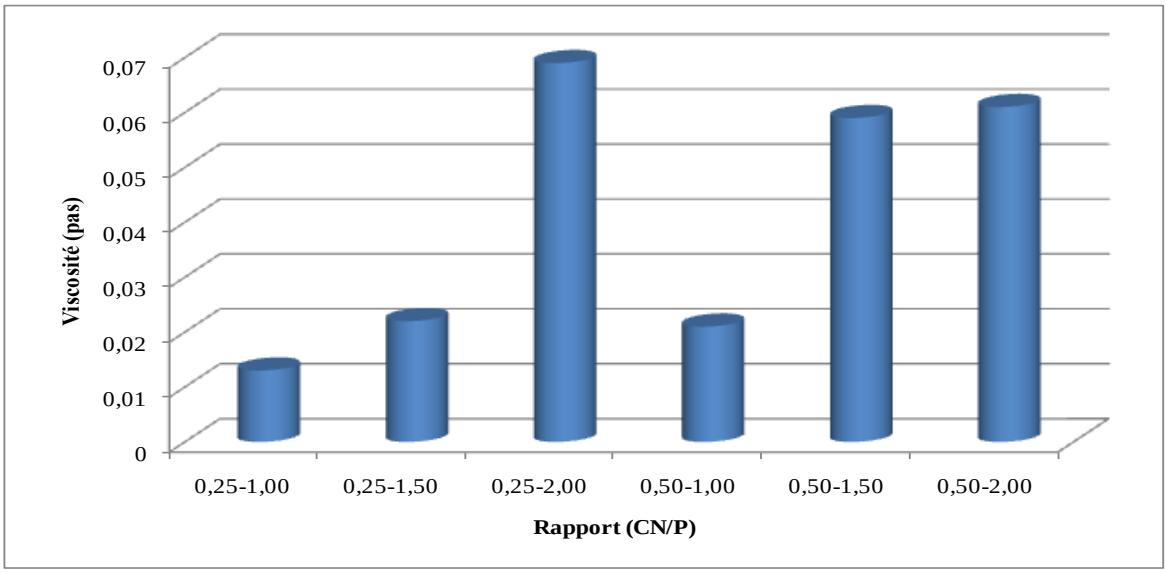


Figure III.36. Variation de la viscosité apparente des émulsions H/E préparées en fonction des rapports (CN/P) à pH naturel

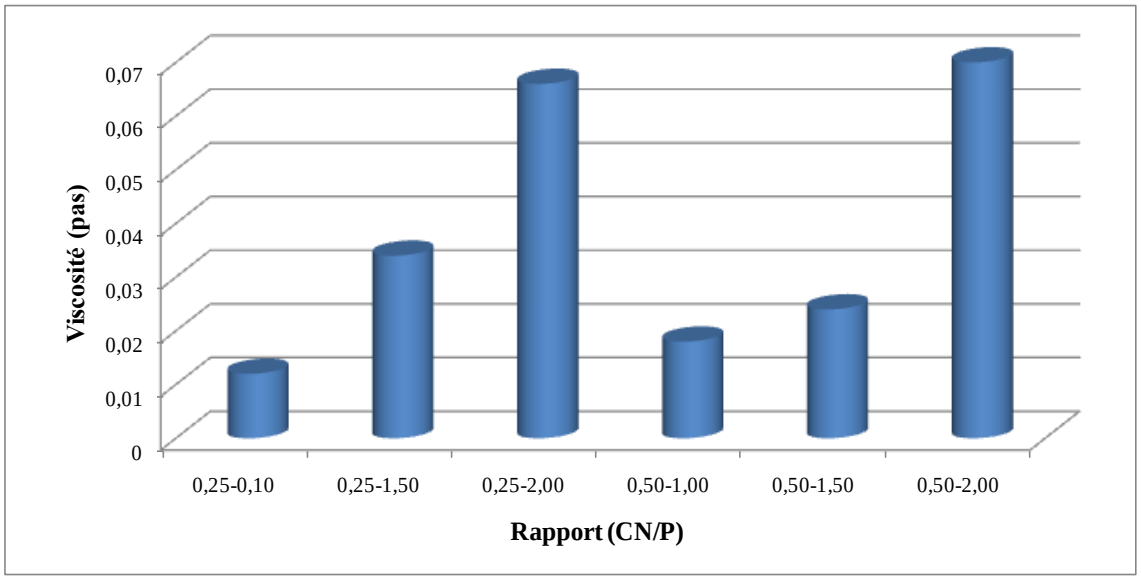


Figure III.37. Variation de la viscosité apparente en fonction du rapport de (CN/P) à pH5.

A partir de la figure III.36 on remarque que la viscosité apparente des émulsions formulées par (CN/P) variée en fonction du rapport entre ces deux biopolymères. Pour une concentration constante en CN la viscosité augment avec l'augmentation de la

concentration en P, par exemple la viscosité des formulations N° 1,2 et 3 augmente avec l'augmentation de la concentration en P. Pour des concentrations constantes en P.

La viscosité augmente avec l'augmentation de CN (formulation N°4 et 5) sauf pour les formulations N° 3et 6 où on remarque que la viscosité diminué avec l'augmentation de CN, cela peut être dû a un excès de protéine. La figure III.37 montre que l'ajustement de pH permet d'augmenter la viscosité des émulsions préparées. Pour un rapport de (0.25/1.5) à pH naturel on a une valeur de viscosité égale à 0.022 Pas par contre pour le même rapport et à pH5 on a mesuré une valeur de viscosité égale à 0.034 Pas.

II.3.Les émulsions à base de CN/GX

La composition des différentes émulsions H/E préparées par (CN/GX) est présentée dans le tableau III.4.

Tableau III.4. Différents constituants des émulsions H/E formulées par (CN/GX).

	N° de formulation					
Composition (% massiques)	01	02	03	04	05	06
Huile d'olive	20	20	20	20	20	20
CN/GX	1/0.8	1/1	1/1.2	2/0.8	2/1	2/1.2
benzoate de sodium E211	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Eau	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp
Conductivité électrique (ms/cm) à pH naturel	0.76	0.67	0.87	0.91	0.87	1.12
Observation après préparation	H	H	H	H	H	H
Conductivité électrique (ms/cm) à pH5	1.02	1.10	1.30	1.20	1.18	1.55
Observation après préparation	H	H	H	H	H	H

H : Homogène

II.3.1Caractérisations physico-chimiques des émulsions primaires formulées

- **Observation macroscopique**.

Les formulations réalisées ont un aspect laiteux homogène aqueux. Les valeurs de la conductivité électrique obtenus des émulsions préparées à pH naturel et à pH5 sont

importantes (en ms/cm) qui indique que les émulsions obtenues sont de nature aqueuses. La figure III.38 représente l'aspect des émulsions H/E après 10 jours de préparation à pH naturel et pH5.

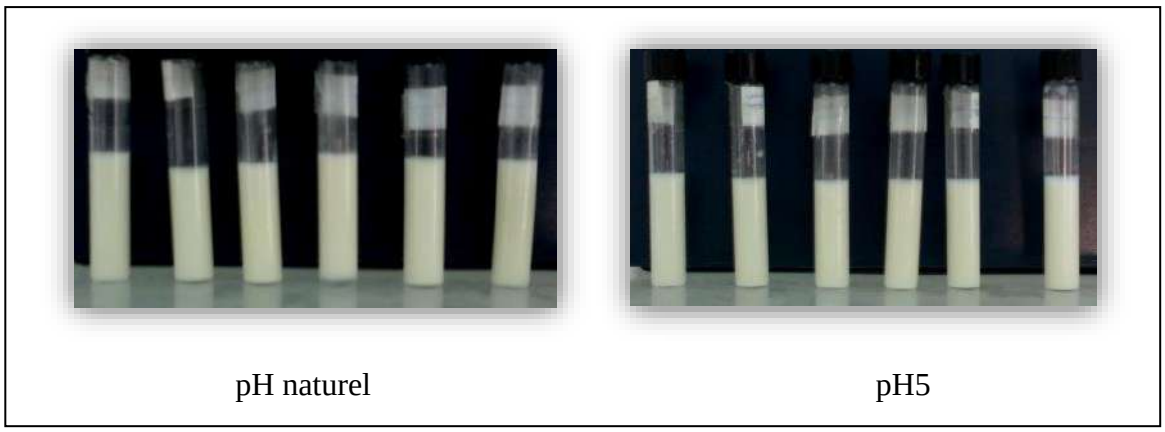


Figure III.38 Aspect des émulsions H/E préparées par (CN/GX) après 10 jours à pH naturel et pH5.

- **Etat microscopique**

L'analyse est réalisée de la même manière que précédemment. La figure III.39 représente la micrographie des émulsions H/E préparé par (CN/GX) à pH naturel.

