République Algérienne Démocratique 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 Pharmaceutiques

Option : Génie des Procédés Pharmaceutiques

THEME:

FORMULATION D'UNE ÉMULSION À USAGE PHARMACEUTIQUE STABILISÉE PAR DES BIOPOLYMÈRES

Proposée et Dirigée par :

-Dr **SEDDARI.S**

Réalisée par :

- M^{elle} : **BEN SEGHIER Nour el wiam**

Promotion : 2020/2021

Remerciemen

Tout d'abord on rend grâce à Allah, le tout puissant qui nous a donné la santé et la volonté pour arriver à ce travail

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à ma promotrice

Mme SEDDARI SOUMIA, d'avoir accepté de m'encadrer,

Ainsi que pour son soutien, ses remarques pertinentes et son encouragement.

Mes remerciements vont particulièrement au président et membres de jury qui

M'ont fait l'honneur d'accepter de juger mon modeste travail. Veuillez trouver ici le témoignage de mon respect le plus profond.

J'exprime tous mes remerciements à l'équipe du Hall technologique d'U. de Médéa et toute l'équipe de laboratoire de physicochimie et tout le personnel du laboratoire de microbiologie de SAIDAL et en particulière Mr. BENSALEM pour son aide et ses conseils.

Avant de commencer la présentation de ce travail, nous profitons de l'occasion pour remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'étude en particularité Mr. MOULOUD Directeur du hall technologique.

BENSEGHIER Nour el wiam

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects :

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon cher Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma sœur et mes frères

Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.

A mes chères amies

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter. Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur et tout cela grâce à mon fiancé et partenaire de vie, BEN MERIAMA, qui m'a soutenu à chaque instant

BENSEGHIER Nour el wiam.

Table des matières

Table des matières ……..……..I
Liste des Abréviations ……...……IV
Liste des figures ……..……V
Liste des tableaux ……..…VIII
Introduction générale ……..……1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: Emulsions simples et multiples

Introduction ……3
I.1 Définition des émulsions……3
I.2 Différents systèmes sous le terme « émulsion » ……..3
I.2.1 Macro émulsions ou émulsions ……..……3
I.2.2 Nano/mini émulsions ……..3
I.2.3 Micro émulsions ……..……4
I.3 Différents types d'émulsions ……...4
I.3.1 Emulsions simples ……..4
I.3.1.1Description des émulsions simples……5
a) Aspect des émulsions……5
b) Concentration……6
c) Granulométrie……6
d) Rhéologie……6
I.3.1.2 Compositions des émulsions simples……....7
a) Phases lipophile et hydrophile……7
b) Molécules amphiphiles……...7
c) Additives……..10
I.3.1.3 Stabilité et phénomènes de déstabilisation des émulsions simples……..……11
I.3.1.4 Préparation des émulsions simples ……12
I.3.2 Émulsions multiples ……13
I.3.2.1 Constituants des émulsions multiples ……...……..13
I.3.2.2 Méthodes de préparation des émulsions multiples ……14
a) Procédé classique en deux étapes (processus d'émulsification en deux étapes)……14
b) Procédé par étape (un lot) ……15
c) Emulsification en une étape "one step" ……16
I.3.2.3 Caractérisation des émulsions multiples ……..16
a) Propriétés macroscopiques……16
b) Propriétés microscopiques……16
c) Sens de l'émulsion (type)……17
d) Taille des gouttelettes……...17
e) Propriétés rhéologiques……17
I.3.2.4 Stabilité des émulsions multiples ……17
I.3.2.5 Techniques de stabilisation des émulsions multiples ……...18
I.3.2.6 Applications des émulsions multiples dans l'industrie ……18

I.3.3 Emulsions cristallisables……..20
I.4 Conclusion……..……..20

Chapitre II: Emulsions cristallisables

II.1. Introduction……..……21
II.2. Définition de la cristallisation…….……21
II.3. Modes de cristallisation…….…..21
II.4. Mécanismes de cristallisation dans les émulsions…….…..21
II.5 Emulsions cristallisables……22
II.5.1 Cristallisation de la phase huile……..……22
II.5.1.1 Cristallisation en phase volumique……..…….22
II.5.1.2 Cristallisation en émulsion (à l'échelle colloïdale)……..….23
II.5.2 Tempérage des émulsions……..……24
II.6 Mécanismes de destruction…….…..25
II.6.1 Coalescence partielle…….……25
II.6.2. Facteurs influençant à la coalescence…….……26
II.7 Structure cristalline en émulsions……27
II.8 Emulsions doubles cristallisables……27
I1.9 Huiles cristallisables……..……..28
II.10 Conclusion……28

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III: Matériels et méthodes

III.1 Introduction……..……29
III.2 Produits utilisés……..29
III.2.1 Phase aqueuse……..……..29
III.2.2 Phase huileuse……...……30
III.2.3 Tensioactif lipophile……..30
III.2.4 Polysaccarides ……..…31
III.2.5 Substance encapsulée……....32
III.2.6 Régulateur de pression osmotique……..…..34
III.3 Matériels utilisés…….34
III.3.1 Homogénéisation……...……34
III.3.2 Outils de caractérisation des émulsions ……...……34
III.3.3 Outils d'étude de stabilité……..36
III.3.4 Outils d'étude de la cinétique de libération de CTC……...…..37
III.4 Méthodes ……...……37
III.4.1 Préparation des solutions……...……37
III.4.2 Préparation des émulsions ……38
III.4.2.1 Préparation de l'émulsion primaire E_1/H (EP) ……...……38
III.4.2.2 Préparation des émulsions multiples E_1/H/E_2…….…….40
III.4.3 Méthodes de caractérisation des émulsions…….……..41

III.4.4 Encapsulation du CTC……..……..42
a) Formulation des émulsions multiples avec CTC…….……..42
b) Contrôle de libération de CTC…….……..43
c) Effet d'inhibition du CTC sur les souches bactériennes……...…….44

CHAPITRE IV: Résultats et discussions

IV.1 Caractérisation des émulsions primaires……..……....45
IV.1.1 Etat macroscopique…….……..……..45
VI.1.2 Etat microscopique……..……46
IV.1.3 Mesure de la viscosité apparente……...……..47
IV.1.4 Mesure du pH et de la conductivité électrique……49
IV.1.5 Test de centrifugation……..……49
IV.2 Caractérisation des émulsions multiples E/H/E formulées……...……51
IV.2.1 Etat macroscopique……..……51
IV.2.2Etat microscopique……...…….52
IV.2.3 Mesure de la viscosité apparente……..……53
IV.2.4 Mesure de pH et de la conductivité électrique……..55
IV.2.5 Test de centrifugation……..…….56
IV.2.6 Etude de stabilité accélérée à différentes températures de stockage……57
IV.2.7 Analyse granulométrique……..……...63
IV.3Encapsulation de chlorotétracycline……...……65
IV.3.1 Aspect macroscopique de l'émulsion primaire…….65
IV.3.2 Aspect macroscopiques des émulsions multiples $E_1/H/E_2$……..……65
IV.3.3 Aspect microscopiques des émulsions multiples $E_1/H/E_2$……66
IV.3.4 Mesure du pH et de la conductivité électrique……..67
IV.3.5 Teste de centrifugation……..67
IV.3.6 Etude de la cinétique de libération ……68
a) Teste de libération……..……68
b) Vitesse de libération…….……69
c) Evaluation de l'activité antimicrobienne de CTC……..70
Conclusion générale ……...……73
Références bibliographiques

Liste des Abréviations

CMC	Concentration Micellaire Critique
CTC	chlorotetracycline
E/H	Emulsion Eau dans Huile
E/H/E	émulsion Eau dans Huile dans Eau
EM	Emulsion multiple
EP	Emulsion primaire
GX	Gomme Xanthane
h	Heure
H/E	Emulsion Huile dans Eau
H/E /H	émulsion Huile dans Eau dans Huile
HLB	Balance Hydrophile Lipophile
OSA	acide octénylsuccinique
PA	Principe Active
pH	Potentiel d'hydrogène
Rpm	Tours Par Minute
T	Température
W/O/W	emulsion Water in Oil in Water

Liste des figures

Numéro	Titre de la figure	page
Chapitre I		
Figure I.1	Les différents types d'émulsion simple	5
Figure I.2	Schéma d'un tensioactif	7
Figure I.3	Diminution de la tension superficielle par addition d'un agent tensioactif	9
Figure I.4	les phénomènes d'instabilité des émulsions	11
Figure I.5	Différents types d'émulsions doubles (E/H/E et H/E/H)	13
Figure I.6	Procédé classique d'élaboration d'émulsions multiples en deux étapes	15
Figure I.7	Schéma de la méthode deux étapes (un lot)	16
Chapitre II		
Figure II.1	Les différents mécanismes de nucléation	23
Figure II.2	Principe de tempérage	24
Figure II.3	Gouttes partiellement coalescées observées par microscopie optique	25
Figure II.4	Etapes du processus de coalescence partielle	26
Chapitre III		
Figure III.1	Aspect de Span 60 sous forme de poudre	30
Figure III.2	Aspect de l'OSA sous forme de poudre.	31
Figure III.3	Aspect de GX sous forme de poudre	32
Figure III.4	Aspect de chlortetracycline en poudre.	33
Figure III.5	Axe de l'Ultra-Turrax constitué du rotor et du stator.	34
Figure III.6	Ultra- TurraxT25	34
Figure III.7	Optika B-157 Binocular microscope	35
Figure III.8	Viscosimètre de type Visco-Tester.	36
Figure III.9	La centrifugeuse utilisée est de type Hettid Zentrifugen EBA 20.	36
Figure III.10	Le diagramme de fabrication	39
Figure III.11	Courbe d'étalonnage de chlorotetracycline dans (λ_{max} =362 nm).	44

Chapitre IV		
Figure IV.1	Aspect macroscopique des émulsions primaires directement après préparation (effet du rapport beurre de cacao /huiles d'olive : 50/50,40/60 et 30/70 et 30% d'eau)	45
Figure IV.2	Aspect macroscopique des émulsions primaires directement après préparation (effet du rapport E_1/H: 10/90, 20/80 et 30/70)	45
Figure IV.3	Aspect macroscopique des émulsions primaires directement après préparation (effet de la concentration de Span 60 :1%; 1.5% et2%)	46
Figure IV.4	Vue microscopique d'une émulsion primaire à base de beurre de cacao et huile d'olive directement après préparation.	46
Figure IV.5	Variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions primaires préparées avec 30% en phase aqueuse et pour différentes concentrations en beurre de cacao 50%, 40% et 30%.	47
Figure IV.6	Variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions primaires préparées avec 30% en beurre de cacao et pour différentes proportions en phase aqueuse : 10%, 20% et 30%.	48
Figure IV.7	Variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions primaires préparées avec un rapport E_1/H: 40/60 et pour différentes concentrations en Span 60 : 1%; 1.5% et 2%.	48
Figure IV.8	Aspect des émulsions multiples préparées avec différent rapport OSA/GX et 20% en émulsion primaire directement après formulation	51
Figure IV.9	Aspect des émulsions multiples préparées avec différent rapport OSA/GX et 35% en émulsion primaire directement après la formulation.	51
Figure IV.10	Vues microscopiques des émulsions multiples E_1/H/E_2 préparées avec différents rapport (OSA/GX) et 20% d'émulsion primaire.	52
Figure IV.11	Vues microscopiques des émulsions multiples E_1/H/E_2 préparées avec différents rapport (OSA/GX) et EP 35%.	53
Figure IV.12	Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions multiples E_1/H/E_2 préparées par différent rapport (OSA/GX) et EP 20%	54
Figure IV.13	Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions multiples E_1/H/E_2par des différents rapports (OSA/GX) et EP 35%	55

Figure IV.14	Aspect des émulsions multiples avec 20% d'émulsion primaire à 25°C.	57
Figure IV.15	Aspect des émulsions multiples avec 20% d'émulsion primaire à 40°C.	58
Figure IV.16	Profil de variation de l'indice de crémage des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ formulées avec EP 20% (à 25 et 40°C)	59
Figure IV.17	Aspect des émulsions multiples préparées par EP 35% à 40°C	60
Figure IV.18	Aspect des émulsions multiples préparées avec EP 35% à 25°C.	61
Figure IV.19	Profil de variation de l'indice de crémage des émulsions multiples $E_1/H/E_2$formulées avec EP 35 % (à 25 et 40°C)	62
Figure IV.20	Variation de la taille des gouttelettes des émulsions doubles$E_1/H/E_2$ formulées avec EP 20% en fonction de la concentration de GX	63
Figure IV.21	Variation de la taille des gouttelettes des émulsions doubles $E_1/H/E_2$ formulées avec EP 20% en fonction de la concentration de l'OSA	63
Figure IV.22	Variation de la taille des gouttelettes des émulsions doubles $E_1/H/E_2$formulées avec EP 35% en fonction de la concentration de GX	64
Figure IV.23	Variation de la taille des gouttelettes des émulsions doubles $E_1/H/E_2$formulées avec EP 35% en fonction de la concentration de l'OSA	64
Figure IV.24	Aspect des émulsions primaires avec et sans CTC directement après formulation.	65
Figure IV.25	Aspect des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différents rapport en (OSA/GX) et EP 35% contenant le CTC.	65
Figure IV.26	Vues microscopiques des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différents rapport (OSA/GX) et EP 35% contenant le CTC.	66
Figure IV.27	Résultats de centrifugation des émulsions multiples :*A* sans CTC et *B*avec CTC	68
Figure IV.28	Effet du rapport OSA/GX sur la cinétique de libération du CTC (OSA/GX: 0.25/0.1;0.1/0.25; 0.25/0.250;0.5/0.25)	68
Figure IV.29	Vitesse de libération du PA (CTC) en fonction du temps pour les formules (EZ1, EZ2, EZ3 et EZ4).	69
Figure IV.30	Halo d'inhibition de CTC situé au niveau de la phase externe de (EZ1, EZ2, EZ3 et EZ4)	70
Figure IV.31	Halo d'inhibition de CTC contenu dans les émulsions (EZ1, EZ2, EZ3 et EZ4) respectivement	71
Figure IV.32	Halo d'inhibition de CTC en solution de concentration massique 1g/l.	71