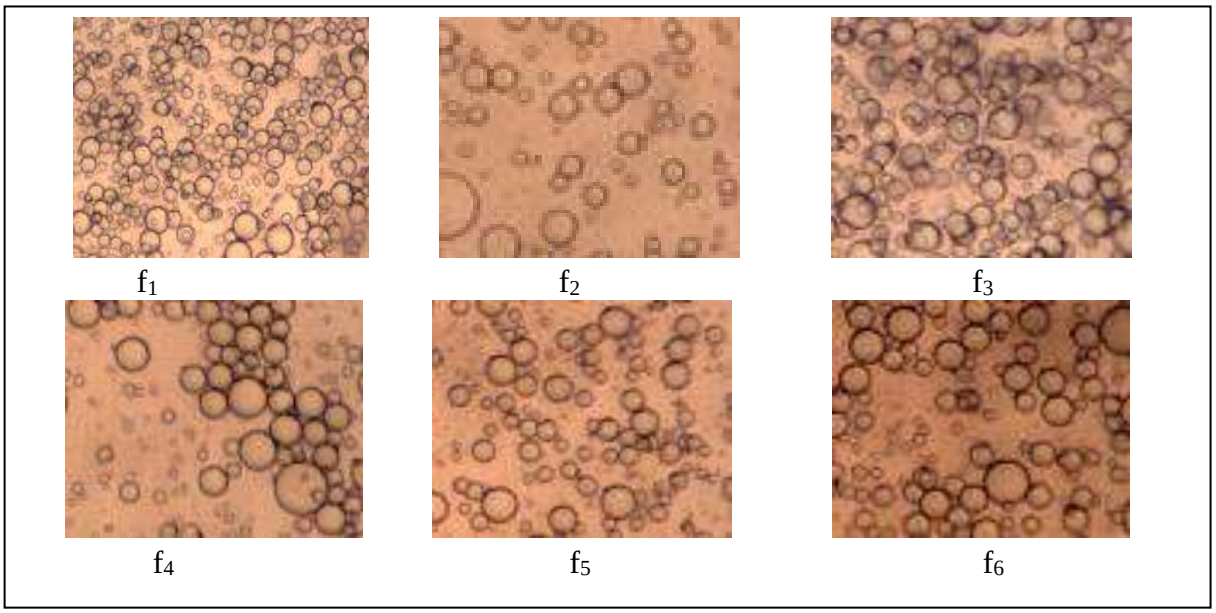


Figure III.39.Vues microscopiques des émulsions H/E préparées par (CN/GX) à pH naturel.

L'analyse microscopique montre bien la présence des globules dispersés avec un nombre important et une granulométrie variable pour toutes les émulsions formulées sauf

pour la formulation 04. La figure III.39 représente la micrographie des émulsions H/E à base de (CN/GX) à pH naturel.

L'ajustement du pH à 5 a permet d'augmenter le nombre des gouttelettes dispersées et diminuer leurs tailles comme le montre la figure III.40.

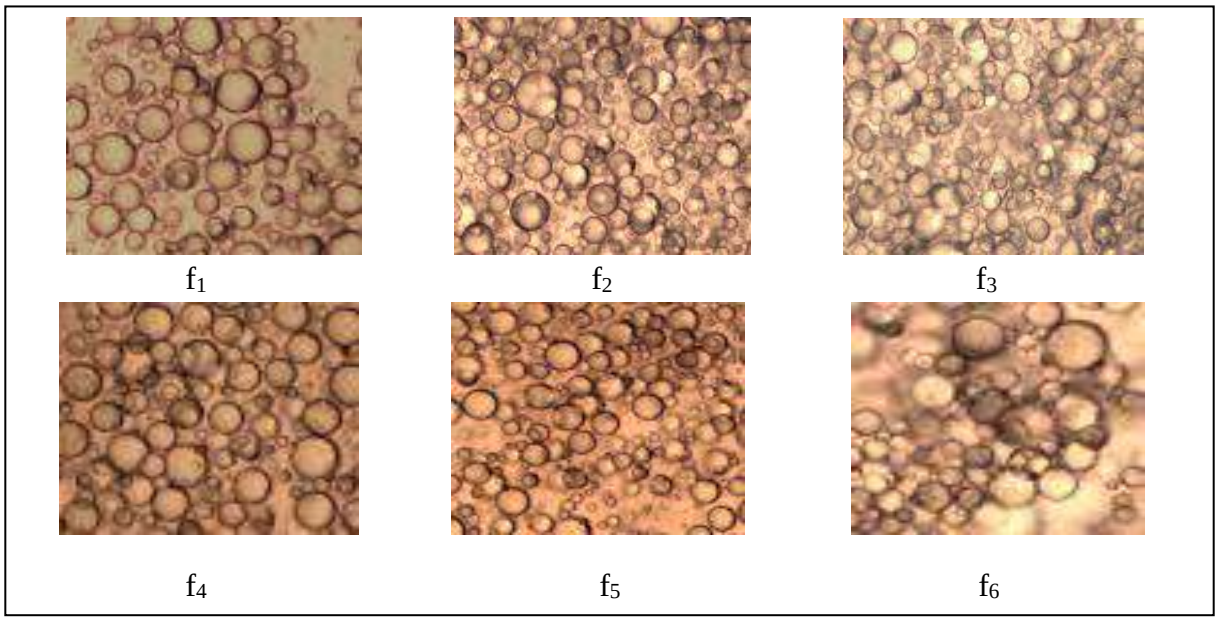


Figure III.40.Vues microscopiques des émulsions H/E préparées par (CN/GX) à pH5

En conclusion, l'ajustement de pH a permet d'améliorer la morphologie des gouttelettes ce qui donne une bonne stabilité aux émulsions H/E formulées.

- **Stabilité à la centrifugation**

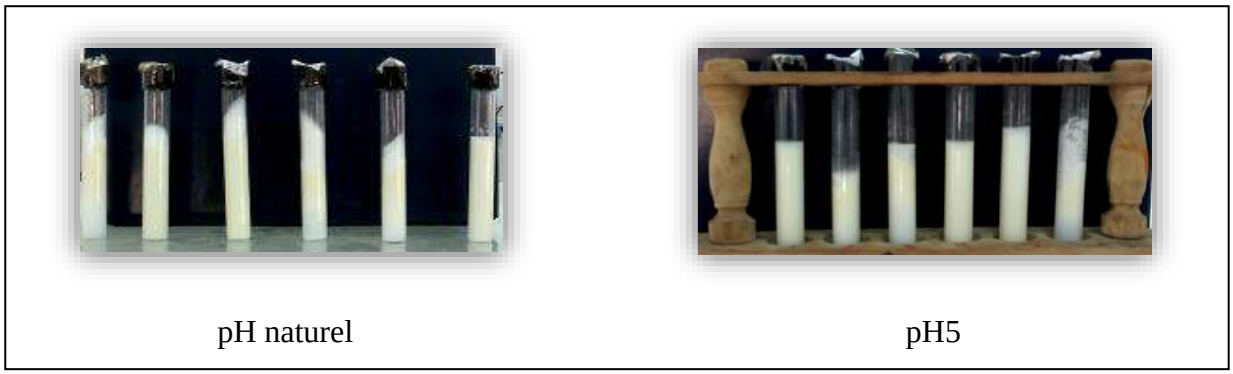
Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 2000 tours/minute, pendant 5 minutes. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.5.

Tableau III.5. Résultat de test de centrifugation

vitesses de centrifugation		N° de formulation					
		01	02	03	04	05	06
à pH naturel	1000 tr/min	+	+	+	-+	+	+
	2000 tr/min	+-	+	+-	+-	+-	+
à pH=5	1000 tr/min	+	+	+	-+	+	+
	2000 tr/min	+	+-	+-	-	+	+

+ : Stable +- : légère séparation - : séparation

On remarque que toutes les formulations sont stables à différentes vitesses de centrifugation 1000tr/min et à déférent de pH sauf la formulation N°4. L'aspect des émulsions après le test de centrifugation à pH naturel et à pH5 est présenté sur la figure III.41.

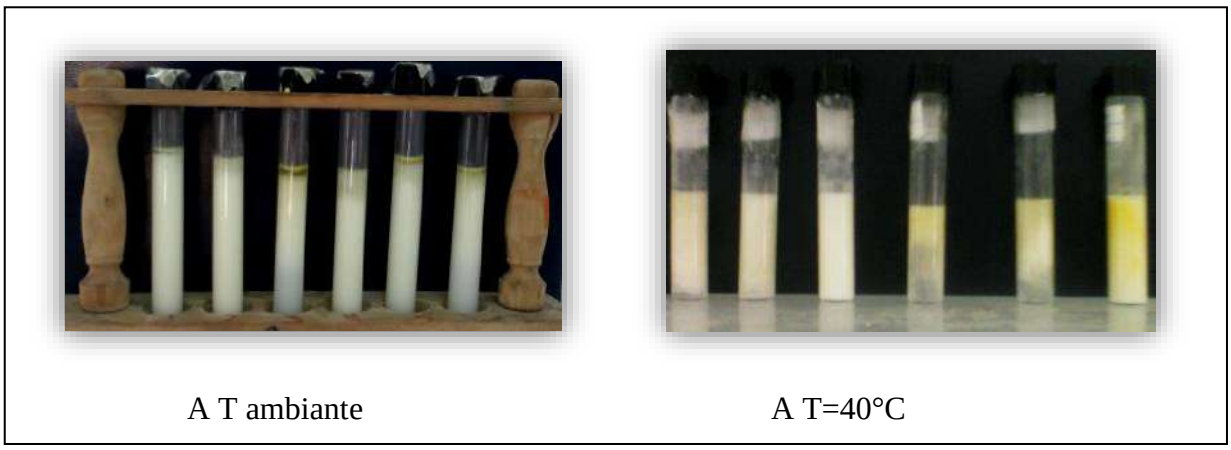


pH naturel pH5

Figure III.41. Aspect des émulsions H/E préparées par (CN/GX) après centrifugation.