Liste des tableaux

Numéro	Titre du tableau	Page
Chapitre I		
Tableau I.1	Types d'émulsions simples en fonction de la taille moyenne des gouttelettes	4
Tableau I.2	Taille des gouttes et aspect des émulsions	5
Tableau I.3	Types d'émulsions selon la concentration de la phase interne	6
Tableau I.4	Phénomènes et causes de l'instabilité des émulsions	12
Chapitre II		
Tableau II	Exemples d'ingrédients de la phase huileuse	28
Chapitre III		
Tableau III.1	principales caractéristiques du Span 60	31
Tableau III.2	principales caractéristiques du l'OSA	31
Tableau III.3	Principales caractéristiques du GX.	32
Tableau III.4	Principales caractéristiques du chlortétracycline	33
Tableau III.5	Composition massique des émulsions primaires à différent concentration de beurre de cacao	39
Tableau III.6	Composition massique des émulsions primaires à différent concentration de la phase aqueuse	40
Tableau III.7	Composition massique des émulsions primaires à différent concentration de Span 60	40
Tableau III.8	Composition massique des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées à différents rapport OSA/GX et EP 20%.	41
Tableau III.9	Composition massique des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées à différents rapport OSA/GX et EP 35%.	41
Tableau III.10	Composition des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différents rapport OSA/GX, EP 35% et 1g/l de CTC	43
Chapitre IV		
Tableau IV.1	Résultats de mesure du pH et de conductivité électrique des émulsions primaires préparées à base de beurre de cacao et huile d'olive	49
Tableau IV.2	Résultats du test de centrifugation des émulsions E_1/H préparées à des différentes valeurs de concentration en beurre de cacao avec 30% de la phase aqueuse.	49
Tableau IV.3	Résultats du test de centrifugation des émulsions E_1/H préparées avec différentes concentrations en phase aqueuse avec rapport beurre de cacao/ huile d'olive : 40/60.	50
Tableau IV.4	Résultats du test de centrifugation des émulsions préparées avec un rapport E_1/H : 40/60 et pour différentes concentrations en Span 60 :1%,1.5% et2%.	50
Tableau IV.5	Les valeurs de pH et de conductivité électrique des émulsions multiples formulées par différents rapport (OSA/GX) et 20% d'émulsion primaire.	55
Tableau IV.6	Valeurs de pH et de la conductivité électrique des émulsions multiples formulées par différent rapport (OSA/GX) et EP 35%.	55
Tableau IV.7	Test de centrifugation des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées par différents rapport (OSA/GX) et EP 20%.	56
Tableau IV.8	Résultats de test de centrifugation des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées par différent rapport (OSA/GX) et EP 35%	56

Tableau IV.9	Valeurs du pH et de la conductivité électrique des émulsions multiples (EZ1; EZ2; EZ3 et EZ4) formulées avec différents rapport de (OSA/GX) et avec EP 35% contenant CTC.	67
Tableau IV.10	Résultats de test de centrifugation des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différent rapport (OSA/GX) et EP 35% contenant le CTC.	67
Tableau IV.11	Diamètres des zones d'inhibition de CTC	70

ملخص

كان الهدف من هذه الدراسة هو تكوين وتوصيف مستحلبات الماء / الزيت /الماء المتبلورة المزدوجة بناءا على مزيج من بوليميرين حيويين هما النشاء اوكتينيل السكسينيك المعدل وصمغ القزانتان بواسطة الطريقة الغير مباشرة. تمت دراسة تأثير الكتلة الكلية للبوليمر الحيوي وتركيزات الطور العضوي على ثبات المستحلبات المحضرة ولزوجتها وحجم قطيراتها. أجريت دراسة الثبات هذه على مدار 40 يومًا عند 25 و 40 درجة مئوية. كما تم تغليف و دراسة حركية تحرر الكلورو تتراسيكلين. تم إثبات العديد من آليات الاستقرار من خلال دراسة الخواص الفيزيائية والكيميائية والخصائص الانسيابية والملاحظات المجهرية الضوئية للمستحلبات مباشرة بعد الصنع.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها انه من الممكن تكوين مستحلبات ماء/زيت/ماء مزدوجة متبلورة تكون مستقرة لمدة 40 يوما بناءا على هذه البوليميرات الحيوية. يعتمد ثبات المستحلبات المصنعة على تركيز مختلف المكونات. أظهرت هذه الدراسة أيضا انه من الممكن تغليف مادة فعالة و تعديل تحررها.

الكلمات المفتاحية:مستحلب مزدوج. نشاء اوكتينيل السكسينيك المعدل. صمغ القزانتان. كلوروتتراسيكلين. ثبات. لزوجة. تحرر

Résumé

L'objectif de cette étude a été de formuler et de caractériser des émulsions doubles cristallisables eau/huile/eau (E/H/E) à base d'un mélange de deux biopolymères à savoir L'Osa starch (octénylsuccinique d'amidon modifié : OSA) et la gomme de xanthane (GX) par la méthode indirecte. L'étude de l'effet des concentrations massiques totales en biopolymères et en phase organique sur la stabilité, la viscosité et la taille des gouttelettes des émulsions préparées a été étudiée. Cette étude de stabilité a été menée sur 40 jours à 25 et 40 °C. L'encapsulation et la cinétique de libération du chlorotétracycline ont été également étudiées. Plusieurs mécanismes de stabilisation ont été mis en évidence grâce à l'étude des propriétés physicochimiques, des propriétés rhéologiques et à des observations au microscope optique des émulsions directement après formulation.

Les résultats obtenus ont montré qu'il est possible de formuler des émulsions doubles cristallisables E/H/E stables pendant 40 jours à base de ces deux biopolymères. La stabilité des émulsions formulées dépend fortement de la concentration des différents constituants. Cette étude a montré également qu'il est possible d'encapsulé une substance actif et de modifié sa libération.

Mots clés: émulsion double, octénylsuccinique d'amidon modifié, gomme xanthane, chlorotetracycline, stabilités, viscosité, libération

Abstract

The objective of this study was to formulate and characterise water/oil/water (W/O/W) double crystallisable emulsions based on a mixture of two biopolymers namely Osa starch (octenylsuccinic modified starch: OSA) and xanthan gum (GX) by indirect method. The effect of total mass concentrations of biopolymers and organic phase on the stability, viscosity and droplet size of the prepared emulsions was investigated. This stability study was conducted over 40 days at 25 and 40 °C. The encapsulation and release kinetics of chlorotetracycline were also studied. Several stabilisation mechanisms were identified through the study of physicochemical, rheological properties and optical microscope observations of the emulsions directly after formulation.

The results obtained showed that it is possible to formulate stable double crystallisable W/O/W emulsions for 40 days based on these two biopolymers. The stability of the formulated emulsions is highly dependent on the concentration of the different constituents. This study also showed that it is possible to encapsulate an active substance and modify its release.

Keywords: double emulsion, modified starch octenylsuccinic, xanthan gum, chlorotetracycline, stabilities, viscosity, release.

Introduction Générale

De nombreux matériaux de taille colloïdale ont été envisagés au cours de ces dernières années pour encapsuler, vectorisé, ou compartimenter, c'est-à-dire jouer le rôle de microréservoirs capables de séparer une espèce d'un milieu continu par l'intermédiaire d'une membrane. Parmi ces nombreux systèmes aux propriétés physico-chimiques différentes, les émulsions doubles sont très vite apparues être un candidat idéal. Grâce à leur structure compartimentée, ces matériaux isolent du milieu continu des réservoirs internes aqueux, pouvant contenir un principe actif hydrophile, par l'intermédiaire d'une matrice d'huile, actuellement, aucune application industrielle utilisant cette technologie n'a pu être correctement développée **[1].**

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. Il existe plusieurs types d'émulsions dont les émulsions multiples. Ces dernières requièrent usuellement au moins deux tensioactifs différents pour concilier les interfaces formées par les gouttelettes d'eau dans l'huile, et celles formées par les gouttelettes d'huile dans l'eau. Elles nécessitent aussi au moins deux étapes de préparation par agitation et sont le plus souvent très instables. Également appelée « émulsion du second ordre ». Ces émulsions sont dures à maitriser et à stabiliser car on a forcément deux phases aqueuses ou deux phases huileuses. Pour améliorer la stabilité et le contrôle de la libération de principe active, en utilisent des molécules de tensioactifs, et des biopolymères de nature polysaccharides **[2].**

Les tensioactifs sont des substances macromoléculaires amphiphiles, elles sont généralement moins tensioactives que les surfactants synthétisés. Cependant, les tensioactifs mènent à des émulsions thermodynamiquement et cinétiquement plus stables.

Les polysaccharides sont utilisés comme épaississants, stabilisants, agents de suspension, gélifiants, filmogènes, d'aération, floculant, liants, émulsifiants, lubrifiants, agents texturants et de structuration **[3,4].**

L'objectif de ce travail est l'étude de la stabilité des émulsions multiples formulées à bases de mélanges de deux biopolymères à savoir L'Osa starch (amidon traité avec de l'acide octénylsuccinique d'amidon modifié : OSA) et la gomme de xanthane (GX). L'encapsulation et la cinétique de libration du chlorotétracycline dans des émulsions doubles stables à base de ces deux biopolymère sera également étudié.

Au cours de cette étude, nous remplaçons la phase huileuse liquide par un mélange de deux huiles : une huile liquide (huile d'olive) et une huile solide (beurre de cacao). Nous explorerons

ensuite l'influence d'une telle matrice solide sur la stabilité du matériau. La nature solide de la matrice impose, d'une part, des nouvelles propriétés de surface aux particules, propriétés qui vont régir leur stabilité. Vu la complexité de maitriser de tels systèmes, une recherche bibliographique à été soigneusement effectuée, cette dernière nous a permis de sélectionner les données nécessaires sur le domaine de formulation.

Ce manuscrit se décompose en quatre chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude de quelques concepts généraux relatifs à la physico-chimie des émulsions. Les applications des systèmes dispersés dans les différents domaines industriels et spécialement pharmaceutiques et cosmétiques sont également présentées. Dans le deuxième chapitre nous présenterons les émulsions cristallisables et les principaux mécanismes de cristallisation dans une phase huileuse et dans une émulsion simple (E/H). Le troisième chapitre qui sera consacré à l'aspect pratique de ce travail regroupe les parties suivantes :

- Préparation des émulsions simples (E/H) à base de beurre de cacao et l'huile d'olive.
- Préparation des émulsions multiples ($E_1/H/E_2$) à base de l'OSA starch et la gomme de xanthane.
- Caractérisation physico-chimique des émulsions obtenues.
- L'encapsulation et la cinétique de libration du chlorotétracycline.
- L'effet d'inhibition de CTC sur des souches bactériennes.

Finalement le quatrième chapitre est consacré aux résultats expérimentaux et leurs discussions.

Ce travail est achevé par une conclusion générale dans laquelle nous dressons le bilan des principaux résultats obtenus, et nous proposons des perspectives d'études concernant les questions non résolues au cours de cette mémoire.

Synthèse Bibliographique

Introduction

De nos jours, les émulsions sont partout. Elles sont très utilisées dans l'industrie, notamment l'industrie pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire, les peintures, l'agrochimie et l'industrie pétrolière. Dans l'industrie pharmaceutique, les applications sont nombreuses: émulsions parentérales, topiques, orales ou ophtalmiques. Du fait de cette large étendue d'utilisations, de nombreuses études sont en cours pour essayer de mieux comprendre le comportement des émulsions **[5].**

I.1 Définition des émulsions

Une émulsion est un système comprenant au moins deux liquides non miscibles, dont l'un est dispersé dans l'autre, sous une forme plus ou moins stable. Une émulsion est souvent décrite comme une dispersion de gouttelettes de l'une des phases dans l'autre**.** Ainsi, dans un tel système, l'un de ces liquides immiscibles constituera une phase continue (externe) dans laquelle un autre y sera dispersé (phase discontinue ou interne) sous forme de gouttelettes dont la taille peut varier de 0.1 μm à environ 10 μm **[6].**

I.2 Différents systèmes sous le terme « émulsion »

I.2.1 Macro émulsions ou émulsions

Il s'agit de systèmes dispersés hors équilibre comportant deux phases liquides non miscibles. Les émulsions sont des systèmes instables du point de vue thermodynamique, car la séparation des deux phases conduit à une diminution de l'énergie libre. Cependant, la cinétique de grossissement de gouttes peut être suffisamment retardée pour que l'émulsion reste stable pendant une durée déterminée. Le diamètre moyen de ces émulsions classiques est supérieur ou égal au micromètre. Compte tenu de leur taille, et en fonction de la viscosité de la phase continue, les gouttes des émulsions sédimentent (ou crèment) sous l'effet de la gravité **[4]**.

I.2.2 Nano/mini émulsions

Ces deux termes sont utilisés pour nommer des systèmes bi phasiques, de taille de gouttes comprises entre 20 et 200 nm. En raison de la taille des gouttes, les nano émulsions sont transparentes ou translucides à l'œil et sont stables à la sédimentation ou au crémage. La préparation des nano émulsions exige soit l'utilisation de méthodes hautement énergétiques, comme la micro fluidisation, ou bien l'utilisation de méthodes non conventionnelles et complexes, mais de faible consommation énergétique, comme l'inversion de phase. L'avantage des mini émulsions est leur extraordinaire stabilité au vieillissement et à la dilution **[4].**

I.2.3 Micro émulsions

Ce sont des émulsions simples dans lesquelles les particules dispersées sont si fines qu'elles paraissent solubilisées dans la phase aqueuse. En effet, la taille des particules, qui est comprise entre 10 et 100 nanomètres (nm), confère une transparence aux préparations et une pénétration plus favorable des substances actives à travers la couche cornée de la peau **[7].**

Le tableau I.1 donne une représentation schématique des trois types d'émulsions en fonction de la taille moyenne des gouttelettes.

Tableau I.1: Types d'émulsions simples en fonction de la taille moyenne des gouttelettes **[8]**

Propriétés	Macro-émulsion	Nano-émulsion	Micro- émulsion
Apparence	Opaque	Transparent ou légèrement turbide	Transparent ou légèrement turbide
Stabilité	Thermodynamiquement instable	Thermodynamiquement instable mais cinétiquement stable	Thermodynamiquement stable
Durée de vie	Courte	Courte	Longue
Taille gouttelettes	Supérieur à 1µm	Entre 20 et 500 nm	Entre 10 et 100 nm
Energie nécessaire à la formation	Méthodes à forte ou faible énergie	Méthodes à forte ou faible énergie	Méthodes à faible énergie (formation spontanée)
Cout pour la formation	Peu important	Important	Peu important
Pourcentage de tensioactif	Inférieur à 5%	Entre 5 et 10%	Supérieur à 10%

I.3 Différents types d'émulsions

Il existe plusieurs types d'émulsions selon la dispersion des phases aqueuses et huileuses :

I.3.1 Emulsions simples

Elles sont appelées eau-dans-huile (E_1/H) quand des gouttelettes d'eau sont dispersées dans la phase huileuse, et huile-dans-eau (H/E) pour l'inverse.