- **Etude de stabilité accélérée à différentes températures de stockage**

Les figures III.42 et III.43 représente l'aspect des émulsions H/E a différente température de stockage à pH naturel et à pH5.



A T ambiante A T=40°C

Figure III.42. Aspect des émulsions préparées par (CN /GX) à pH naturel après 27 jours.

On remarque que la température accélère la séparation de phase des émulsions préparées à pH naturel.

La figure III.43 représente l'aspect des émulsions H/E préparées par (CN/GX) à pH5 après 27 jours à différentes température de stockage.

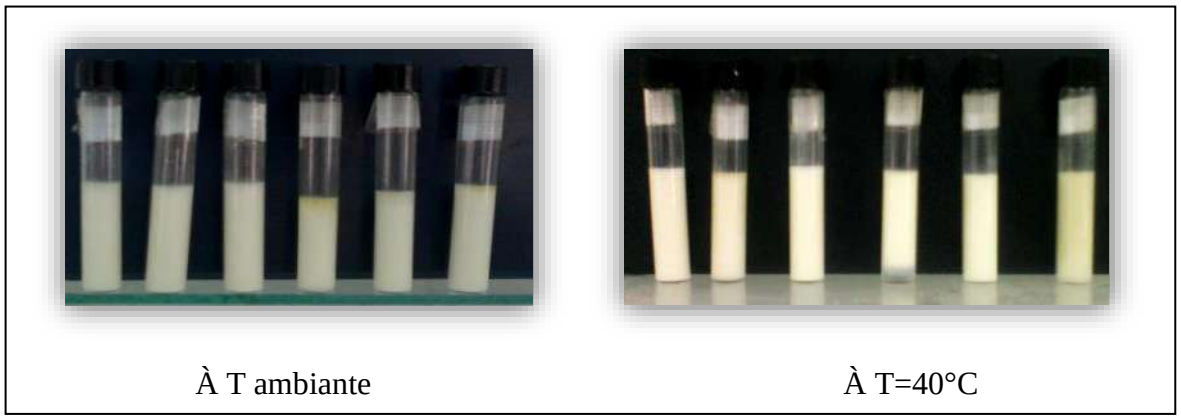


Figure III.43. Aspect des émulsions H/E préparées par (CN /GX) à pH5 après 27 jours.

Cette figure montre que toutes les émulsions H/E à base de (CN/GX) à pH5 sont stable pondent une longe durée du temps à différentes températures de stockage sauf pour la formulation N° 4. Cette était préparée par 0.5/0.2 en (CN/GX), l'instabilité pour cette formulation peut être probablement due à un excès du CN par apport à la GX.

Les figures III.44 et III.45 représentent la variation de l'indice de crémage des émulsions formulées à pH naturel et pH5.

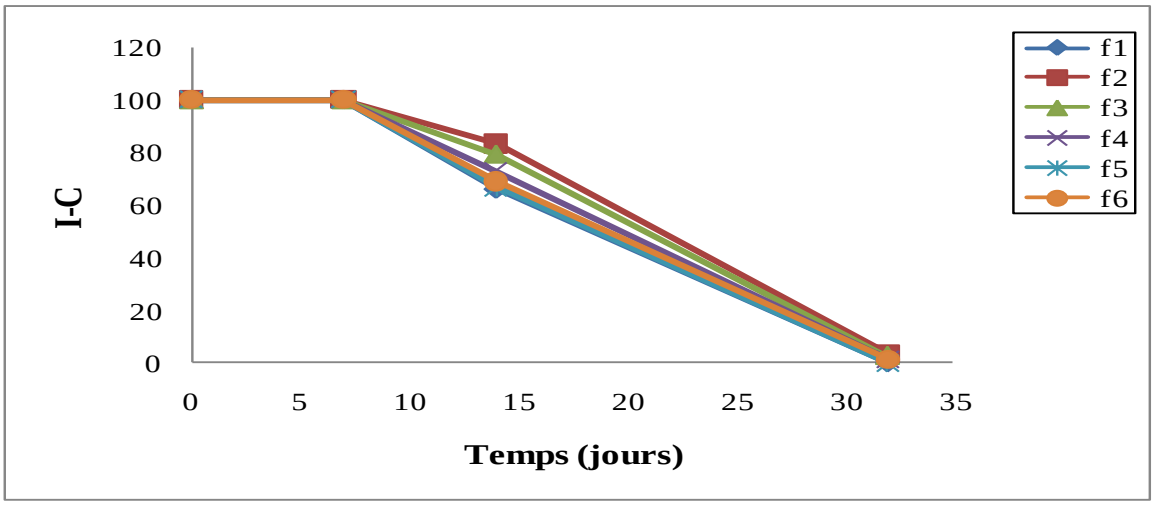


Figure III.44. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/GX) en fonction du temps à pH naturel.

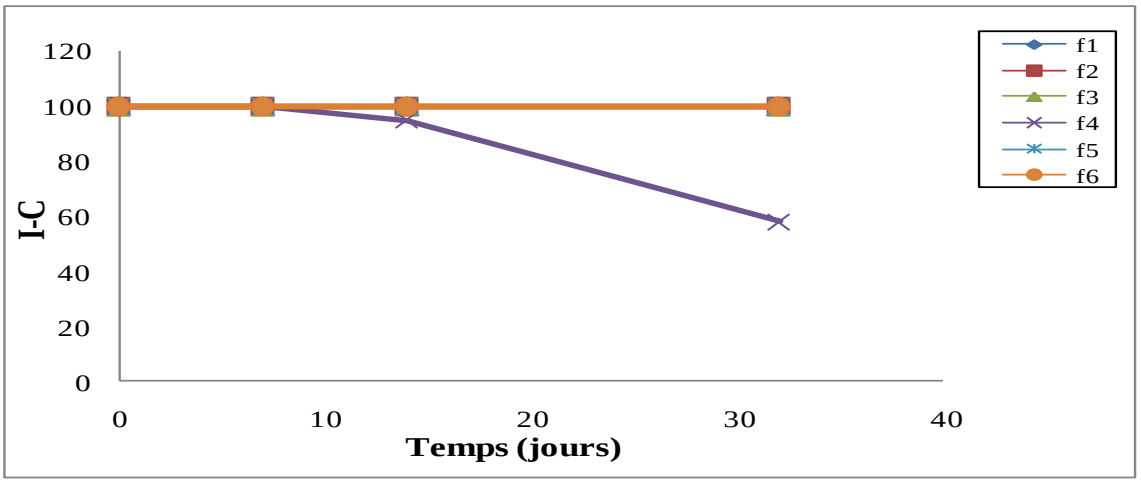


Figure III.45. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (CN/GX) en fonction du temps à pH5.

À partir des figures III.44 et III.45 on remarque que l'indice de crémage à pH naturel reste stable une semaine puis diminue progressivement jusqu'à la valeur de 0 après 30 jours, par contre tout les formulations reste stable pondent un mois à pH 5 sauf la formulation N°4.

- **Etude de la viscosité**

L'évolution de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement pour les six formulations à pH naturel et à pH5 sont représentée sur les figures III.46 et III.47 respectivement.

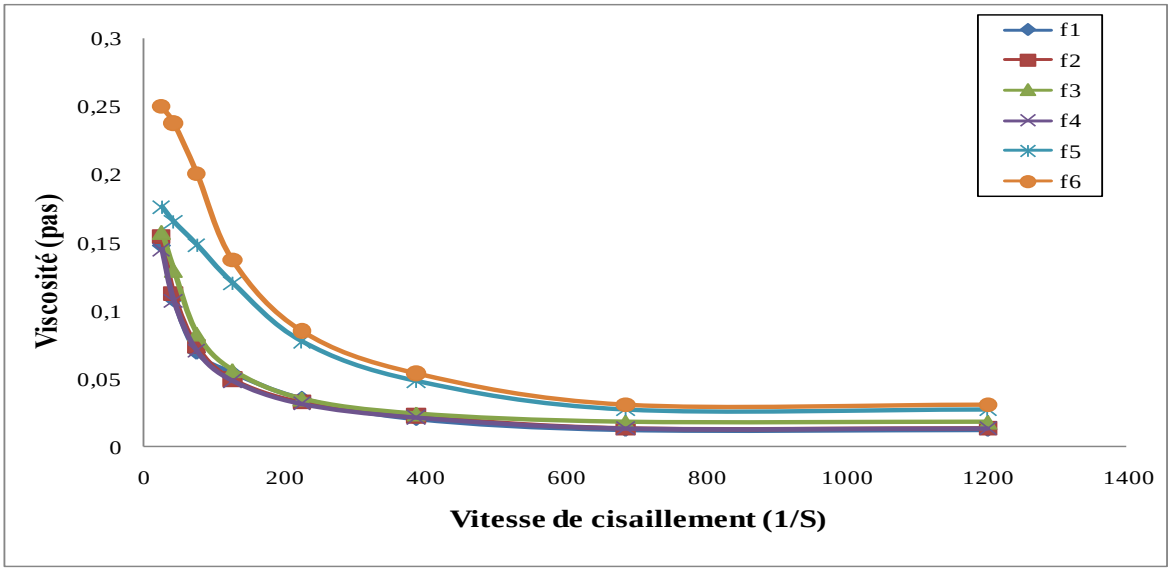


Figure III.46.variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions préparées par (CN /GX) à pH naturel.