Les symboles utilisés désignent toujours la phase dispersée en premier. Les émulsions de type huileux étant les moins courantes, elles sont parfois appelées émulsions inverses **[2].**

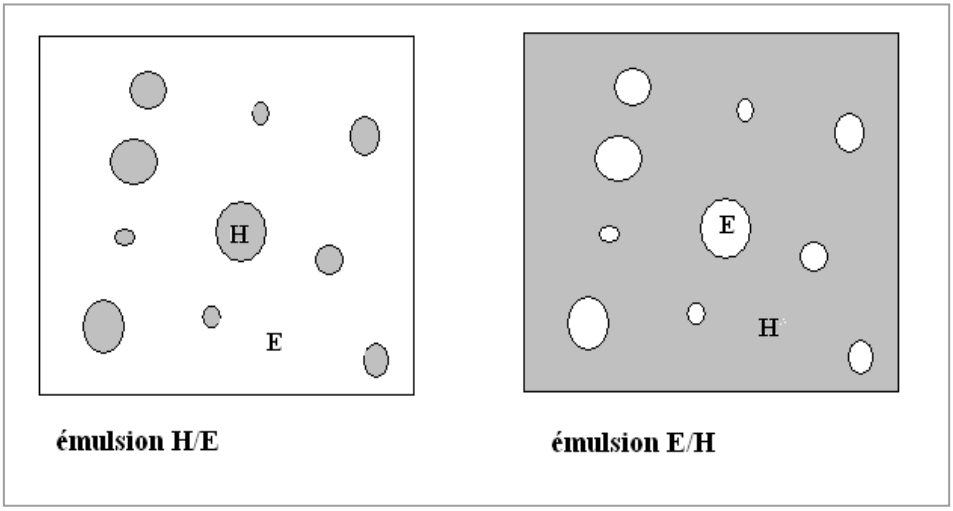


Figure I.1 Les différents types d'émulsion simple **[2].**

I.3.1.1Description des émulsions simples

a) Aspect des émulsions

L'aspect de l'émulsion dépend du rapport entre lumière transmise et lumière diffusée. Plus la taille des gouttelettes est grosse plus la diffusion est importante et plus l'émulsion présentera un aspect opalescent, blanc. Dans le cas des microémulsions, le système est translucide. Le tableau I.2 montre l'aspect des émulsions en fonction de la taille des globules. Pour modifier l'aspect de l'émulsion sans changer la granulométrie ni la fraction volumique de la phase dispersée, il faut faire varier l'indice de réfraction de l'une des deux phases en augmentant sa concentration, par exemple en saccharose **[1].**

Tableau I.2 : Taille des gouttes et aspect des émulsions **[1]**

Taille des gouttelettes	Aspect de l'émulsion
> 100 µm	**Gouttes visibles**
10-100 µm	**Blanc laiteux**
0.1-10 µm	**opalescent**
< 0.1µm	**Translucide**

b) Concentration

Le terme de « concentration de l'émulsion » se rapporte en fait à la concentration de la phase dispersée. Cette concentration est mesurée par la fraction volumique de la phase dispersée appelé également taux de rétention **[3]**:

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

Avec :

Φ : concentration de l'émulsion

V_D : le volume de la phase dispersée (ml).

V_C : le volume de phase continue (ml).

Ce paramètre est déterminant pour la stabilité de l'émulsion, sa fabrication et ses propriétés macroscopiques. En effet, il est représentatif des interactions observées entre gouttelettes. Trois types d'émulsions sont définis par ce paramètre (Tableau I.3) **[3]**.

Tableau I.3 : Types d'émulsions selon la concentration de la phase interne **[3].**

ϕ	Type d'émulsion
< 0,02	Emulsion diluée
0,3 < ϕ < 0,74	Emulsion concentrée
> 0,74	Emulsion très concentrée

c) Granulométrie

La granulométrie définit la taille des gouttelettes de la phase dispersée. On définit une distribution des tailles et un diamètre moyen. La distribution peut être monomodale ou bimodale, mono dispersé ou poly dispersé (cas le plus courant) **[3].**

d) Rhéologie

La rhéologie est l'étude des écoulements soumis à des contraintes mécaniques. Entre le fluide newtonien (fluide idéal dont la viscosité ne dépend pas du cisaillement) et le solide élastique (solide qui se déforme sous sollicitation, qui reprend sa forme initiale en l'absence de contrainte, mais qui ne s'écoule pas) se situent les fluides viscoélastiques. Les émulsions font partie des fluides au comportement intermédiaire : les fluides viscoélastiques. La viscosité de la préparation détermine son conditionnement, son utilisation et certains caractères organoleptiques. La rhéologie est déterminée par la composition et la structure de l'émulsion **[1].**

I.3.1.2 Compositions des émulsions simples

a) Phases lipophile et hydrophile

La phase huileuse appelée également phase grasse, phase lipophile ou phase organique, est généralement composée d'un mélange d'ingrédients, elle peut contenir des huiles, des cires et des graisses d'origine végétale, animale ou minérale.

La phase aqueuse, ou phase hydrophile, contient l'eau et divers composants hydrosolubles ; les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverse : ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, etc. … **[3].**

b) Molécules amphiphiles

Le terme amphiphile vient du grec amphi « des deux cotés » et philos «ami». Une molécule amphiphile, également appelée tensioactif, est une molécule naturelle ou synthétique composée de deux parties d'affinités chimiques opposées : d'une part, une chaîne hydrophobe appelée queue apolaire, et d'autre part, un groupe hydrophile appelée tête polaire (Figure I.2).

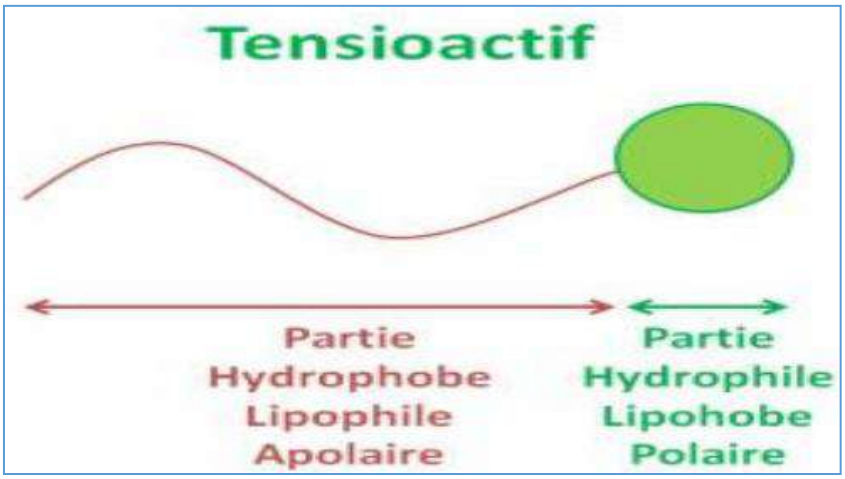


Figure I.2 : Schéma d'un tensioactif **[3]**

Les agents émulsionnants peuvent être soit des tensioactifs, des polymères, des cristaux liquides ou des solides divisés **[1].**

Selon la nature de leur tête polaire, les tensioactifs sont classés en : (non ionique, anionique, cationique ou amphotère) :

- **Tensioactifs anioniques:** Comportent un groupement ionique chargé négativement en solution aqueuse : carboxylate, sulfate, sulfonâtes ou phosphate. Ce sont les agents tensioactifs les plus utilisés industriellement.

- **Tensioactifs cationiques:** comportent un groupement ionique chargé positivement en solution aqueuse, ce sont généralement des sels d'ammonium quaternaire ou encore les amines protonées **.**Cependant, ce type de tensioactifs regroupe des molécules toxiques et irritantes, leur utilisation est donc limitée **[5,7].**
- **Tensioactifs non ionique :** La tête polaire n'est pas chargée c'est-à-dire que leur molécule ne comporte aucune charge nette (ne s'ionise pas dans l'eau) mais elle possède des groupements polaires susceptibles de créer des liaisons hydrogènes. Par exemple, les esters de glycol ou encore des éthers d'alcool gras. Ce sont donc d'excellents candidats pour les formulations complexes. Les surfactifs non ioniques sont émulsionnants, solubilisants et mouillants **[8].**
- **Tensions actifs amphotères (zwittérioniques) :** comportent deux groupements ioniques, l'un cationique et l'autre anionique, qui se neutralisent au pH isoèlectrique.ls sont par conséquent parfois classifiés comme non ioniques.

Le choix du tensioactif doit prendre en compte le type d'émulsion à préparer et la nature des phases. Les propriétés essentielles des composés tensioactifs qui permettent de comprendre les phénomènes observés et qui déterminent leurs domaines d'application sont :

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

L'origine de la tension superficielle réside dans la distribution anisotrope des forces d'attraction subies par les molécules d'un liquide à sa surface de contact avec l'air. Au sein du liquide (pur), toute molécule est soumise de la part des autres à des forces attractives dont la résultante est nulle**.**

La tension superficielle γ, appelée aussi énergie libre superficielle est définie en thermodynamique comme étant le travail réversible nécessaire, par unité d'aire, pour augmenter à température et à pression constante, l'aire de la surface du liquide considéré **[3]**.

$$\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial A}\right)_{T.P} \quad \text{.....I.1}$$

La tension interfaciale a exactement les mêmes origines que la tension superficielle qui n'est qu'un cas particulier de la tension interfaciale, pour une interface liquide-aire, la tension interfaciale est définie comme la force nécessaire pour rompre la surface entre deux liquides immiscibles **[10].**

Les molécules de tensioactifs ont tendance à se concentrer aux interfaces et à s'orienter de façon à augmenter les interactions attractives (partie hydrophile/eau et partie lipophile/phase lipophile). Ce phénomène d'adsorption du tensioactif provoque une diminution de la tension superficielle ou de la tension interfaciale jusqu'à ce que l'interface soit saturée**.**

On note la formation de micelles dans les solutions de molécules amphiphiles (dans l'eau ou dans l'huile) lorsque la concentration en molécules dissoutes dépasse un certain seuil, appelé concentration micellaire critique (CMC). Au-delà de la CMC en effet, l'association des molécules amphiphiles se traduit par des changements importants dans le comportement des solutions.

A la CMC, de nombreuses propriétés physico-chimiques subissent une brusque discontinuité. La valeur de la CMC mesurée varie légèrement suivant la méthode retenue pour la déterminer.

Expérimentalement, la CMC est déterminée par une rupture de pente sur une courbe représentant la variation d'une propriété en fonction de la concentration en tensioactif **[11].**

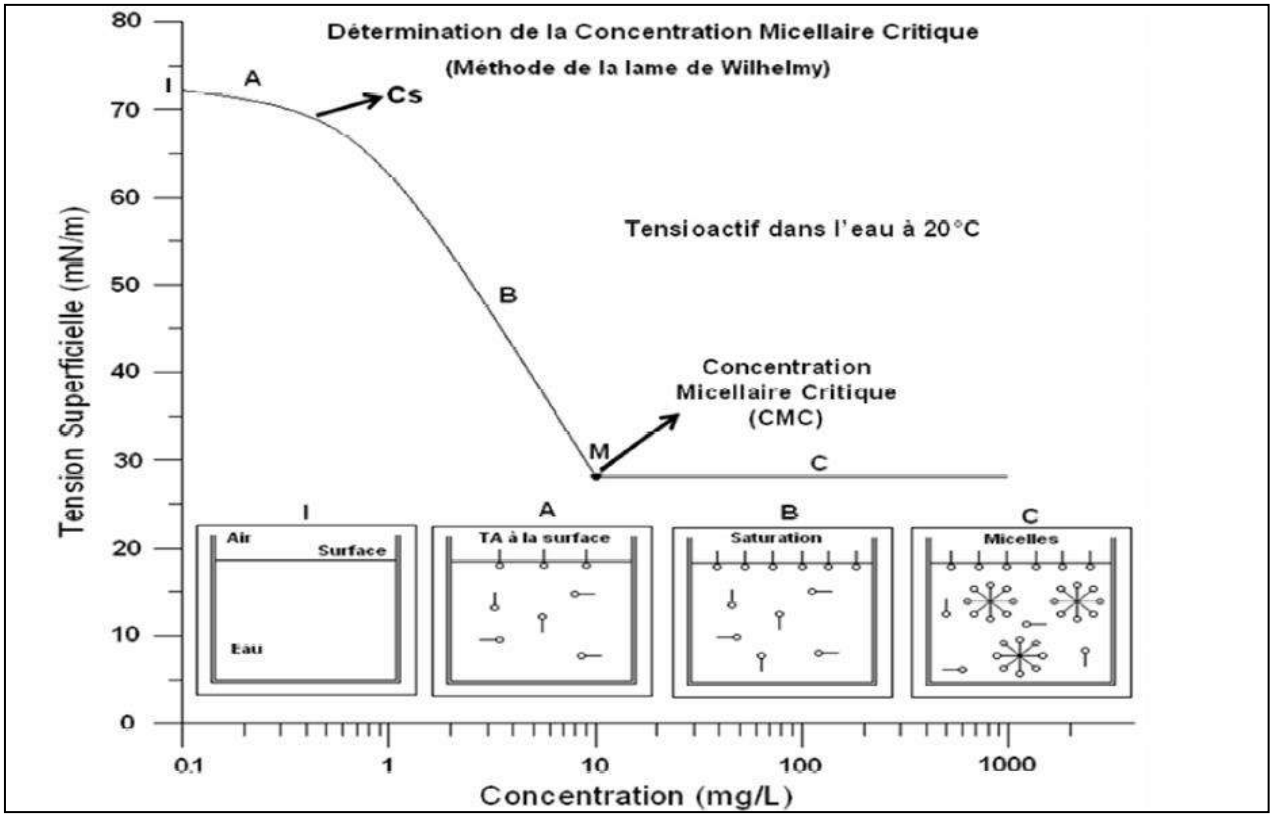


Figure .I.3 Diminution de la tension superficielle par addition d'un agent tensioactif **[11].**

c) Additives

- **antioxydants**

On ne doit pas avoir recours à des antioxydants sans avoir prouvé que leur emploi ne peut être évité, même en améliorant les conditions de fabrication **[13].**

Leur présence est obligatoire dans la formulation des émulsions contenant des corps gras insaturés qui, sous l'action de l'oxygène de l'air, s'oxydent et provoquent le rancissement et/ou la dénaturation de la préparation, parmi les principaux agents antioxydants rencontrés dans les préparations cosmétiques et pharmaceutiques : acide ascorbique avec une concentration usuelle comprise entre 0.1 à 0.5% **[14].**

- **agents viscosifiants**

Appelés aussi substances épaississantes, ils contribuent à la stabilisation des émulsions, en ralentissant la sédimentation ou le crémage des gouttelettes dispersées. Dans les émulsions H/E, on utilise surtout les polyosides d'origine végétale (alginates, les celluloses et dérivés, les gommes, les pectines, le gel d'aloès) ou synthétique (méthylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose…) et les carbomères.

Pour les émulsions E/H, les agents épaississants sont des huiles minérales telles la silice colloïdale **[13].**

- **Les adjuvants (matières aromatiques et colorantes)**

Selon les caractéristiques organoleptiques (odeur, couleur) recherchées, le formulateur peut ajouter les matières aromatiques et / ou colorantes. Les arômes, utilisés à raison de 0,1 à 0,3 %, sont des substances odorantes et volatiles, d'origine naturelle (extraits de fleurs, de feuilles, de fruits, résines, le castoréum, le musc, …) ou synthétique (vanilline, …).

Les colorants sont des molécules capables de colorer un support grâce à leur aptitude à absorber une partie de la lumière visible. Les plus utilisés dans les formulations des crèmes sont les colorants hydrosolubles (sels) autorisés par la pharmacopée **[15].**

- **Les conservateurs antimicrobiens**

Ce sont des substances capables de s'opposer au développement des germes bactériens et fongiques qui peuvent se retrouver dans les préparations pharmaceutiques et cosmétiques. L'efficacité des conservateurs dépend entre autres de leur concentration et du pH de la préparation **[16].**

I.3.1.3 Stabilité et phénomènes de déstabilisation des émulsions simples

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

Enfin, la formulation, pour être stable microbiologiquement, ne doit pas être un milieu de culture pour levures, moisissures, et germes bactériens. Les émulsions étant thermodynamiquement instables, leurs propriétés vont se modifier dans le temps **[4].**

Une émulsion est un système métastable : ce sont des systèmes thermodynamiquement instables mais potentiellement cinétiquement stables sur une échelle de temps modérée. Ainsi, afin de tendre vers le minimum d'énergie libre du système, des phénomènes de déstabilisation de phases apparaissent, de nature réversible ou irréversible (Figure I.4). Ce minimum d'énergie est atteint lorsque l'aire minimale de contact entre les deux phases (E/H) est observée, ce qui conduit à une séparation de phases.

On peut alors dénombrer plusieurs types de déstabilisation : La coalescence et le mûrissement d'Ostwald. Le crémage et floculation. L'inversion de phase (tableau I.4) **[8].**

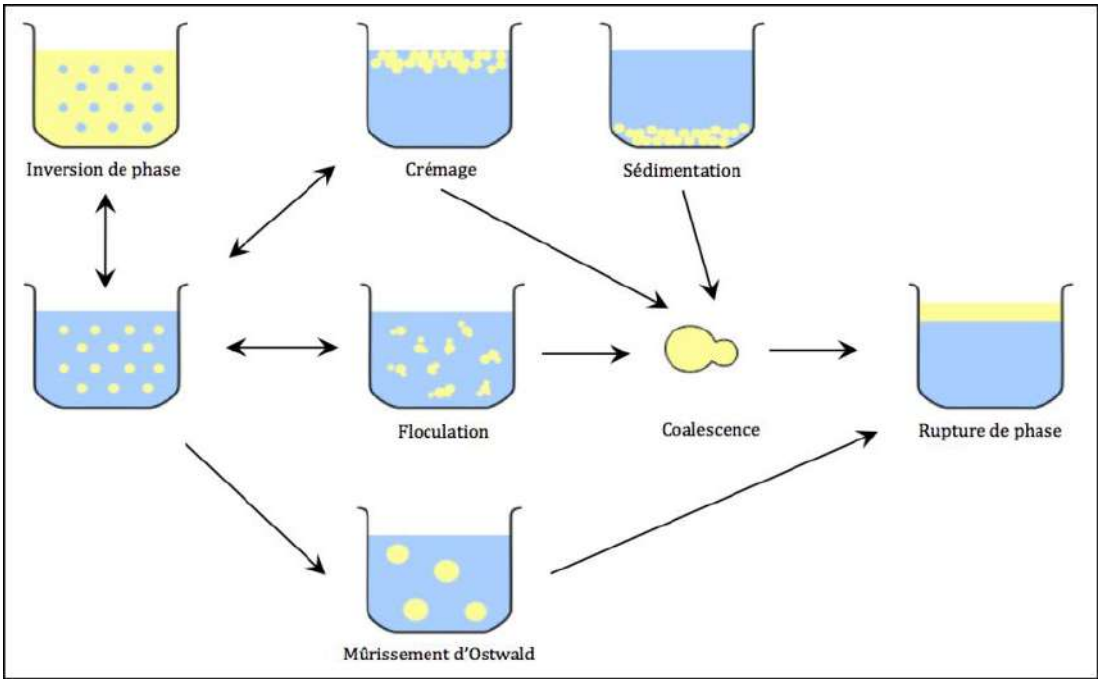


Figure I.4: les phénomènes d'instabilité des émulsions **[8].**

Tableau I.4 : Phénomènes et causes de l'instabilité des émulsions **[3]**

Phénomènes	Causes
Coalescence	Rapprochement des gouttelettes
Murissement d'Ostwald	Solubilité de la phase dispersée dans la phase dispersante
Crémage et Sédimentation	Différence de densité entre les phases
Floculation	Répulsion insuffisante entre les gouttelettes
Inversement de phase	Température

I.3.1.4 Préparation des émulsions simples

Les émulsions sont préparées par mélange intime des deux phases dans lesquelles on a dissout au préalable tous les constituants, parmi eux les émulsionnants **[17].**

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

- On peut introduire les émulsionnants dans la phase aqueuse.
- On peut, inversement introduire les émulsionnants dans la phase huileuse.
- On peut, aussi, introduire chaque émulsionnant dans son solvant préférentiel (l'émulsionnant hydrophile dans l'eau, et l'émulsionnant lipophile dans huile).
- On peut, enfin, préparer l'émulsionnant« in situ », en introduisant, par exemple un acide gras dans l'huile, et une base dans l'eau **[18].**

L'ordre d'addition des phases peut varier : dans certains cas, c'est la phase dispersée qui est ajoutée progressivement sous agitation à la phase dispersante, dans l'autre cas c'est l'inverse ou bien ajouter aux émulsionnant par portions et alternativement les deux phases à incorporer [**19].**

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

Bien qu'une agitation manuelle suffise parfois comme énergie mécanique, un moyen d'agitation électrique est le plus souvent indispensable pour l'obtention d'émulsions ayant une durée de vie importante. Différents moyens mécaniques de dispersion sont utilisables : mélangeur à hélice, mélangeur statique, broyeur colloïdal, ultrasons ou homogénéisateur à haute pression . Le type de système de dispersion est à choisir en fonction de la finesse désirée pour l'émulsion **[17]**

I.3.2 Émulsions multiples

Elles sont symbolisées par h/E/H ou e/H/E, h (respectivement e) indique la phase la plus interne et H (respectivement E) indique la plus externe. Les phases h et H ou "e" et E peuvent être identiques ou différentes (figure I.5). **[20]**

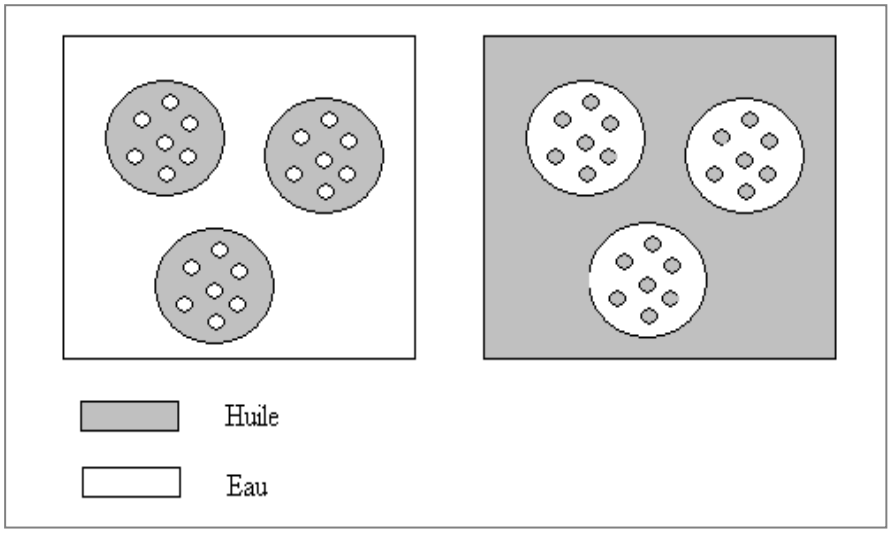


Figure I.5 Différents types d'émulsions doubles (E/H/E et H/E/H) **[21]**

Les sphères formées par la phase intermédiaire sont généralement qualifiées de globules disperses, danse et les sphères de phase interne sont appelées gouttelettes. Chaque phase peut contenir des ingrédients actifs différents, ce qui permet la présence d'actifs incompatibles. Ce type d'émulsion permet également de protéger un principe actif contenu dans la phase interne. Les émulsions multiples donc constituant des systèmes prometteurs car elles sont envisagées comme des réservoirs à membrane liquide **[22].**

I.3.2.1 Constituants des émulsions multiples

a) Phase organique (lipophile)

Bien qu'il y ait des phases huileuses plus adaptées que d'autres, tous les constituants des émulsions simples permettent d'obtenir des émulsions multiples. Les phases huileuses les plus rencontrées sont : les corps gras naturels (glycérides cérites), les hydrocarbures (huiles, cires minérales et oléfines), les esters et les amides.

b) Tensioactif

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

Pour les émulsions multiples E/H/E: les molécules de l'émulsionnant primaire, à tendance lipophile, s'orientent à interface EH et celles de l'émulsionnant secondaire à tendance hydrophile, à interface externe H/E. Ils donnent ainsi si leur taux et leur nature sont bien adaptés à celui de la phase huileuse, deux films mono moléculaires. Les parties apolaires des émulsionnants se trouvent dans l'huile alors que les parties polaires se trouvent dans la phase aqueuse interne et externe **[22].**

c) Phase aqueuse (hydrophile)

Les phases aqueuses à l'intérieur ou à l'extérieur peuvent être identiques mais elles sont, le plus souvent, différentes. La phase aqueuse interne contient les matières que l'on désire diffuseur à l'aide de l'émulsion multiple (principe actif, variateur de pH, traceur ... à très faibles concentrations, ils jouent le rôle de marqueurs, permettant ainsi une quantification, ce sont par exemple des électrolytes (NaCl), des sucres (glucose). Une concentration élevée, ils ont pour rôle augmenté la stabilité. Ce sont notamment des polymères hydrophiles incorporés dans des phases aqueuses externes **[23]**

d) Additif de stabilisation

Pour stabilisant les émulsions multiples, il faut utiliser des additifs adaptés à chaque type d'émulsion concerné. En fait, ces additifs sont identiques à ceux que l'on utilise pour les émulsions du premier : direct ou indirecte, qui ont différents mais, en particulier :

- L'augmentation de la viscosité des phases polymériques cellulosiques, vinyliques, siliciques…
- Celui de régler à sa juste valeur le HLB (Balance Hydrophile-Lipophile) des agents tensioactifs, agent alcalins et autres, ajustement du pH des phases aqueuses internes et externes **[13].**

I.3.2.2 Méthodes de préparation des émulsions multiples

Nous allons présenter ici les procédés fondamentaux de la fabrication d'émulsions multiples rencontrés dans la littérature, émulsion de type E/H/E par exemple.

a) Procédé classique en deux étapes (processus d'émulsification en deux étapes)

C'est le procédé le plus répandu. Ce procédé est effectué à deux étapes : La première étape consiste à préparer l'émulsion primaire E/H par addition de phase aqueuse dans une phase huileuse contenant un surfactif lipophile. Pendant cette première étape, l'énergie d'agitation est souvent importante afin de réduire au maximum la taille des gouttelettes.