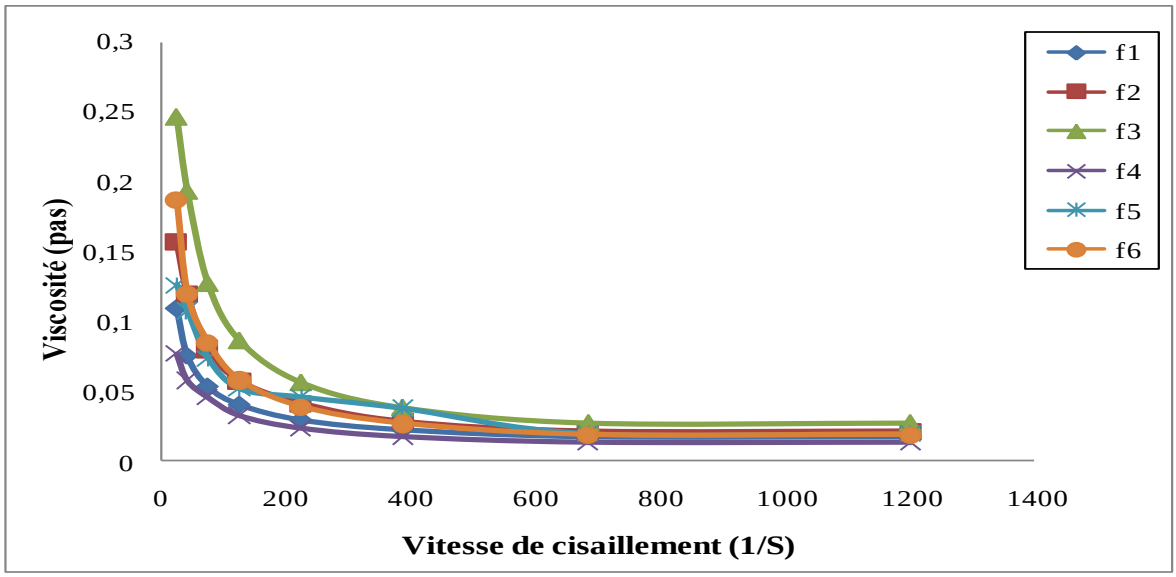


Figure III.47.variation de la viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions préparées par (CN/GX) à pH5.

Les résultats obtenus montrent que la viscosité apparente pour toutes les formulations diminue en fonction de la vitesse de cisaillement à pH naturel et à pH5 pour des faibles vitesses puis prend une valeur constante quelque soit la vitesse. De ce fait nous pouvons conclure que les émulsions obtenues sont de type fluide non newtonien d'un comportement pseudo-plastique (rhéofluidifiant).

La viscosité apparente en fonction de rapport (CN/GX) pour les six formulations à pH naturel et pH5 sont présentée sur les figures III.48 et III.49 respectivement.

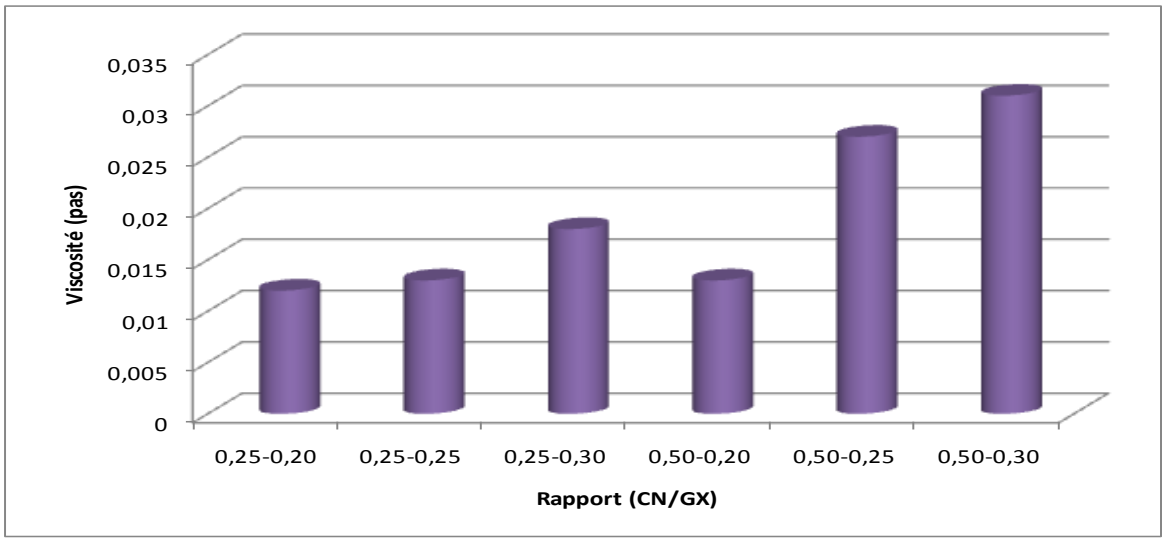


Figure III.48.Variation de la viscosité apparente en fonction des rapports (CN/GX) à pH naturel.

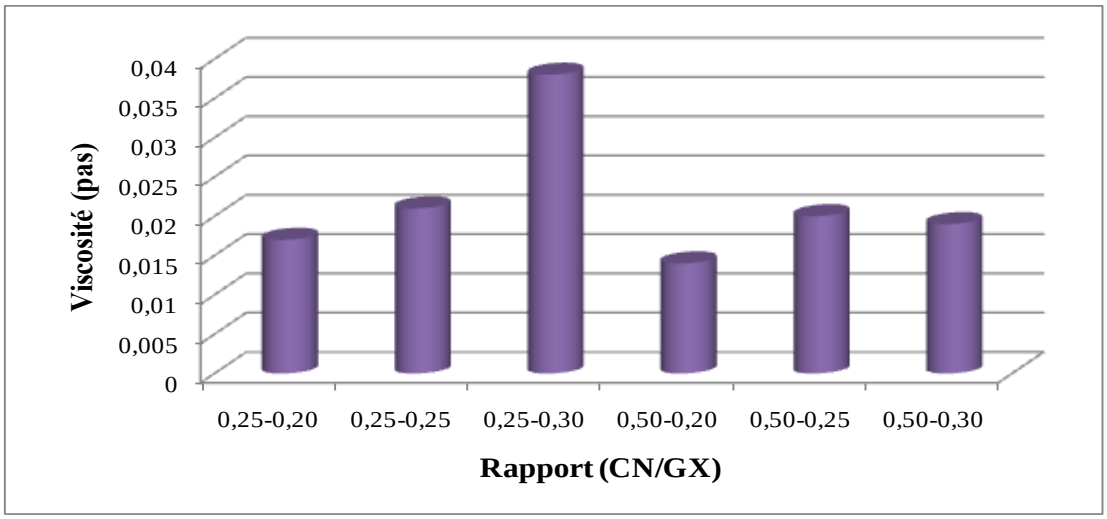


Figure III.49. Variation de la viscosité apparente en fonction des rapport (CN /GX) à pH5.

L'examen de cette figure montre que la viscosité des différentes formulations varie avec la variation de la concentration en GX. On remarque que toutes les formulations préparées présentent des valeurs de viscosité importante. 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 des formulations N° (1, 2, 3,5 et 6) à 40 °C.

À pH5 on remarque que la viscosité des six formulations varie aussi avec la variation de la concentration en GX, la formulation N° 4 reste stable pendent seulement une semaine malgré ca viscosité importante à cause de l'excès de CN. Notant que l'ajustement de pH a permet d'augmenté la viscosité des émulsions préparé mais pour des rapports en CN/GX égale à 0.5/0.25 et 0.5/0.30 la viscosité diminue. Donc la viscosité des émulsions H/E préparées par (CN/GX) dépend du rapport (CN/GX) et du pH de la phase aqueuse extérieure.

II.4.Emulsion à base de P/GX

La composition des différentes émulsions H/E préparées par (P/GX) est présentée dans le tableau III.6.

Tableau III.6.les différents constituants des émulsions primaires (P/GX) formulées.

Composition (%massiques)	N° de formulation								
	01	02	03	04	05	06	07	08	09
Huile d'olive	20	20	20	20	20	20	20	20	20
P/GX	1/1	1/1.5	1/20	5/1	5/1.5	5/20	20/1	20/1.5	20/20
benzoate de sodium E211	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Eau	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp
Conductivité (ms/cm) à pH naturel	1.04	0.95	1.00	1.41	1.98	1.99	0.44	0.39	0.56
Observation après préparation	H	H	SP	H	H	H	H	H	H

H : Homogène SP : Séparation de phase.

II.4.1.Caractérisations physico-chimiques des émulsions primaires formulées.

- **Etat macroscopique**

Les formulations réalisées sont homogène de couleur jaune. Les mesures de la conductivité électrique obtenue sont importantes en (ms/cm) qui indique que les émulsions sont de natures aqueuses.

- **Etat microscopique**

L'analyse est réalisée de la même manière que précédemment .Pour une meilleure dispersion des gouttelettes l'échantillon est placé entre lame et lamelle.

La figure III.50 représente la micrographie des émulsions H/E préparée par (P/GX) à pH naturel.