Dans la deuxième étape, l'émulsion E/H est redispersée dans une phase aqueuse contenant un tensioactif hydrophile pour les anciennes gouttes de l'émulsion multiple E/H/E (Figure I.6). Dans cette dernière émulsification, la vitesse de cisaillement est généralement moindre que pour la première étape afin de vérifier la rupture des gouttes de l'émulsion multiple. De plus, la viscosité de l'émulsion primaire peut être importante et l'incorporation de cette émulsion dans la phase aqueuse doit se faire lentement **[24].**

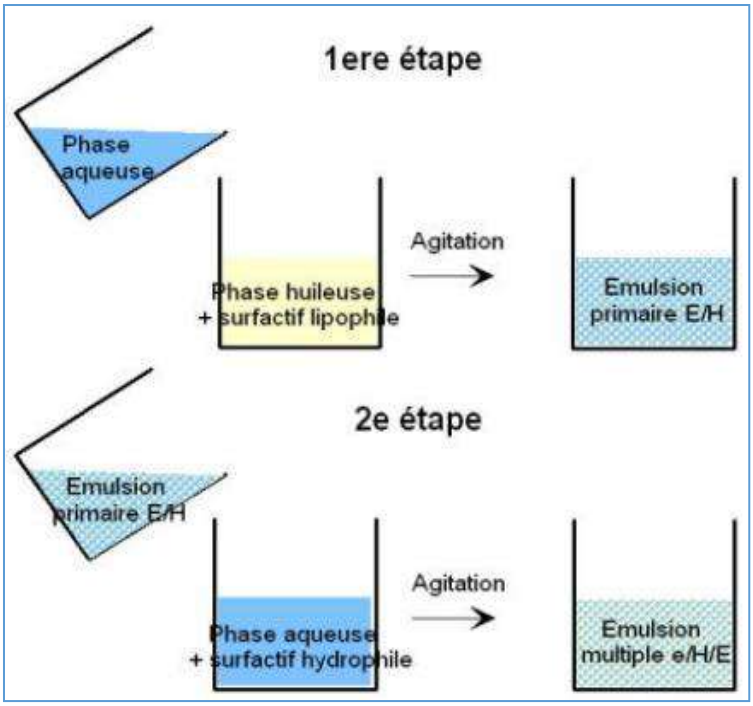


Figure I.6 Procédé classique d'élaboration d'émulsions multiples en deux étapes **[23]**

b) Procédé par étape (un lot) :

C'est une nouvelle méthode d'émulsification en deux étapes, grâce à la position de l'homogénéisateur dans la cuve (Figure I.7). Il s'agit en fait d'une double agitation dans un réacteur contenant à la fois la phase aqueuse qui contient les émulsifiants hydrophiles et la phase huileuse qui contient une appréciable la quantité d'émulsifiant lipophile **[24].**

La première étape consiste à fabriquer l'émulsion E/H en positionna itateur dans la phase huileuse supérieure contenant un surfactif lipophile. L'agitation provoque l'incorporation et la dispersion d'eau depuis la phase inférieure vers la phase supérieure. Le volume de cette phase augmente pendant que celui de la phase aqueuse inférieure diminue. Dans la deuxième étape, l'agitateur est placé dans la phase aqueuse contenant un surfactif hydrophile. L'émulsion E/H est cette fois ci dispersée dans la phase aqueuse, formant une émulsion multiple E/H/E qui, finalement, occupe la totalité du volume **[23].**

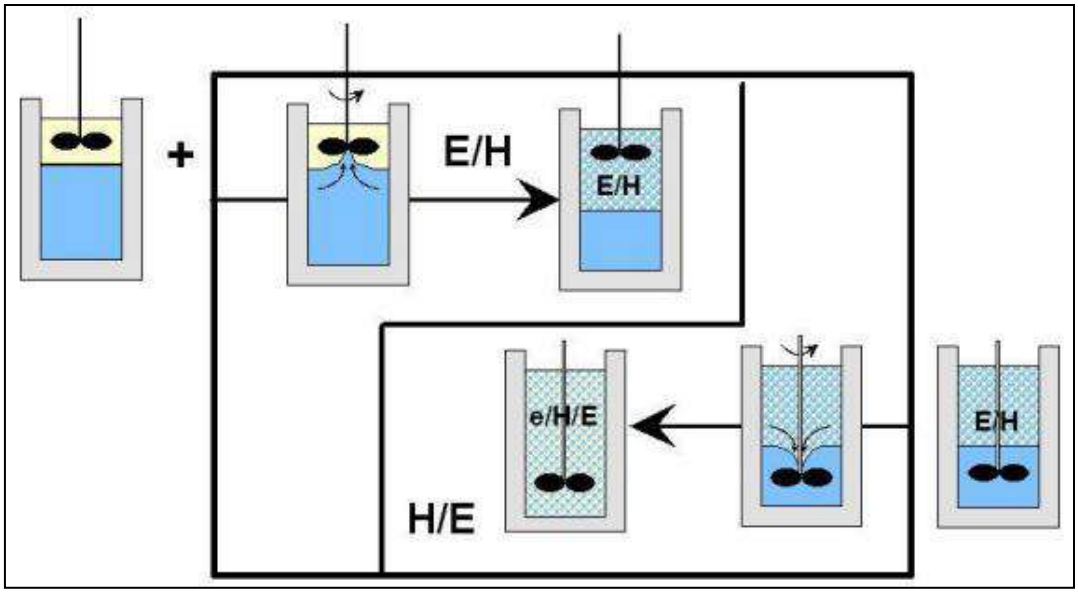


Figure I.7 Schéma de la méthode deux étapes (un lot) **[23].**

c) Emulsification en une étape "one step" :

Ce type de méthodologie consiste à fabriquer une émulsion multiple en une seule étape. Il existe aussi différentes techniques dans la littérature. Cette méthodologie consiste à agiter une quantité égale d'eau et d'huile, chacune des deux phases contenant un surfactif. La phase aqueuse contient très peu de surfactif hydrophile et la phase huileuse contient une grande quantité de surfactif lipophile. Une agitation importante des deux phases provoque la déformation des gouttes d'huile permettant l'encapsulation de gouttelettes d'eau **[23].**

I.3.2.3 Caractérisation des émulsions multiples

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

a) Propriétés macroscopiques

Ce test est basé sur les critères suivants :

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

b) Propriétés microscopiques

L'examen microscopique est le premier essai effectué pour identifier les systèmes lors du vieillissement. La microscopie optique est une méthode d'analyse usuelle pour contrôler la multiplicité des systèmes **[25].**

c) Sens de l'émulsion (type)

Une propriété importante d'une émulsion est son type : E/H ou éventuellement émulsion multiple H/E/H, H/E/H. Déterminer le type d'une émulsion revient à caractériser la phase externe. Il y a différentes méthodes pour le déterminer **[26,27]:** méthode par dilution, méthode par coloration, méthode par mesure de la conductivité électrique.

d) Taille des gouttelettes

La distribution granulométrique permet une mesure directe de la taille des globules multiples de diamètre supérieur à 0,5 µm, ainsi qu'une évaluation du pourcentage des globules multiples par apport aux globules simples. La taille des gouttes est particulièrement représentative des conditions d'agitation, de la viscosité, de la température et de la formulation dans l'émulsion a été élaborée **[28].**

e) Propriétés rhéologiques

La puissance de description et le caractère polyvalent des analyses rhéologiques sont presque tous mis à profit pour la caractérisation des émulsions multiples. Leur 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 **[28].**

I.3.2.4Stabilité des émulsions multiples

Les émulsions multiples, sont thermodynamiquement instables car leur décomposition résultait d'une diminution d'énergie libre. Ce pendant les cinétiques nécessaires dans la démixtion des phases être si lent que l'émulsion peut être considérée comme stable. La stabilité d'une formulation revêt plusieurs aspects : physiques, chimiques et microbiologiques. Pour être physiquement stable, l'émulsion ne doit pas montrer de démixtion, qui peut être provoquée soit par la coalescence, soit par un phénomène de crémage / sédimentation.

La stabilité physique inclut aussi une invariance du comportement rhéologique et de la granulométrie La stabilité chimique repose sur le fait relatif aux composants de l'émulsion ne doit

participer à une réaction chimique pouvant soit modifier de manière grave la stabilité des propriétés applicatives (aspect, couleur, odeur, efficacité). Enfin, la formulation, pour être stable microbiologiquement, ne doit pas être un milieu de culture pour levures, moisissures, et germes bactériens **[23].**

I.3.2.5Techniques de stabilisation des émulsions multiples :

Il est à noter que de nombreuses solutions ont été envisagées afin de ralentir la destruction des émulsions doubles: utilisation de tensioactifs longs tels que utilisés afin de limiter leur diffusion à travers l'huiles de coalescence goutte – globule, utilisation de deux espèces afin d'équilibrer les potentiels chimiques de l'eau interne et de l'eau externe, espèces qui doivent présenter un faible coefficient de perméabilité à travers la membrane afin de limiter le mûrissement de composition; augmenter la viscosité de la phase huile afin de ralentir les processus d'échange d'eau et de soluté vers le milieu continu **[29].**

I.3.2.6Applications des émulsions multiples dans l'industrie

Les émulsions multiples ont très vite suscité un intérêt vif dans la recherche industrielle Elles permettent d'encapsuler des substances afin d'obtenir une libération contrôlée de celle ci.

Elles offrent la possibilité d'encapsuler des principes actifs dans des gouttelettes d'émulsion primaire. La phase externe de l'émulsion primaire constitue une barrière à la diffusion principe actif, ce qui correspond à un système d'encapsulation. Par exemple, pour une émulsion de type H/E/H, l'émulsion interne E / H est un réservoir d'eau où des substances hydrophiles peuvent être dissoutes. L'huile agit comme une barrière au transport des molécules hydrophiles **[30].**

- **Domaine pharmaceutique et médical**

Dans le domaine pharmaceutique, les émulsions multiples présentent un réel intérêt puisque, tout comme les liposomes et contrairement aux microparticules, leurs compartiments ont pour intérêt de protéger le principe actif an introduit en phase interne ; modifiant ainsi sa libération et favorisant son absorption **[31].**

Des nouvelles études ont également montré l'intérêt des émulsions multiples H/E/H pour l'administration de médicaments par voie orale par exemple, elles peuvent protéger l'insuline contre la dégradation enzymatique par la pepsine l'a trypsine chymotrypsine **[32].**

Ainsi l'incorporation de principe actif anticancéreux, puisque la majorité des principes actifs dans le traitement des cancers sont hydrophiles **[33].**

La performance des émulsions double a également été validée pour l'encapsulation et le relargage contrôlé de protéine, d'antibiotique, des vitamines, des enzymes des hormones, ou encore pour le traitement de l'overdose **[29].**

Des émulsions H/E/H et E / H contenant du glucose comme molécule hydrophile modèle ont été comparées dans une étude d'absorption percutanée. Le flux maximal de glucose à travers la peau a été obtenu pour l'émulsion H/E/H, et le plus faible pour l'émulsion E / H **[34].**

Les émulsions multiples sont développées aussi pour encapsuler de l'hémoglobuline dans la phase aqueuse interne, dans le mais de fournir de l'oxygène via les vaisseaux sanguins jusqu'à un organe désiré. Une fois formés, l'émulsion multiple est conservée à une température entre 4 et 8 ° C **[35],** et aussi pour produire des vaccins notamment contre le tétanos, l'hépatite B, la malaria, l'influenza et le pneumocoque **[36].**

- **Domaine cosmétique**

Dans l'industrie cosmétique l'utilisation de ces systèmes est relativement récente et particulièrement innovante en raison des exigences des consommateurs sur la texture des émulsions. Les innovations dans ce domaine sont nombreuses. Parmi les produits les plus connus, la fameuse crème "Optimale Nivea® Visage" de la société Beiersdorf est lancée en 1995 **[36].**

Une des applications très répandues des émulsions de type H / E / H en cosmétique concerne les crèmes de protection solaire. En effet, une phase continue huileuse résiste mieux à une exposition à l'eau et constitue une protection efficace face aux rayons UV. L'avantage, par rapport à une émulsion simple E / H, est la diminution de la quantité d'agent épaississant nécessaire à la stabilisation de l'émulsion **[30].**

- **Domaine alimentaire**

Les émulsions multiples ont un potentiel élevé pour des applications dans le domaine alimentaire pour encapsuler ou conférer une protection à divers composés sensibles et / ou qui prévoit une activité de sauvegarde biologique contre l'oxydation, le pour contrôler l'arôme et pour masquer les flaveurs désagréables de composés certains bioactifs, pour améliorer la brillance de cires et d'encaustiques ou pour produire des aliments ayant un contenu réduit en huile ou en lipides. Dans alimentaire, une grande partie des applications concerne l'établissement de produits à faible teneur en matière grasse tels que les mayonnaises, margarines, ou beurres allégés. En effet, ces produits conservent les mêmes textures que des produits plus riches en huiles. Cependant, les coûts de fabrication sont moins élevés qu'une partie de l'huile est remplacée par l'eau **[37].**

I.3.3 Emulsions cristallisables

Les émulsions cristallisables sont des émulsions dans lesquelles la phase dispersée a la particularité d'être cristallisable, c'est-à-dire dont la température de fusion est supérieure à la température ambiante **[38]**

La cristallisation partielle ou totale dans les gouttes d'une émulsion leurs confère des propriétés très variables en fonction de la température. La cristallisation modifie la surface des gouttes (apparition de rugosité) et entraîne des instabilités spécifiques et/ou des modifications rhéologiques parfois spectaculaires comme le passage d'un état fluide à un état solide. En plus, cet état solide de l'huile réduit la diffusion moléculaire et permet d'envisager la prolongation de la libération du principe actif dans le milieu environnant **[39].**

Cependant, la nature lipidique de la matrice est aussi source d'instabilités. Le polymorphisme cristallin est notamment directement corrélé à la stabilité colloïdale de ces systèmes et à leur capacité d'encapsulation **[39].**

Le polymorphisme cristallin est l'aptitude d'une molécule donnée à exister à l'état solide, suivant une même structure primaire (enchaînement atomique), sous différentes formes cristallines présentant les mêmes caractéristiques physico-chimiques en solution, à l'état fondu **[38].**

I.4 Conclusion

Cette étude bibliographique montre que, les émulsions doubles par leur structure compartimentée, sont des systèmes à fort potentiel applicatif en milieu industriel en raison de leur capacité à encapsuler des espèces hydrosolubles avec des taux d'encapsulation. Cependant, comme tous les systèmes émulsionnés, ces émulsions sont des systèmes métastables, En tant que tels, leur stabilité doit être maîtrisée généralement par des agents tensioactifs qu'ils s'adsorbent aux l'interfaces pour réduire la tension inter faciale et augmente la viscosité des mélanges.

II.1. Introduction

Dans une émulsion, la membrane d'huile est le lieu principal des échanges avec le milieu extérieur, sa nature physico-chimique influence les temps de destruction du matériau. De plus, la nature de la membrane va définir les propriétés de surface des colloïdes et donc la stabilité cinétique de l'échantillon. Les émulsions cristallisables dans lesquelles l'huile liquide est remplacée par une autre phase solide présente plusieurs applications telles que la production de beurre ou de margarine **[40].**

Nous présenterons dans ce chapitre les émulsions cristallisables, les différents paramètres contrôlant la formulation ainsi que les processus de destruction du matériau seront présentés.

II.2. Définition de la cristallisation

La cristallisation, par définition, est un changement d'état qui conduit, à partir d'une phase gazeuse ou liquide (solution ou bain fondu), à un solide appelé cristal, de structure régulière et organisée. Les mécanismes sont régis par deux paramètres de base : la concentration et la sursaturation **[41].**

II.3. Modes de cristallisation

Plusieurs approches sont utilisées:

- **Cristallisation à partir d'une phase vapeur,** sublimation suivie par une condensation solide.
- **Cristallisation à partir d'un milieu fondu,** fusion suivie par une solidification.
- **Cristallisation à partir d'une solution :**

1- **Cristallisation par refroidissement,** l'abaissement de la température de la solution provoque la diminution de la solubilité du produit en solution qui induit sa cristallisation.