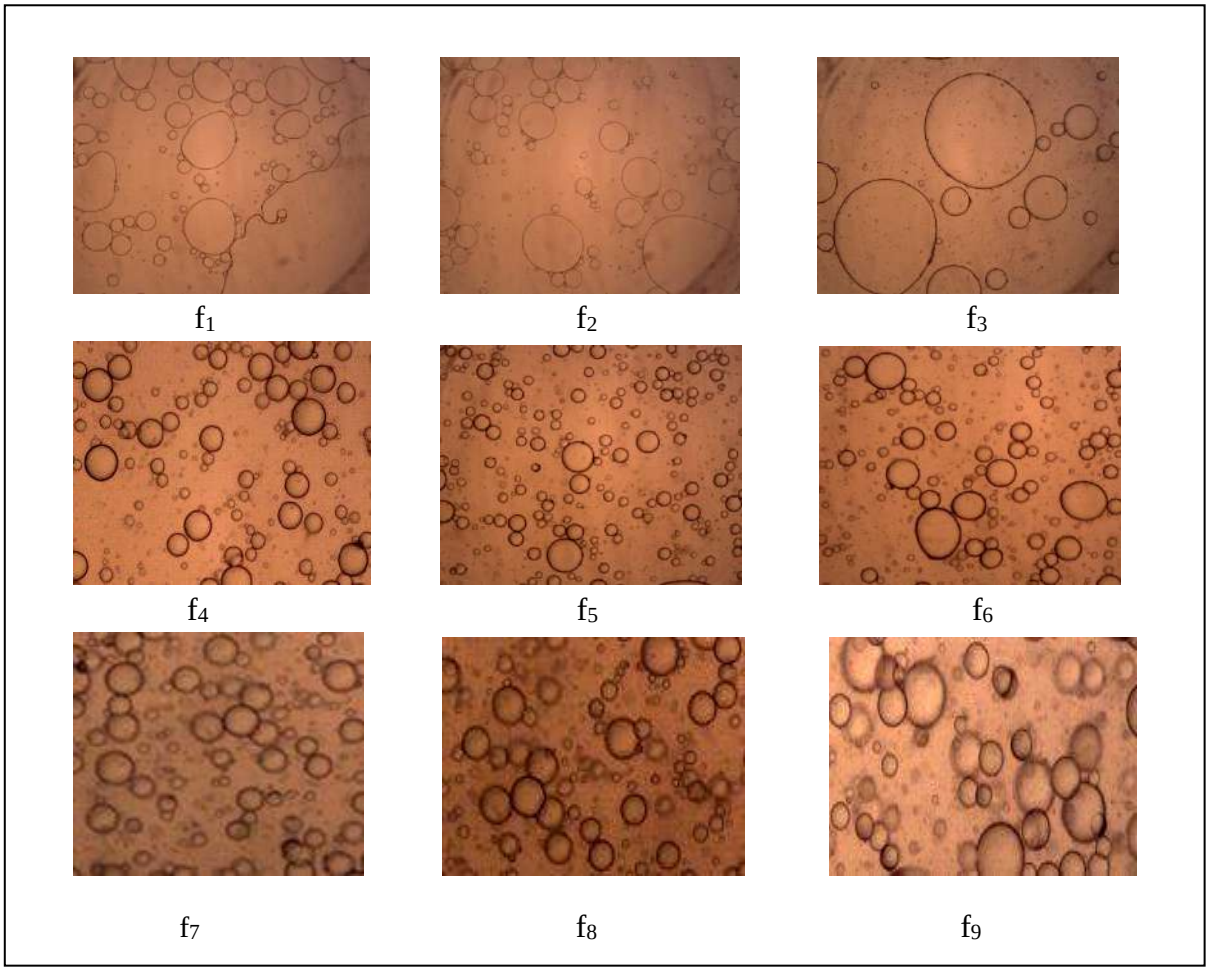


Figure III.50.Vues microscopiques des émulsions H/E préparée par (P/GX) à pH naturel.

L'analyse microscopique montre bien la présence des globules dispersés d'une façon hétérogène avec un nombre important et une granulométrie variable pour les formulations N°1,2 et 3. L'hétérogénéité des globules peut être due principalement au mécanisme de floculation qui se caractérise par l'association de plusieurs gouttelettes l'une à l'autre sous l'effet des forces répulsives et attractives non équilibrées produites par la présence des deux polysaccharides.

Si on augmente la concentration de pectine les globules huileuse devient plus poche et homogène avec un film interfaciale sphérique.

- **Stabilité à la centrifugation**

Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 2000 tours/ minute, pendant 05 minutes. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant

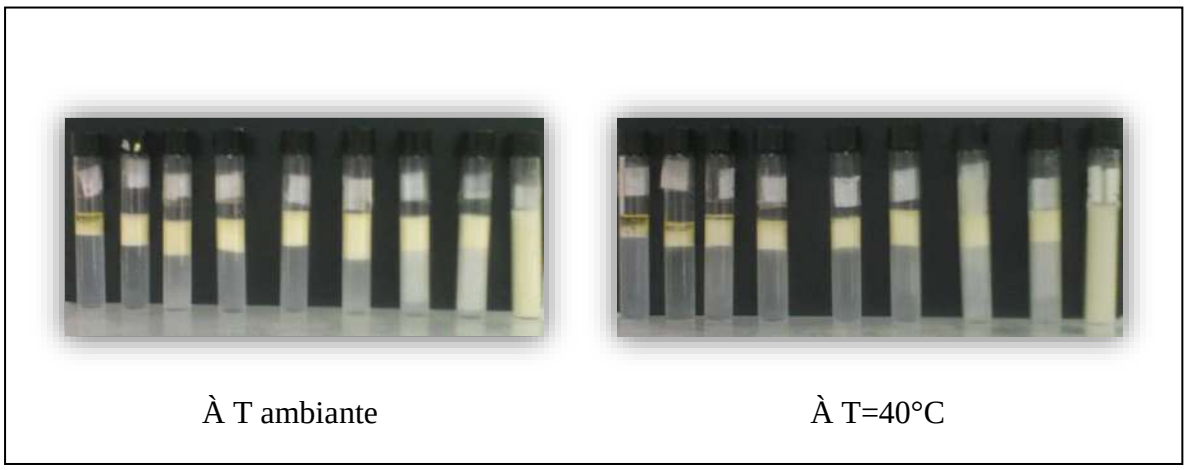
Tableau III.07.stabilité des émulsions (P/GX) à différente vitesse de centrifugation.

vitesses de centrifugation		N° de formulation								
		01	02	03	04	05	06	07	08	09
à pH naturel	1000 tr/min	+-	+	-	+	+-	+	+	+	+
	2000 tr/min	-	+-	-	+-	-	+-	+-	+-	+

+ : Stable +- : légère séparation - : séparation

On observe une séparation de phase de touts les formulations à part la formulation N° 9 à une valeur de vitesse de centrifugation égale à 2000 tr/min.

La figure III.51 montre que touts les émulsions H/E préparées par (P/GX) sont instable sauf la formulation N° 9 qui est stable pondent une longe durée du temps.



À T ambiante À T=40°C

Figure III.51. Aspect des émulsions à base de (P /GX) à pH naturel et à différente température de stockage après 11 jours.

La figure III.52 représente la variation de l'indice de crémage des émulsions formulées à pH naturel

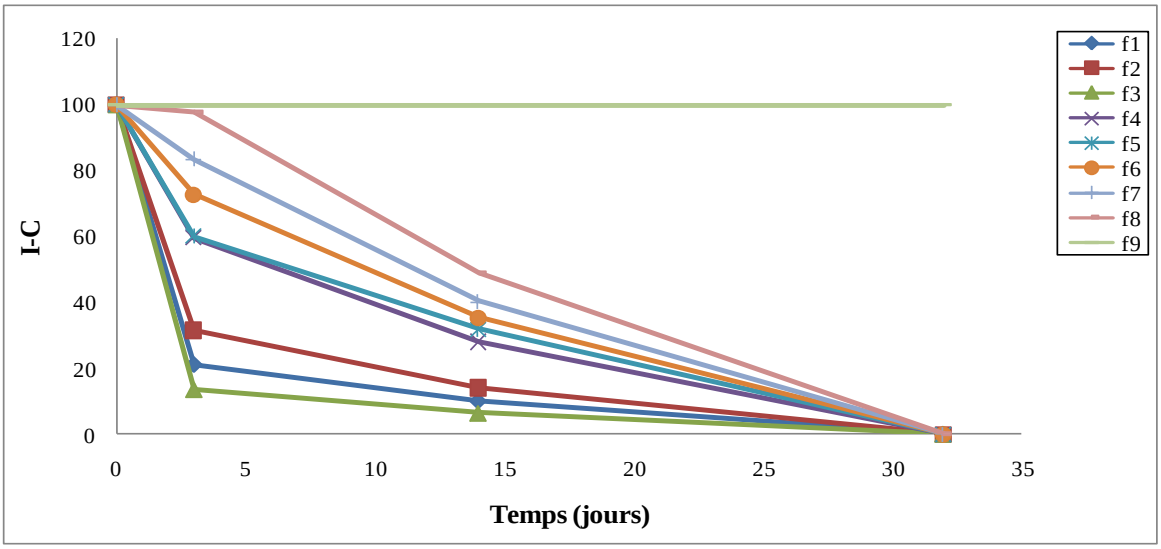


Figure III.52. Variation de l'indice de crémage des émulsions préparées par (P/GX) en fonction du temps à pH naturel.

La figure III.52 montre que la formulation N° 9 est la plus stable avec un indice de crémage constant et égal à 100%

- **Etude de la viscosité**

L'évolution de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement et la viscosité apparente en fonction de rapport (P/GX) pour les neuf formulations sont présentée sur la figure III.53.