2- **Cristallisation par évaporation,** l'évaporation du solvant provoque l'augmentation de la concentration du produit en solution qui induit sa cristallisation. C'est cette méthode qui est utilisée dans les marais salants.

3- **Cristallisation par relargage,** l'addition d'un sel ou d'un contre-solvant (qui ne dissout pas ou peu le produit à cristalliser) miscible avec le solvant provoque le relargage du produit en solution ce qui induit sa cristallisation. Idéalement, le contre-solvant solubilise les impuretés **[42].**

II.4. Mécanismes de cristallisation dans les émulsions

Le mécanisme de cristallisation dans les émulsions se révèle cependant bien plus complexe que ne laisse sous-entendre cette vision probabiliste de la cristallisation.

D'autres mécanismes vont effectivement intervenir dans le cas particulier où la matière cristallisable est finement divisée. Ainsi, la nucléation à l'interface entre la matière cristallisable dispersée et la phase continue est souvent favorisée,

Les molécules tensio-actives adsorbées à l'interface vont pouvoir servir de point de nucléation pour la cristallisation. Si la partie hydrophobe du tensio-actif a une structure similaire à celle de l'huile, elle peut augmenter le taux de nucléation **[43,44].**

II.5 Emulsions cristallisables

Les émulsions cristallisables sont des émulsions dans lesquelles la phase dispersée à la particularité d'être cristallisable, c'est-à-dire dont la température de fusion est supérieure à la température ambiante,

II.5.1 Cristallisation de la phase huile

La cristallisation partielle ou totale dans les gouttes d'une émulsion leur confère des propriétés très variables en fonction de la température.

La cristallisation modifie la surface des gouttes (apparition de rugosité) et entraîne des instabilités spécifiques et/ou des modifications rhéologiques parfois spectaculaires comme le passage d'un état fluide à un état solide. En plus, cet état solide de l'huile réduit la diffusion moléculaire et permet d'envisager la prolongation de la libération du principe actif dans le milieu environnant. Cependant, la nature lipidique de la matrice est aussi source d'instabilités.

Dans un premier temps, nous proposons d'étudier les mécanismes qui régissent la cristallisation dans une phase volumique. Puis nous nous intéresserons à la croissance de cristaux dans les gouttes d'émulsion **[44].**

II.5.1.1 Cristallisation en phase volumique

Le premier stade de la cristallisation est la formation d'un nucléus tridimensionnel, c'est-à-dire un groupe de molécules présentant une structure ordonnée, dans la phase liquide. La seconde étape correspond à l'augmentation des faces du cristal. Avant qu'un système ne commence à cristalliser, la présence dans la solution initiale d'un nombre suffisant de corps solides appelés germes ou nucléus est nécessaire. Ces corps agiront alors comme des centres de cristallisation. La nucléation peut se produire spontanément ou peut être induite artificiellement.

- **La nucléation**

Le phénomène de nucléation est typiquement décomposé en deux mécanismes :

Primaire (lorsqu'il n'y a aucun cristal présent dans la solution mère) et secondaire (lorsque des cristaux sont déjà présents dans la solution). La nucléation primaire peut avoir lieu via la voie homogène ou la voie hétérogène. On parle de nucléation homogène lorsque la structuration du cristal repose sur l'accrétion spontanée et aléatoire de molécules.

La nucléation hétérogène implique la présence d'impuretés qui vont promouvoir la formation du nucléus (figure II.1) **[45,46]**

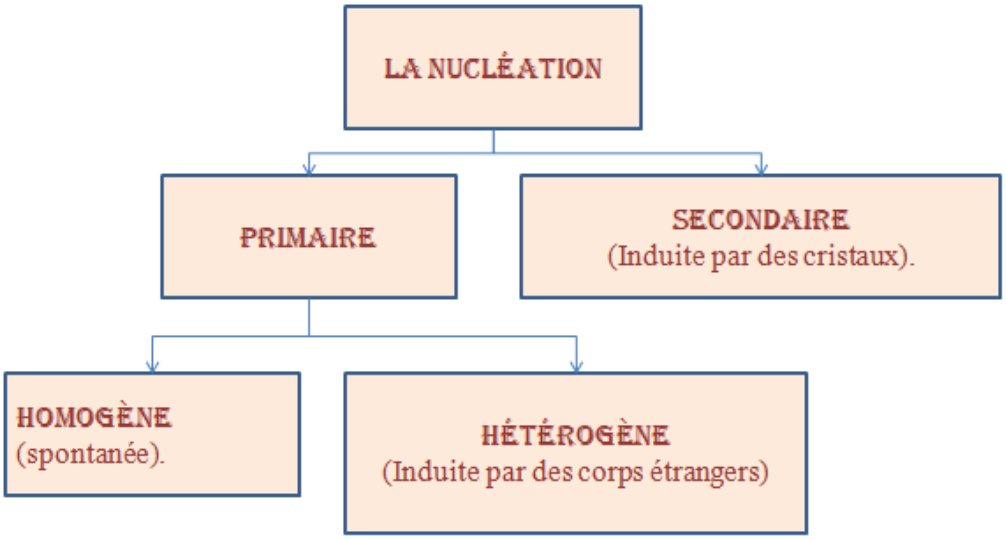


Figure II.1. Les différents mécanismes de nucléation **[44]**

II.5.1.2 Cristallisation en émulsion (à l'échelle colloïdale)

La cristallisation à l'échelle des gouttes de taille colloïdale est un phénomène complexe. Le comportement polymorphique de la matière grasse en émulsion à fait l'objet de moins d'études que pour la matière grasse en phase continue.

La plupart des études s'accordent sur le fait que l'émulsification modifie le comportement des matières grasses au cours de la cristallisation, la dispersion de la phase grasse dans des gouttelettes conduit à une redistribution des impuretés catalytiques ce qui modifie le mécanisme de nucléation du système.

Ainsi, la cristallisation de la matière grasse en émulsion est souvent décrite par un mécanisme de nucléation homogène par opposition au mécanisme de nucléation hétérogène rapporté pour la matière grasse en phase continue **[45].**

Dans une phase macroscopique, les impuretés activent la nucléation de germes et la cristallisation se produit alors rapidement (nucléation hétérogène). En revanche, lorsque le système

est divisé en gouttes d'émulsions, le nombre de gouttes est alors en général supérieur au nombre d'impuretés. De ce fait, une forte proportion de gouttes est identifiée d'impuretés et cristallise, en apparence, selon un mécanisme de nucléation homogène.

Ceci peut expliquer les hauts niveaux de la surfusion observée dans les émulsions. A titre d'exemple, une émulsion de n-hexa décane avec un diamètre de goutte de 0,8µm, ne cristallise totalement qu'après un mois à une température de 3,5°C alors que le point de fusion de cet alcane est de l'ordre de 18,2°C. On observe généralement que la cristallisation est d'autant plus lente que le diamètre des gouttes est faible **[46,47].**

❖ **Spécificité de la cristallisation en émulsion**

La cristallisation d'une émulsion est un processus commun ayant lieu dans la fabrication des émulsions de cires et de nombreuses émulsions de matières grasses pour les applications alimentaires. Le confinement des gouttelettes permet également un contrôle du processus de cristallisation et des propriétés du matériau cristallin.

Deux situations peuvent se présenter, le premier cas est la dispersion d'une phase fondue en solution et la cristallisation revient à solidifier la phase dispersée, le second cas est la dispersion d'une solution contenant un soluté et la cristallisation permet d'obtenir des cristaux dans un milieu confiné.

II.5.2 Tempérage des émulsions

Le tempérage consistait dans un premier temps à amener une émulsion d'une température à laquelle l'huile est totalement liquide à une température plus faible à laquelle tout ou partie de l'huile est cristallisée. Une fois la cristallisation achevée, l'émulsion est réchauffée à une température dite de tempérage pendant un temps donné, puis refroidie de nouveau (figure II.2).

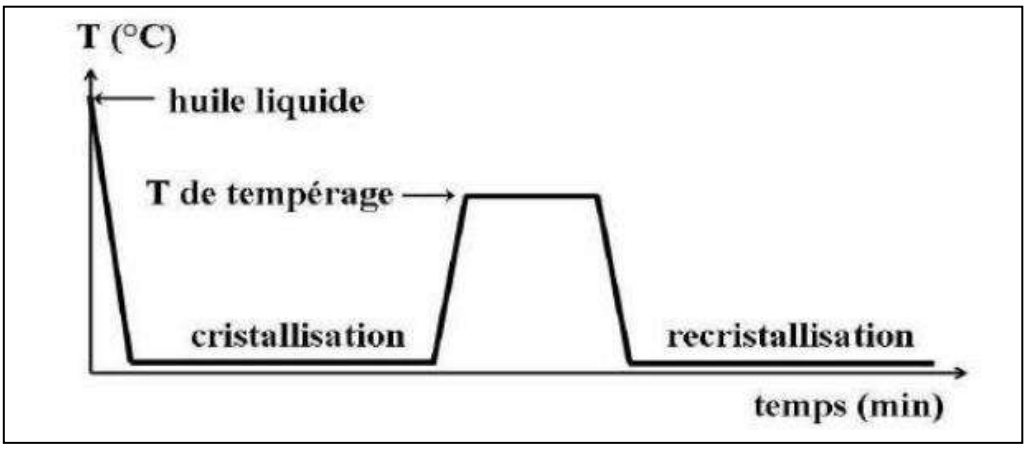


Figure II.2. Principe de tempérage **[44].**

Il a été observé que l'application de ce traitement thermique pouvait entraîner des changements dans la texture de l'émulsion **[48].** Une étude récente, portant sur des émulsions à base de mélanges de triglycérides ou de paraffine, a clairement démontré que l'évolution de la texture (épaississement de l'émulsion) était provoquée par le phénomène de coalescence partielle **[49].**

II.6 Mécanismes de destruction

La destruction des émulsions est généralement attribuée à plusieurs mécanismes distincts, il existe un mécanisme particulier, la coalescence partielle qui peut intervenir dans le cas où les gouttes d'émulsion sont cristallisées.

II.6.1 Coalescence partielle

La coalescence partielle est un phénomène qui a lieu lorsque la phase dispersée contient du matériel cristallisé. En présence de cristaux, les surfaces des gouttes peuvent présenter des irrégularités ou des pointes : lorsque l'extrémité d'un cristal protubérant approche la surface d'une autre goutte, l'intégralité de la pression de contact est concentrée sur une petite zone (La « pointe » du cristal). Cette pression est souvent alors suffisante pour percer l'interface. On parle de coalescence partielle car le taux de cristaux présents dans la phase dispersée est généralement admis pour empêcher la relaxation de forme et préserver la forme initiale des (figure II,3).

De nombreux auteurs ont étudié ce phénomène et ses conséquences sur l'évolution des émulsions. La majorité de ces études ont été menées dans le domaine de l'industrie. En effet, les émulsions laitières ont une phase dispersée partiellement cristallisée aux températures de conservation usuelles (4°C).

De plus, la coalescence partielle est le phénomène à l'origine de la formation de la structure de la crème Chantilly et des autres produits foisonnés à base d'émulsions cristallisables comme les crèmes glacées **[50,51].**

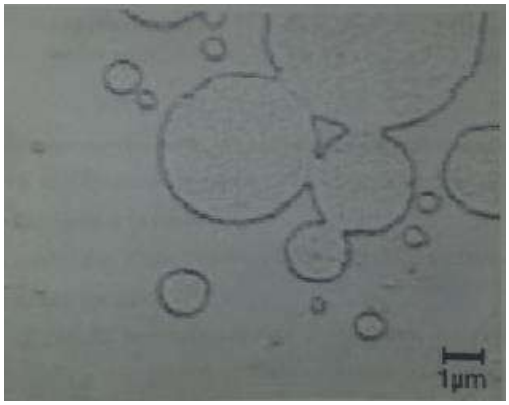


Figure .II.3 Gouttes partiellement coalescées observées par microscopie optique **[52].**

Le phénomène de coalescence partielle est souvent décrit comme un mécanisme à trois étapes :

1. Le rapprochement entre deux gouttes favorisé par l'agitation thermique ou par l'application d'un cisaillement.

2. Le perçage de l'interface Les cristaux pour cent le film qui sépare deux gouttes. Il est nécessaire que la distance entre les gouttes soit assez petite pour permettre cette perforation.

3. Le mélange de l'huile qui correspond à une fuite de l'huile liquide résiduelle qui mouille ainsi le cristal. Ce mouillage permet un élargissement du lien qui vient de se former entre les gouttes.

Dès qu'un cristal atteint la phase huile d'une autre goutte, la coalescence partielle est inévitable car le cristal est préférentiellement mouillé par l'huile plutôt que par l'eau.

Cependant, malgré ce flux d'huile, la résistance mécanique du réseau cristallin de la goutte limite le mélange de l'huile et garantit le maintien de la forme des gouttes **[53].**

La coalescence partielle est donc un phénomène irréversible mais qui ne conduira au déphasage que si la matière cristallisée est majoritairement fondue ; alors seulement, les gouttes partiellement coalescées relaxent leur forme pour constituer une goutte plus volumineuse **[54].**

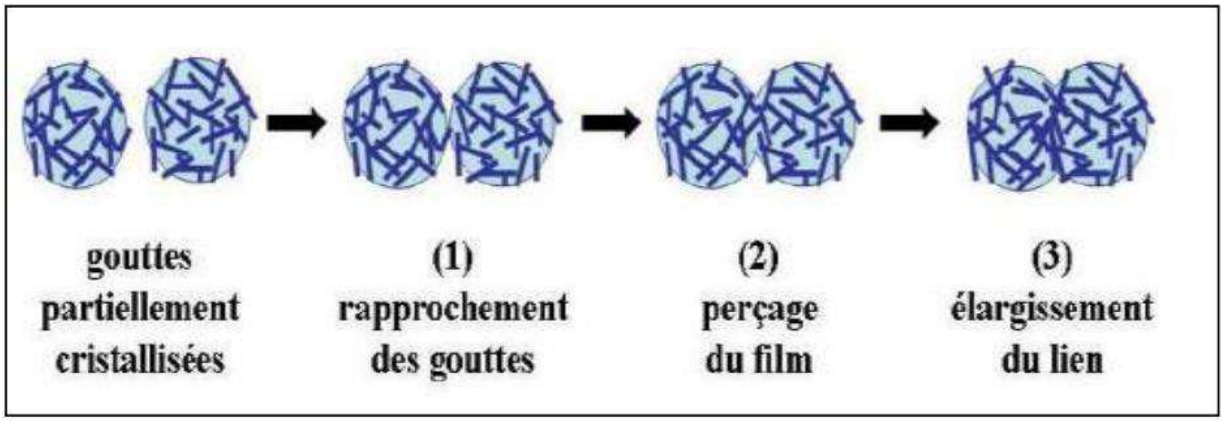


Figure .II.4 Etapes du processus de coalescence partielle **[44].**

II.6.2. Facteurs influençant à la coalescence

1-La concentration surfacique, d'une manière générale, moins la surface est couverte par les protéines, plus la coalescence est rapide **[54].**

2- L'épaisseur de la couche protéique adsorbée à l'interface, les protéines formant des couches épaisses à la surface des gouttes sont plus efficaces pour prévenir la coalescence partielle **[54,55].** Ainsi, les émulsions stabilisées par des caséines sont moins susceptibles à la coalescence partielle que celles stabilisées par des protéines du lactosérum.