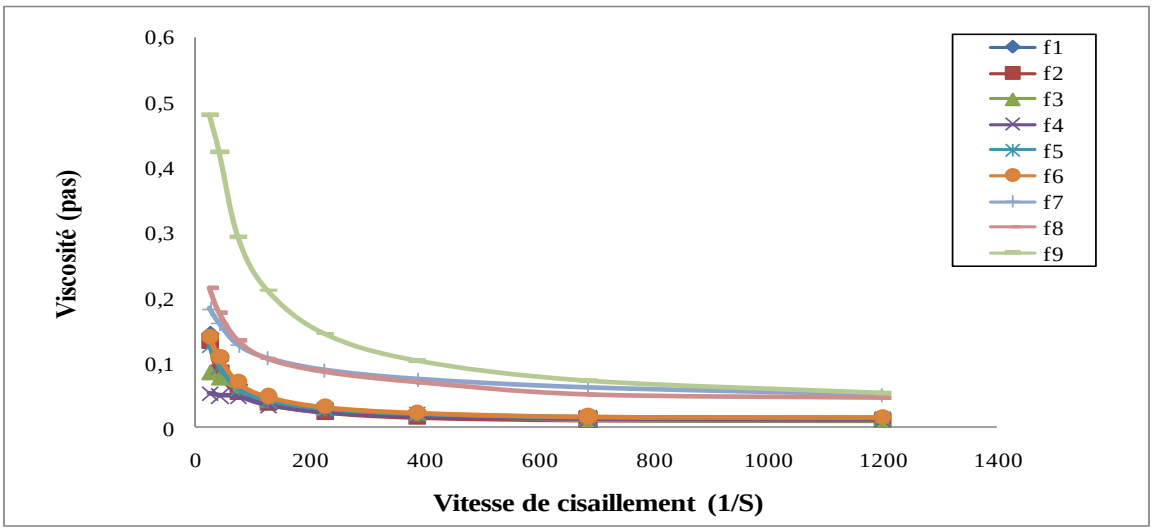


Figure III.53. Variation de la viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions préparé par (P/GX) à pH naturel.

Les résultats obtenus montrent que la viscosité apparente pour toutes les formulations diminue en fonction de la vitesse de cisaillement à pH naturel pour des faibles vitesses puis prend une valeur constante quelque soit la vitesse. De ce fait nous pouvons conclure que les émulsions obtenues sont de type fluide non newtonien d'un comportement pseudo-plastique.

La viscosité apparente en fonction de rapport (P/GX) pour les neuf formulations à pH naturel présentée sur la figure III.54.

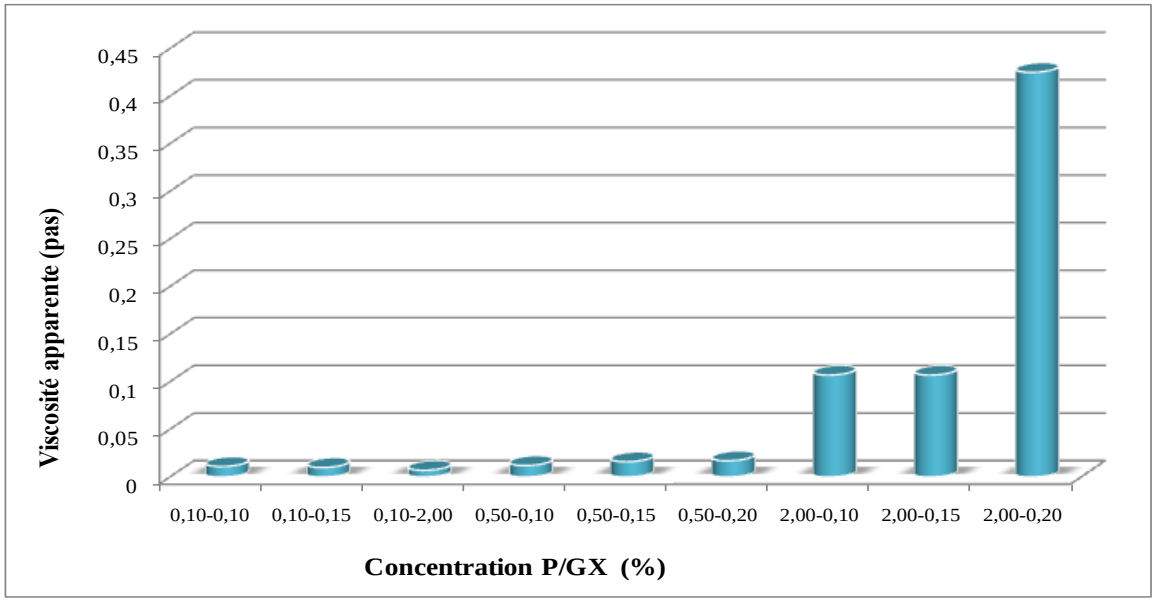


Figure III.54.La variation de la viscosité apparente en fonction des rapport des mélanges (P /GX) à pH naturel.

L'examen de cette figure montre que la viscosité des différentes formulations varie avec la variation de concentration des biopolymères. On remarque que la formulation N° 1 présente une valeur de viscosité supérieure 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.

II.5. Conclusion

Cette étude nous a permis de choisir une émulsion simple E/H stable à base de (CN/GX), (CN/P) et (P/GX). Les émulsions optimales les plus stables seront utilisées par la suite pour la formulation des émulsions multiples.

III. Formulation des émulsions multiples H/E/H 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 (H/E) à base de (P/GX), (CN/P) et (CN/GX) dans une phase huileuse externe (huile d'olive +Tensioactif lipophile **Dehymuls E**), Les concentrations (en %) de chaque constituant de émulsions H/E/H préparées à base de (CN/P),(CN/GX) et (P/GX) sont présentées dans le tableau III.8

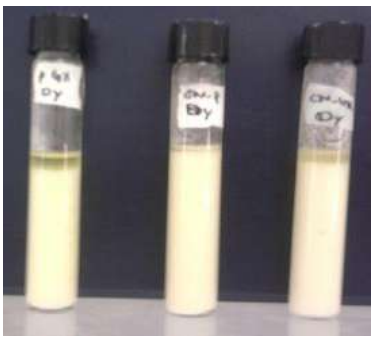
Tableau III.08. Les différents constituants des émulsions multiples formulées.

Composition (% massique)	Nom de formulation		
	P/GX	CN/P	CN/GX
Emulsion primaire	57	57	57
Dehymuls	3	3	3
Huile d'olive	20	20	20
Observation après préparation	H	H	H
pH	5.93	5.86	5.94
Conductivité électrique (ms/cm)	0	0	0

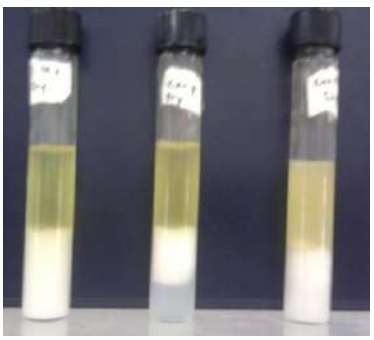
III.1.Caractérisations physico-chimiques des émulsions H/E/H formulées

- **Etat macroscopique**

Les formulations réalisées sont homogène de couleur jaune et d'un aspect bréant. Les mesures de la conductivité électrique obtenue sont égales à 0. La figure III.56 représente l'aspect des émulsions multiples (P/GX), (CN/P) et (CN/GX).



À T ambiante

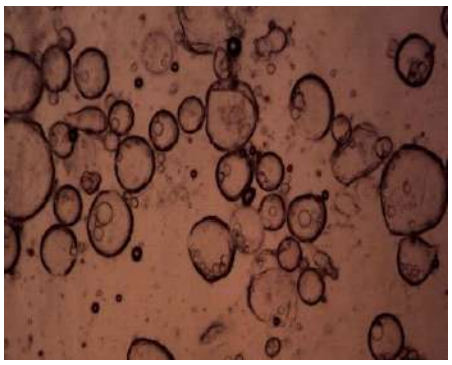


À T=40°C

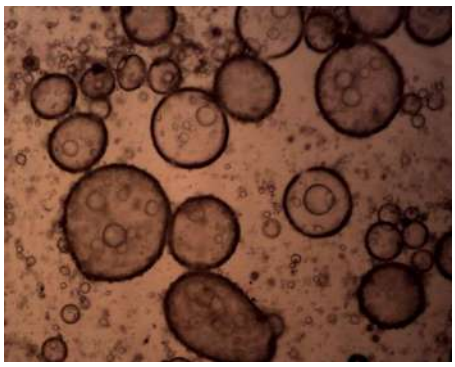
Figure III.55.aspect des émulsions multiples (P/GX), (CN/P) et (CN/GX) après 4 jours.

- **Etat microscopique**

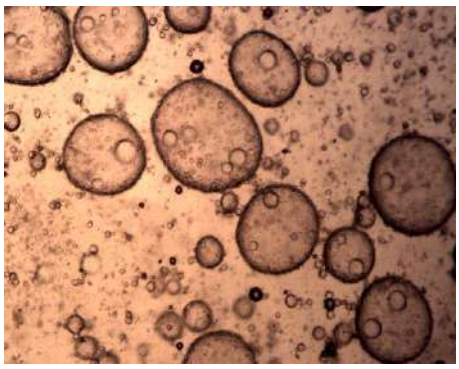
L'analyse est réalisée de la même manière que précédemment, la figure III.56. représente la micrographie des émulsions H/E/H préparée par (CN/P), (CN/GX) et (P/GX) à pH naturel.