II.7 Structure cristalline en émulsions

La structure des cristaux dans les émulsions est particulièrement importante, car on pense que cela affecte la stabilité de gouttelettes semi-cristallines à la coalescence partielle. Ollivon et al ont développé un nouvel instrument combinant la diffraction des rayons X et analysent la sensibilité thermique sur un seul échantillon.

Cette technique a été particulièrement importante dans l'étude de la cristallisation de graisses émulsionnées et révèle des changements subtils dans une forme polymorphe à mesure que la transition de phase se déroule.

Les données de diffraction des rayons X révèlent que si les structures vues dans la graisse émulsifiée sont similaires à la masse grasse, les cristaux rapidement refroidis sont plus désordonnés dans l'émulsion, vraisemblablement en raison des contraintes physiques de la gouttelette. L'effet des gouttelettes était très important vu dans les formes cristallines moins stables.

L'idée que plus les cristaux rigides sont moins déformés par la présence d'une surface peut être pertinente pour comprendre quel cristal les formes peuvent pénétrer dans la couche interfaciale et provoquer une coalescence partielle. Les cristaux plus rigides sont Plus capables de surmonter la flexion imposée à la surface par la pression de Laplace. Ce serait intéressant Pour examiner l'effet de la taille des particules sur le trouble cristallin **[55,56].**

Les mêmes chercheurs ont noté plus de différences entre les graisses en vrac et émulsionnées ont été refroidies lentement (-0,15 °C/ min) **[57].**

II.8 Emulsions doubles cristallisables

Plus récemment, le comportement sous écoulement d'une émulsion à base d'huile cristallisable, composé d'un mélange de cires dont les points de fusion varient de -20°C à +30°C ont été étudiés.

L'émulsion est de type eau/huile/eau, c'est-à-dire que les gouttes d'huile dispersées elles-mêmes des petites gouttes de phase aqueuse. Ce type d'émulsion trouve des applications dans le domaine pharmaceutique, en particulier pour l'encapsulation de principes actifs contenus dans les petites gouttes d'eau internes.

La viscosité de l'émulsion soumise à une vitesse de déformation constante augmente de façon drastique après une période d'induction. A la température de l'expérience, la phase huile est partiellement cristallisée. Les auteurs ont montré que cette augmentation de viscosité était due à la formation d'amas de gouttes connectées par coalescence partielle. Ces amas croissent à travers l'échantillon et confèrent aux matériaux les propriétés viscoélastiques caractéristiques d'un gel **[58].**

I1.9 Huiles cristallisables

La phase lipophile, également appelée phase grasse, phase huileuse ou phase organique, est généralement constituée d'un mélange d'ingrédients d'origines variées, Elle peut être composée d'huiles, de graisses et/ou de cires qui, à température ambiante, se trouvent respectivement sous forme liquide, semi-solide et solide. Des substances synthétiques peuvent aussi être utilisées (tableau) **[59]**

Tableau Exemples d'ingrédients de la phase huileuse **[59].**

Origine	Cires	Graisses	Huiles
Animal	-Cire d'abeille	Lanoline	Huile de baleine, de foi de requin
Végétale	-Cire de carnauba	Beurre de cacao Beurre de karité	Huile d'arachide, d'olive, d'amande, de soja……
Minérale	-Paraffine	Vaseline	Vaseline. Paraffine
Synthétique	-Esters gras	Esters gras	Esters et alcools gras. Huile de silicone

II.10 Conclusion

La cristallisation conduit à la formation de cristaux de petites tailles conduisant à la formation d'aspérités à la surface des gouttes. La connaissance du comportement des produits alimentaires contenant de la matière grasse cristallisée émulsionnée (margarine, beurre, crème chantilly, crèmes glacées...) est fondamentale pour la maîtrise des propriétés texturales et organoleptiques des produits finis. En particulier, dans les produits foisonnés (crèmes glacées, crème chantilly) dans lequel la matière grasse se trouve dans un état cristallisé, la coalescence partielle est un élément déterminant de la stabilisation de la phase dispersante **[60].**

Partie Experimentale

III.1 Introduction

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

Le travail présent a été réalisé au niveau du hall technologique de l'université de Médéa au sein du laboratoire de chimie I, ainsi qu'au niveau du laboratoire contrôle qualité et du laboratoire d'analyse microbiologique de la filiale ANTIBIOTICAL- Saidal de Médéa.

Le but de ce travail consiste à formuler et de caractériser des émulsions doubles cristallisables eau/huile/eau ($E_1/H/E_2$) à base d'un mélange de deux biopolymères à savoir L'Osa starch (OSA) et la gomme de xanthane (GX). Les émulsions ont été préparées par le procédé par étape. Pour étudier les propriétés de libération, le principe actif modèle utilisé dans ce travail, est le chlorotétracycline).

Enfin, cinq parties seront envisagées:

1. La formulation et la caractérisation physico-chimique des émulsions simples de type E/H.
2. La formulation des émulsions multiples à base de deux polysaccharide (OSA, GX).
3. L'étude de la stabilité des émulsions multiples en fonction du temps.
4. L'encapsulation et l'étude du profil de libération du chlorotétracycline (CTC).
5. L'effet d'inhibition de chlorotétracycline sur des différentes bactéries.

Dans ce chapitre, nous présenterons tout d'abord les produits utilisés pour préparer les émulsions. Puis, nous décrirons le protocole d'émulsification employé dans la préparation des émulsions.

Enfin, nous détaillerons les méthodes physicochimique, rhéologique et microscopique utilisée pour la caractérisation des émulsions après leur préparation.

III.2 Produits utilisés

III.2.1 Phase aqueuse

La phase aqueuse utilisée pour la préparation des différentes formulations est l'eau distillée. C'est une eau préparée par distillation à partir de l'eau potable.

III.2.2 Phase huileuse

Deux huiles ont été utilisées sans purification additionnelle, l'une est dans l'état solide (beurre de cacao) et l'autre dans l'état liquide (huile d'olive) ont été utilisées comme phase huileuse dans la préparation des émulsions double eau dans huile dans eau. Ces huiles ont été choisie parce qu'elles sont généralement utilisées dans des applications cosmétiques et pharmaceutiques.

a) Beurre de cacao : Le beurre de cacao est une huile extraite des fèves de cacao de couleur jaune ivoire au brun. Il est composé essentiellement de cinq acides gras (acide stéarique, acide oléique, acide palmitique, acide linoléique, Autres acides gras saturés) combinés en sept triglycérides. Le beurre de cacao fond entre 34°C et 35°C. La composition du beurre de cacao varie selon son origine géographique. C'est l'une des graisses les plus stables connues, contenant les antioxydants naturels qui empêchent le rancissement et lui donnent une vie de stockage de deux à cinq ans **[17].**

Il est utilisé dans la fabrication de nombreux produits parapharmaceutiques ou cosmétiques, tels que les huiles solaires ou les baumes à lèvres. Le beurre de cacao utilisé dans notre étude est fourni par Sarl Bimo (Algérie).

b) Huile d'olive : Est la matière grasse extraite des olives, de couleur jaune obtenu du marché algérien.

III.2.3 Tensioactif lipophile

Le tensioactif utilisé pour la formulation des émulsions primaires est le Span 60 est un tensioactif lipophile non-ionique utilisé afin de stabiliser les gouttes dispersées.

- **Aspect :** Se présente sous forme de perles ou flocons clairs, de couleur crème à ocre, jaune de paille avec l'odeur de la graisse, ou solide dur, cireux ayant une légère odeur caractéristique.



Figure III.1 : Aspect de Span 60 sous forme de poudre.

Le tableau III.1 présente les caractéristiques les plus importantes de Span 60.

Tableau III.1 principales caractéristiques du Span 60 **[5]**

Nom chimique	Sorbitan mono stéarate.
Nom commercial	Span 60.
Formule moléculaire	$C_{24}H_{46}O_6$.
Poids moléculaire	428.5.
HLB	4.7.
solubilité	soluble dans l'eau.
température de fusion	54-57 C.

III.2.4 Polysaccarides

a) Osa Starch (OSA)

C'est un amidon traité avec de l'acide octénylsuccinique anhydre, sous forme d'une poudre blanche inodore, utilisé en tant que stabilisant, épaississant, liant, émulsifiant.



Figure III.2 Aspect de l'OSA sous forme de poudre.

Les principales caractéristiques du l'OSA sont présenté sur le tableau III.2

Tableau III.2 principales caractéristiques du l'OSA. **[8]**

Nom chimique	acide octénylsuccinique
Nom commercial	OSA STARCH.
Formule moléculaire	$C_{12}H_{20}O_4$.
Aspect	Poudre fine, de couleur blanche.
La mass molaire	228,2848 ± 0,0122 g/mol.
T ° de fusion	200 °C.
solubilité	soluble dans l'eau.

b) Gomme xanthane

La GX est un polysaccharide bactérien utilisé dans plusieurs sphères de fabrication industrielle. La GX 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 **[15].** Elle se présente sous forme de poudre de couleur crème. Elle est utilisée comme additif alimentaire sous le code E415, elle est stable en milieu acide, elle à un fort pouvoir épaississant et suspensif, permet l'obtention de solution à haute viscosité. Les principales caractéristiques du GX sont représentées dans le tableau III.3.

Tableau III.3 .Principales caractéristiques du GX.

Synonymes	gomme de maïs
Apparence	poudre blanchâtre inodore et insipide.
Formule brute	$C_{35}H_{49}O_{29}$
Masse molaire	933.746 g/mol
Solubilité	soluble dans l'eau et insoluble dans l'éthanol.



Figure III.3 Aspect de GX sous forme de poudre.

III.2.5 Substance encapsulée

La chlorotétracycline est un antibiotique bactériostatique de la famille des tétracyclines. Son activité antibactérienne s'exerce par inhibition de la synthèse protéique. Les concentrations critiques séparent les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et ces dernières, des résistantes : S ≤ 4 mg/l et R > 8 mg/l.

Espèces sensibles :

- aérobies à Gram + : bacillus, entérocoques, staphylococcus méti-S, staphylococcus méti-R, streptococcus A, streptococcus B, Streptococcus pneumoniae.

- aérobies à Gram - : Branhamella catarrhalis, brucella, Escherichia coli, Haemophilus influenzae, klebsiella, Neisseria gonorrhoeae, pasteurella, Vibrio cholerae.
- anaérobies : Propionibacterium acnes.
- autres : Borrelia burgdorferi, chlamydia, Coxiella burnetii, leptospira, Mycoplasma pneumoniae, rickettsia, Treponema pallidum, Ureaplasma urealyticum.

Espèces résistantes :

- aérobies à Gram - : acinetobacter, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, pseudomonas, serratia.

Cas d'usage :

- Par voie ophtalmique, la chlortétracycline est utilisée dans la prise en charge de : blépharites, conjonctivites, kératites, orgelets, trachomes, ulcères cornéens.
- Par voie cutanée, la chlortétracycline est utilisée dans la prise en charge de : gîtes staphylococciques, impétiginisations de dermatose, impétigos, infections cutanées staphylococciques et streptococciques **[50].**

Tableau III.4 Principales caractéristiques du chlortétracycline **[9]**

Formule	$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$
Numéro CAS	57-62-5
Masse molaire	478,88 g/mol
Biodisponibilité	30%
Recherches associées	Érythromycine, Oxytétracycline



Figure III.4 Aspect de chlortetracycline en poudre.

III.2.6 Régulateur de pression osmotique

Le glucose est un sucre de formule brute $C_6H_{12}O_6$.Toutes les formes de glucose sont incolores et très solubles dans l'eau H_2O, l'acide acétique CH_3COOH et divers autres solvants.

Elles sont en revanche faiblement solubles dans le méthanol CH_3OH et l'éthanol CH_3CH_2OH ; il est utilisé dans les émulsions multiples pour ajuster la pression osmotique entre la phase aqueuse interne et la phase aqueuse externe.

III.3 Matériels utilisés

III.3.1 Homogénéisation

L'homogénéiseur (Ultra-turax) de type IKA est utilisé. Cet appareil est constitué d'un stator et d'un rotor entraîné par un moteur. Le rotor et le stator sont deux cylindres concentriques, respectivement de 18mm et 25mm de diamètre interne, L'extrémité de ces deux pièces est garnie de dentelures de forme carrée permettant la circulation du fluide (figure III.5 et 6). Par la haute vitesse du rotor, l'émulsion est aspirée automatiquement dans le sens axial. L'appareil est équipé d'un moteur permettant le mouvement du rotor à différents régimes : de 3500 à 24000 rotations par minute.