CN/P



CN/GX



P/GX

Figure III.56. Vues microscopiques des émulsions H/E/H préparées à par (CN/P) ,(CN/GX) et (P/GX) à pH naturel.

L'examen microscopique des émulsions préparées montre bien une dispersion granulométrique hétérogène est qui est due probablement à l'instabilité de ces dernières. Selon les micrographies obtenues, on remarque bien la présence et la multiplicité des globules encapsulés. Il est à noter que le nombre de gouttelettes encapsulées dans les émulsions multiple à base de (CN/GX) et (P/GX) est élevé par rapport à (CN/P).

Notent que le filme interfacialle des gottelettes d'émulsion préparée par (CN/P) n'est pas sphérique et fragile.

La figure III.56 représente des Vues microscopiques des émulsions H/E préparé à base de (CN/P), (CN/GX) et (P/GX) à pH naturel

- **Etude de la viscosité**

Les mesures de la viscosité apparente sont effectuées par un viscosimètre de tige numéro deux (R_2) comme précédemment, à température ambiante.

L'évolution de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de rapport de (CN/GX), (P/GX) et (CN/P) pour à pH naturel sont présentée sur la figure III.57.

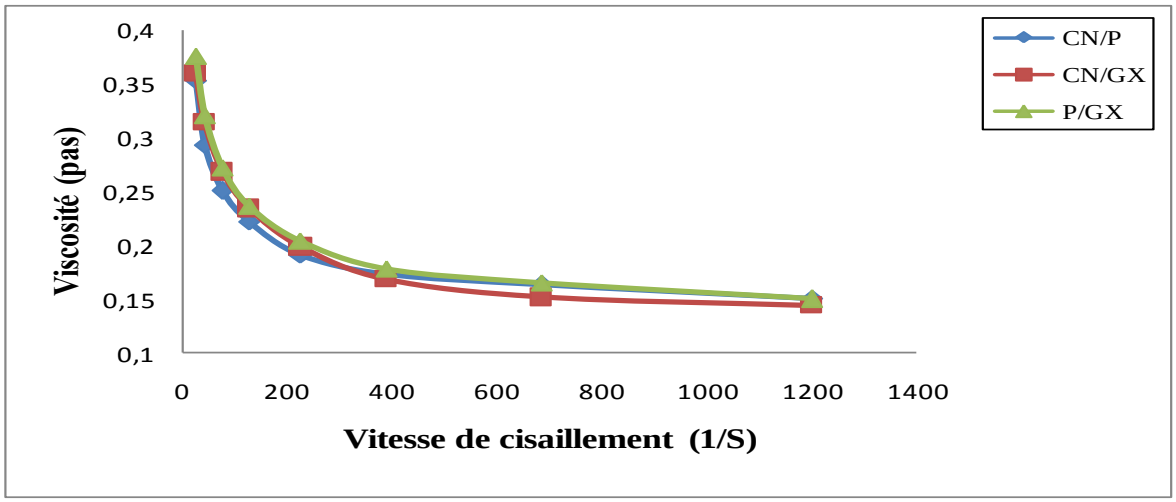


Figure III.57.variation de la viscosité apparente en fonction de vitesse de cisaillement des émulsions préparé par le mélange (CN/P), (CN/GX) et (P/GX) à pH naturel.

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 émulsionsobtenues sont de type fluide non newtonien d'un comportement pseudo-plastique

La viscosité apparente en fonction de rapport (CN/P),(CN/GX) et (P/GX) pour les trois formulations à pH naturel présentée sur la figure III.58

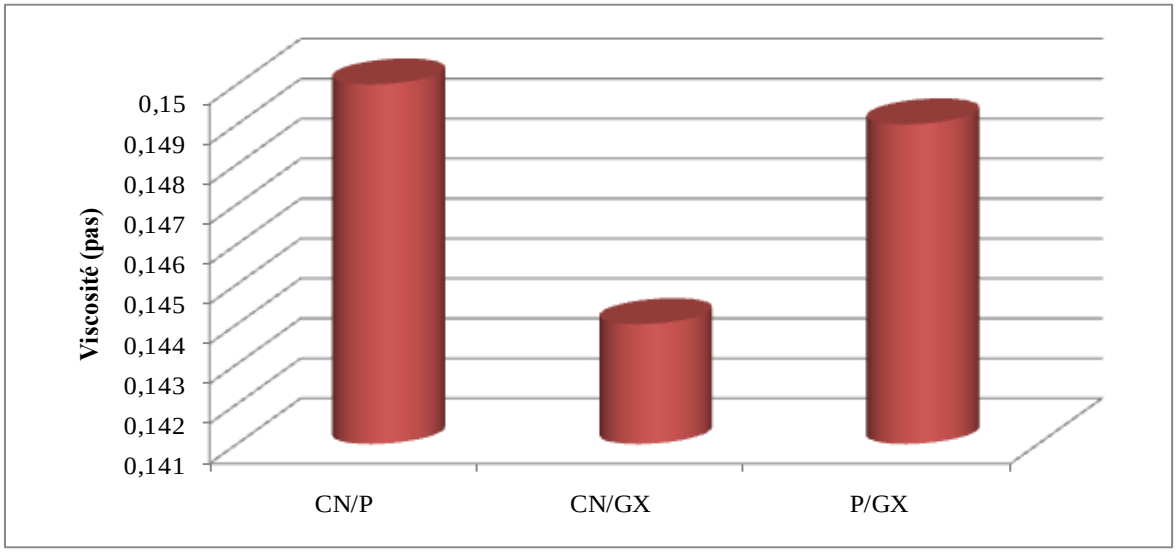


Figure III.58.La variation de la viscosité apparente en fonction des rapports (CN /P) ,(CN/GX) et (P/GX) à pH naturel.

La figure III.58 montre que l'émulsion préparée par (CN/P) est la plus visqueuse et la plus stable par rapport aux autres.

III.2 Conclusion

L'étude des propriétés physico-chimiques des systèmes protéine/polysaccharide nous a permis de mettre en évidence les différentes interactions coexistantes entre les biopolymères à savoir les interactions attractives et répulsives d'une part, et de délimiter le domaine des concentrations de chaque constituant d'autre part. Il a est observé que les interactions répulsives entre les biopolymères sont plus prononcé à des concentrations supérieures.

On peut conclure que le pH des émulsions préparées par les mélanges des (CN/P), (CN/GX) et (P/GX) à 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 biopolymères qui s'adsorbe à l'interface huile/eau. À pH5 les émulsions préparée à donner une valeur de viscosité importante et une meilleure stabilité à différente température de stockage et différente vitesse de centrifugation. L'émulsion H/E/H à base de (CN/P) est la plus stable permit les émulsions préparées.

Conclusion générale

Conclusion générale

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

La première partie de l'étude expérimentale des propriétés physicochimiques des systèmes CN ,P, GX , et les mélanges (CN/P),(CN/GX) et (P/GX) a monté l'effet des concentrations des biopolymères et du pH sur les caractéristiques de leurs mélanges. Les résultats obtenus ont permets de sélectionner les meilleurs concentrations pour la formulation des émulsions primaire et multiple à base de ces biopolymères.

L'élaboration des émulsions à base de (CN/P), (CN/GX) et (P/GX) à pH 5 a montré que, plus la concentration des polysaccharides 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 biopolymères.

La deuxième partie de l'étude expérimentale à montrer qu'à pH5 les émulsions H/E préparées par CN/GX à donner une valeur de viscosité importante et une meilleure stabilité à différente température de stockage et différente vitesse de centrifugation par rapport aux émulsions préparées à pH naturel. Les émulsions préparées par ce mélange ont présenté également une bonne stabilité par apport à celle préparés par CN/P et P/GX.

L'étude de stabilité des émulsions multiples H/E/H à base des mélanges de biopolymères a montré que le mélange CN/P permet de donner une meilleure stabilité que les autres mélanges.

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

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

Suite à cette étude, beaucoup de perspectives peuvent être envisagées en utilisant des moyens plus lourds en vue de perfectionner la qualité des émulsions formulées et ce par des

méthodes de caractérisation plus spécifiques tel que la zétamétrie, la viscoélasticité et la granulométrie.

Références Bibliographiques

Références Bibliographique

[1] : N. Pierat

Préparations d'émulsions par inversion de phase induite agitation, université Henri poincare-Nancy 2010.

[2]: Walters KA, Bialik W, Brain KR

The effects of surfactants on penetration across the skin; Int J Cosmet Sci. Déc 1993; 15(6):260-71

[3] : collection Galenica

Agents de surface et émulsion, Techniques et documentation Lavoisier, 1983

[4] : Larpent C

Les tensioactifs. Editions Technique de l'ingénieur, Constantes physicochimiques, Vol K2, 1993.

[5]: J. Wiley

Surfactants and polymers in aqueous solution, Eddition Chichester, New York, 1999.

[6]: Jansson B, Lindman B, Holmberg K, Kronberg K

Surfactants and polymers in aqueuse solution, Ed. John Wiley and Sons, New York, P 220-231, 1999.

[7] : Schwartz AM, Perry W

Chimie et technologie des agents tensioactifs, Ed. Dunod, Paris, 1958.

[8] : Olivier Doumeix

Collection Joël Cnokaert, Françoise Guillet, Les émulsions.

[9] : Puiseux F, Seiller M

Les systèmes dispersés. Agent de surface et émulsions, Ed. Tec et Doc, Lavoisier, 1983.

[10] : Skender A

Etude physico-chimique et rhéologique des solutions de biopolyméres combinées avec des biotensioactifs, Thèse de Magister, Centre universitaire de Médéa, 2005.

[11] : K.Djalloul

Cours de pharmacie galénique Edition OPU ,1989.

[12]: Stockes R.J, Avans D.F

Fundamentals of interfacial engineering, Ed. Wiley VCH.INC, New York, 1997.

[13] : Berthoud A

Structure physico-chimique des milieux dispersés: micelles, émulsions et microémulsions, J. Chimie physique, vol 5, p 407-422, 1983.

[14] : Salager J.L, Anton R.E

Physicochemical characterization of a surfactant: a quick and precise method, J. dispersion science and technology, Vol 4 (3), p 253-255, 1983.

[15]: Canselier J.P

The effect of surfactants on the crystallization phénoména, J.dispersion science and technology, Vol 14 (6), 625-644, 1993.

[16] : Boumenir. A

Effet de l'interaction des tensioactifs sur la stabilité d'une émulsion multiple.

[17] : Jordanie pharmacopia, 1996.

[18] : P.Brochette

Emulsifcation : Elaboration et étude des émulsions, Edition Technique de l'ingénieur Vol J2150 ,1999.

[19] : S.FERARSA, H.BOUCHAABA

Étude de la stabilité des émulsions multiples au moyen des mélanges protéines/biopolymères, mémoire d'université Yahia Fares. Médéa, 2011.

[20] : G. Gouarraze, J-L. Grossiord

Initiation à la rhéologie 2ème édition, Edition Tec et Doc, Lavoisier, 1991.

[21]: J.P.MARTY, R.GUY

Les forme topic (chapitre 18, p466), édition Londres, new York, 1996.

[22] : T. Razo-Lazcano

L'Université Guanajuato du Mexique, 2013.

[23] : DAHMS

DANS Cosmetics and Toiletries, Vol 101 Novembre 1986,

[24] : Serge Smidtas

Les émulsions alimentaires, Utilisation de la Lécithine: Exemple de la mayonnaise, Lycée Louis-le-Grand, Paris France

[25] : Stéphane ARDITTY

Fabrication, stabilité et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales.

[26] : B. Abismail

Comparaison de procédés d'émulsation par agitation mécanique et par ultracent de puissance, Thèse de doctorat de l'INP de Toulouse, (Décembre, 1999).

[27] : Gahanassi F.Z

Stabilité des émulsions, Université d'Alger, Faculté de médecine, Alger.

[28]: A. Ram

Fundamentals of polymer engineering, Ed plenum pression, New York 1997.

[29] : Sebbach, H

Formulation et caractérisation des émulsions multiples stabilisées par des biopolymères.

[30] : F. BENAISSA

Emulsion multiple stabilisées par des hybrides de biopolymères naturels, mémoire de c.u. Yahia Fares. Médéa, 2006.

[31] : J.P. Mercier

Chimie des polymères : synthèse, réaction, dégradation**,** Ed Lavoisier, paris, 1993.

[32] : C. Alais, G. Linden, L. Miclo

Biochimie alimentaire, 5ème édition de l'abrège, Paris Éditions Dunod, p250, 2003.

[33] : N. Holy Rabetafika, P, Michel, D. Philippe

Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique**,** Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 2006.

[34] : Leclerc E, Calmette

Interaction in micellaire solution of B-casein, physical review letter, Vol 78, p150-153, 1979.

[35] : Murphy J M, Fox P F

Functional properties of αs / k or b rich casein fractions, Food chemistry, Vol 39, p 211-228, 1991.

[36] : Merveille Clay NONO DJAMEN

Etude structurale et rhéologique des systèmes mixtes caséinates/carraghénanes Université du Maine Faculté des Science février 2011.

[37]: Rolin, C., Nielsen, B.U. et Glahn, R-E

Pectin. DANS: dumitriu, s. Polysaccharides: structural diversity and functional versatility (pp.377-431). New York (1998).

[38]: Voragen, A.G.J., Pilnik, W., Thibeault, J.-F., Axelos, M.A.V. ET Renard, C.M.G.C

Pectin. DANS: A.M. Stephen, Food Polysaccharides and Their Applications (Pp.287-339). New York : Marcel Dekker, Inc. (1995).

[39]: MARIE-EVE BERTRAND

Etude des propriétés gélifiantes et viscosifiantes de systèmes mixtes isolat de protéines de lactosérums polysaccharides en conditions associatives, thèse d'université Laval que bec, 2008.

[40] : Thibault & Rinaudo, 1986.

[41] : Pelletier et al. 2001.

[42] : FRENTZ.JC, ZERT.P

L'encyclopédie de la charcuterie, 3eme édition, éditions Susana, p845, 1990.

[43] : Ministère de l'économie

Des finances et de l'industrie, Annexe a l'arrête du 22 septembre 1999, Additifs pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine, édition des documents administratifs n°36 du 26 novembre 1999.

[44]: London South Bank University

Xanthan Gum, [enligne], [http: //www.lsbu.ac. uk/water/hyxan.html], consulte le 21 janvier 2007.

[45]: Oregon State University

Xanthan gums, [enligne], [http://food.oregonstate.edu/gums/xanthan.html], consulte le 21 janvier 2007.

[46]: J.L. Simon, B. Cerles

Gomme xanthane, éditions Technique de l'ingénieur, Sciences et Techniques, traite Génie des procédées, n° J6670, p10, décembre 2000.

[47]: J.L. Simon

Gomme xanthane : agent viscosifiant et stabilisant, éditions Techniques de l'ingénieur, Sciences et Techniques, traite Agroalimentaire, n°F4300, p8, décembre 2001

[48]: G. Maude

Etude des propriétés émulsifiantes d'un complexe de protéines de lactosérum et de carboxy éthylcellulose**,** université Laval, p15-25, Avril 2000.

[49]: Benichou A, Aserin A and Garti N

Protein-polysaccharide interactions for stabilization of food emulsions, Journal Dispersion science and technology, Vol 23, p 93- 123, 2002.

[50]: Tolstoguzov V.B, Damodaran S

Food Proteins and their Applications, Ed. Marcel Dekker, New York, p 171, 1997.

[51]: Grinberg V.Y., Tolstoguzov V.B

Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides. Food Hydrocolloids, Vol 11, p 123-145, 1997.

[52] : Wu Y.T., Lin D.Q., Zhu Z.Q

Thermodynamics of aqueus two-pha systems, the effect of polymer molecular weight on liquid-liquid equilibrium phase diagrams by the modified NRTL model, Fluid Phase Equilibria, Vol 147, p 25,1998.

[53] : Grinbergv Y, Tolstoguzov V.B

Thermodynamic incompetibility of proteins and polysaccharides in solutions, Food hydrocolloids, Vol 11, p145-158, 1997.

[54]: Dickinson E., Phillips G.O, Wedlock D.J

Gums and Stabilisers for the Food Industry, edition Williams , IRL Press, Oxford, Vol 4, p 249, 1988.

[55]: Tolstoguzov V.B

Protein –polysaccharide interactions In food proteins and their applications, Damodran S, parf, A, ed, Marcel.Dekker, Inc, New York, 1997.

[56]: Tolstoguzov V.B

Functionnal properties of protein-polysaccharide mixture in funtional properties of food macromolecules, Mitchell, J.Ledward, D.A, (Eds) elsevier, Amestardam, p385-415, 1985.

[57]: Tokaev E.S, Gurov A.N, Rogov I.A., Tolstogusov V.B

Properties of oil/water emulsions stabilized by casein-acid polysaccharide mixtures, Narhung, Vol 31, p 825- 834, 1987.

[58]: Lippi M.S., Taranto M.V

Complex coacervation between b-lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium, Food Sci. Technol, Vol 14, p2-55, 1981.

[59]: Dickinson E, Pawlowsky K, Murray B

On the effect of high-pressure treatment on the surface activity of –casein, Food Hydrocolloids, Vol 11, p 507, 1997.

[60]: Dickinson E, Galazka V B

Emulsion stabilisation by ionic and covalent complexes of β-lactoglobulin with polysaccharides. Food Hydrocolloids, Vol 5, p281-296, 1991.

[61] : Dickinson E

Les Colloïdes alimentaires, série sciences de l'ingénieur, collection industries alimentaires et biologiques, Ed. Masson, Paris, 1996.

[62]: 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)

[63]: 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).

[64]: Dickinson E., Semenova M.G., Antipova A.S

Salt stability of casein emulsions. Food hydrocolloids 12:227-235. (1998).

[65]: Jeonghee Surh, 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).

[66]: 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 oil water interface, food hydrocolloids 27. 339-346. (2012).

[67]: Zhao Long, Qiang zhong 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)**.**

[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 emulsions. 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 (w1 / o/ w2): role of the interfacial films on the stability of the system. Adv colloid interface sci 99: 229 – 254, 2002.

[72]: Kouadio Gerard Bedie

Microencapsulation de composes nutraceutiques dans des complexes protéines-polysaccharides, thèse de université Laval Québec, 2008

[73] : Louiza GHERAIRI

Etude de l'effet de la température sur la stabilité des émulsions à base de caséinate de sodium à l'aide des plans d'expériences 2010