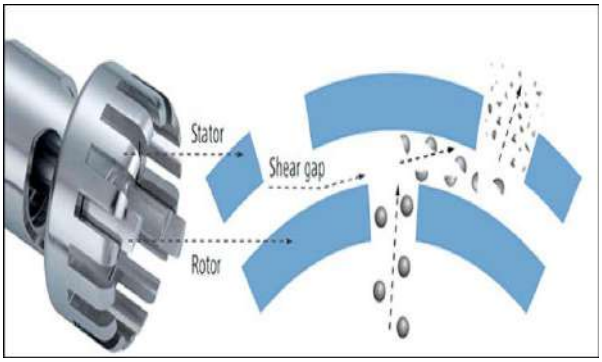




Figure III.5 Axe de l'Ultra-Turrax constitué du rotor et du stator. **Figure III.6** Ultra- TurraxT25

III.3.2 Outils de caractérisation des émulsions

- **Aspect microscopique**

La microscopie optique Optika B-157 (figure III.7) Binoculaire microscope est une technique pertinente pour l'étude des systèmes colloïdaux dont la taille est supérieure à 200 nm. Dans le cas des émulsions doubles, cette technique permet d'évaluer de manière qualitative la morphologie des globules gras et des gouttelettes d'eau internes, d'identifier certaines instabilités comme la

coalescence ou l'inversion de phase. L'appareil utilisé est un Olympus qui permet un agrandissement jusqu'à 100 fois.



Figure III.7 Optika B-157 Binocular microscope.

- **Conductivité**

La conductivité de chacune des phases d'une émulsion est très différente, surtout si la phase aqueuse contient des électrolytes. La conductivité d'une phase aqueuse contenant du sel est de 100 à 1000 fois supérieure à la conductivité d'une phase huileuse. Ainsi la sonde mesurant la conductivité de la phase externe permet de déterminer le type direct (H/E) ou inverse d'une émulsion.

La conductivité était mesurée directement dans l'émulsion en utilisant un conductimètre du type LF 191 de la compagnie allemande WTW.

- **pH**

Le pH mètre utilisé est un appareil muni d'une entrée à haute impédance pour les applications potentiométriques (mesure du pH, de la tension U). Il est de type search quality series HI 5000.

- **Viscosité**

Pour l'analyse viscosimétriques, on a utilisé un viscosimètre de type Visco-Tester à mobile tournant qui permet de mesurer la viscosité des liquides newtoniens et non newtoniens. Il est constitué d'un cylindre de rotation entrainé par un moteur à vitesse commutable (Figure III.8). Cet appareil est équipé de 4 mobiles de formes et de géométries différentes, où chaque mobile doit être utilisé dans une plage bien définie de viscosité et de vitesse de rotation qui varie entre 6et 60 RPM. Par ailleurs, il faut souligner que le viscosimètre donne les vitesses de rotation en tour/minute (RPM).



Figure III.8 Viscosimètre de type Visco-Tester.

III.3.3 Outils d'étude de stabilité

La stabilité d'une émulsion est le résultat de la stabilité physique, de la stabilité chimique, et de la stabilité biologique. La stabilité physique peut être évaluée par deux méthodes accélérées. La première méthode consiste à évaluer la stabilité des échantillons stockés à différentes températures (de 25 et 40°C) en fonction du temps (de 24h à 40 jours). La deuxième méthode accélère par centrifugation le processus de la sédimentation ou du crémage qui peut causer la coalescence.

- **Centrifugation**

La centrifugeuse utilisée est de type Hettid Zentrifugen EBA 20, c'est un appareil qui fonctionne avec des vitesses comprises entre 1000 à 6000 tr/min dans un intervalle de temps choisi selon l'utilisation. Ce test est réalisé directement après formulation.



Figure III.9 : Centrifugeuse utilisée est de type Hettid Zentrifugen EBA 20.

- **Indice de crémage**

Etuve de séchage

C'est une étuve bactériologique de marque INB/INE/INP/IFP/IFE de type 700 de stabilité à 37℃ ±0,1 ℃ a été utilisée, elle est caractérisée par un domaine de température de 30° à 70°C, tout est en inox pour la décontamination bactérienne optimale avec une porte interne vitrée. Nous l'utilisons cette étuve pour mesurer l'indice de crémage.

III.3.4 Outils d'étude de la cinétique de libération de CTC

Le dosage du principe actif a été effectué par une spectroscopie UV-VIS qui est basée sur la capacité des molécules d'absorber une radiation électromagnétique. En pratique, la spectroscopie UV-visible est largement utilisée pour diverses applications dont la détermination des concentrations par utilisation d'une courbe d'étalonnage est la plus connue.

III.4 Méthodes

III.4.1 Préparation des solutions

A. Solution de chlorotétracycline

La dissolution de chlorotétracycline a été réalisée en introduisant 25mg de la poudre après pesée dans un bécher de 25 ml et on ajoute des gouttes d'éthanol pour faciliter la dissolution, puis on continue avec de l'eau distillée jusqu'à la trait de jauge, sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique et à T de 25°C pendant une heure pour la dissolution complète **[51].**

B. Solution de la GX

Dans un bécher de 50 ml on met la quantité de GX après pesée et on complète avec de l'eau distillée jusqu'aux deux tiers de la quantité de la phase externe sous l'agitation à l'aide d'un agitateur magnétique et à T de 40 ℃ pendant 3 minutes, à l'aide d'un homogénéiseur on va le homogénéiser la solution pour faciliter leur hydratation et empêcher la formation des agrégats dans les solutions. Les solutions des polysaccharides ont été refroidi sous agitation continue à température ambiante pendant 24 h pour compléter leur hydratation.

C. Solution de l'OSA

Dans un bécher de 50 ml on met la quantité de OSA après pesée et on complète avec de l'eau distillée jusqu'au tiers de la quantité de la phase externe avec agitation magnétique, à l'aide d'un homogénéiseur on va le homogénéiser jusqu'à la dissolution complète.

Les solutions de OSA ont été conservées pendant 24 h à la température ambiante pour compléter leur hydratation.

D. Préparation des mélanges d'OSA-GX

Les solutions des biopolymères OSA-GX ont été mélangées à pH naturelle pendant 1 h à l'aide d'un agitateur magnétique. Les solutions préparées d'OSA-GX ont été stockées à 4°C jusqu'à l'utilisation.

III.4.2 Préparation des émulsions

La préparation d'émulsions $E_1/H/E_2$, des émulsions doubles ont été préparées par le procédé d'émulsification en deux étapes. Cette méthode consiste tout d'abord à réaliser une simple émulsion E_1/H à base de tensioactif lipophile lui-même encapsulé dans une phase aqueuse externe E_2 contenant le mélange OSA-GX. Notons que la concentration de la phase aqueuse (30%) a été prise de la référence

III.4.2.1 Préparation de l'émulsion primaire E_1/H (EP)

a) **Phase huileuse :** Dans un verre de montre nous pesons la quantité de beurre de cacao, Il en est de même pour la quantité de span60. Dans un Bicher de 50 ml, nous pesons la quantité l'huile d'olive. Le tout est chauffé jusqu'à 60 ° C.

b) **Phase aqueuse :** dans un Bicher de 50ml nous chauffant à la même température que la phase organique une masse d'eau distillée.

c) **Emulsification :** Nous mettons le bicher qui contient la phase huileuse dans l'agitateur magnétique à une vitesse de 300tr/min puis on mettre progressivement la phase aqueuse à une vitesse et une durée optimiser.

d) **Homogénéisation :** L'émulsion obtenue est homogénéisé à l'aide d'un homogénéiseur pendant 5 minutes à 5000 rpm afin de réduire la taille des gouttelettes.

e) **Refroidissement: la cristallisation par tempérage :**

Le tempérage consiste dans un premier temps à amener une émulsion d'une température à laquelle l'huile est totalement liquide (40°C) à une température plus faible (4°C) à laquelle tout ou une partie de l'huile est cristallisée. Une fois la cristallisation achevée (après 5 min à 4°C), l'émulsion est réchauffée à une température ambiante dite de tempérage pendant 15 minutes, puis refroidie de nouveau **[38,18].**

Dans notre étude le tempérage a été réalisé à l'aide d'un bain de glace.

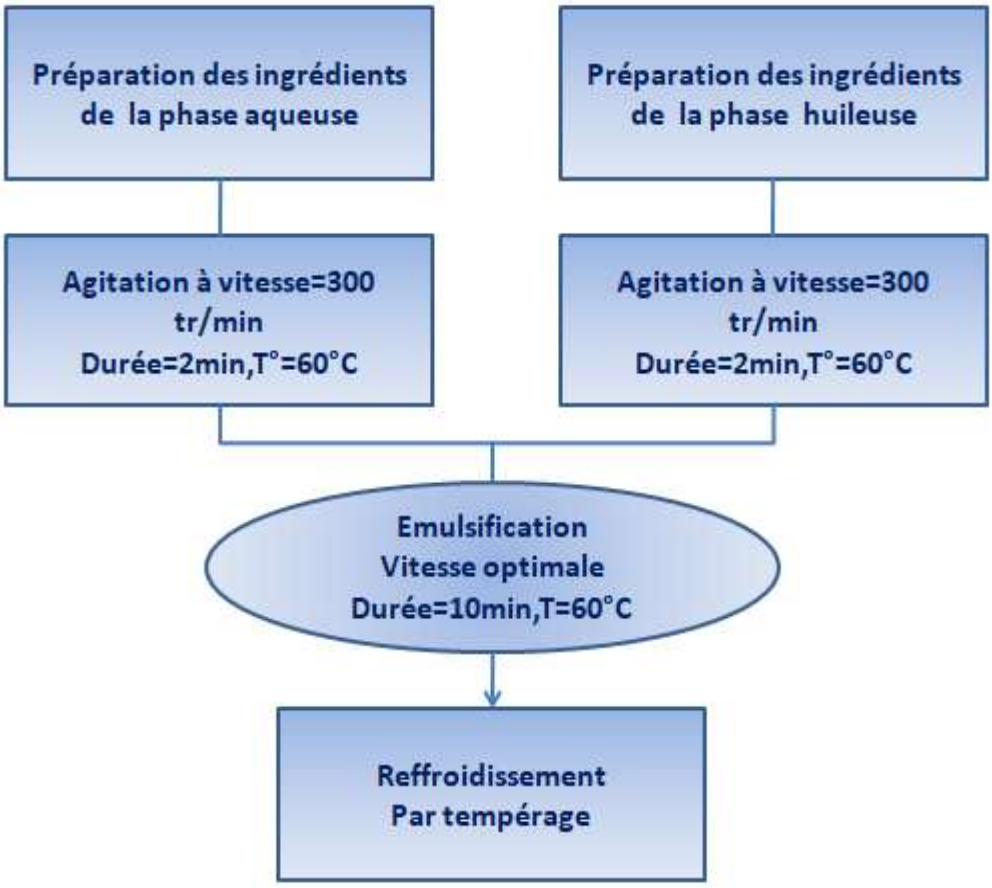


Figure III.10 : Le diagramme de préparation **[3].**

f) Compositions des émulsions formulées

- **Effet de la proportion en beurre de cacao et de l'huile d'olive**

La composition des différentes émulsions simples E_1/H formulées avec les différentes proportions en beurre de cacao est donnée sur le tableau III.5.

Tableau III.5: Composition massique des émulsions primaires à différent concentration de beurre de cacao

Nombre d'essais	EP1	EP2	EP3
beurre de cacao	35%	28%	21%
Huile d'olive	35%	42%	49%
Phase aqueuse	30%	30%	30%

- **Effet de la proportion de la phase aqueuse**

La composition des différentes émulsions simples E_1/H formulées avec les différentes proportions en phase aqueuse est donnée sur le tableau III.6.

Tableau III.6: Composition massique des émulsions primaires à différent concentration de la phase aqueuse

Nomdre d'essais	EP4	EP5	EP6	EP7	EP8
Beurre de cacao	36	32%	28%	24%	20%
Huile d'olive	54%	48%	42%	36%	30%
Phase aqueuse	10%	20%	30%	40%	50%

- **Effet de la concentration du Span 60**

La composition des différentes émulsions simples E/H formulées avec les différentes proportions en Span 60 est donnée sur le tableau III.7.

Tableau III.7 Composition massique des émulsions primaires à différent concentration de Span 60

Nomdre d'essais	EP09	EP10	EP11	EP12
Beurre de cacao	23.6%	23.4%	23.2%	24%
Huile d'olive	35.4%	35.1%	34.8%	34.5%
Span 60	1%	1.5%	2%	1.5%
Phase aqueuse	40%	40%	40%	
Solution de CTC				40%

III.4.2.2 Préparation des émulsions multiples $E_1/H/E_2$

L'émulsification secondaire à été obtenue par homogénéisation avec l'ajout progressif d'émulsion primaire, en utilisant le même homogénéiseur à une vitesse de 2500 rpm pendant 10 minutes à 25°C. La formulation EP10 de proportions 23.4% en beurre de cacao ,35.1% en huile d'olive et 1.5% de Span 60 avec 40% de phase aqueuse a été choisie pour la préparation de l'émulsion multiple.

La composition des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparés à base des deux polysaccharides est regroupée sur les tableaux III.8 et III.9 pour EP = 20% et 35% respectivement.

Tableau III.8: Composition massique des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées à différents rapport OSA/GX et EP 20%.

Nombre d'essais	Em1	Em2	Em3	Em4	Em5	Em6	Em7	Em8
EP	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%	20%
OSA	0.5%	0.25%	0.1%	0.25%	0.5%	0.25%	0.5%	0%
GX	0%	0.1%	0.25%	0.25%	0.25%	0.5%	0.5%	0.5%
Phase aqueuse externe (E2)	79.75%	79.65%	79.65%	79.50%	79.25%	79.25%	79%	79.75%

Tableau III.9: Composition massique des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées à différents rapport OSA/GX et EP 35%.

Le nomdre d'essais	Ex1	Ex2	Ex3	Ex4	Ex5	Ex6
EP	35%	35%	35%	35%	35%	35%
OSA	0.25%	0.1%	0.25%	0.5%	0.25%	0.5%
GX	0.1%	0.25%	0.25%	0.25%	0.5%	0.5%
La phase aqueuse externe (E2)	64.65%	64.65%	64.50%	64.25%	64.25%	64%

III.4.3 Méthodes de caractérisation des émulsions

a. Viscosité

Pour déterminer la viscosité on utilise un viscosimètre Brookfield. On visse la tige (N°3) d'après l'indice de viscosité présumé, on l'immerge dans l'émulsion jusqu'au trait de jauge (sur l'axe) en évitant la formation de bulles d'air, on vérifier que le rotor est bien vertical, on sélectionne la vitesse et on met l'appareil marche, lorsque l'aiguille est stabilisée, on bloque celle-ci pour faire la lecture.

b. Etude microscopique

L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique. Pour une meilleure dispersion de l'émulsion, l'échantillon a été placé entre une lame et lamelle. Après la précision de la photo on prendre les vues microscopiques des formulations.

c. Conductivité

La conductivité était mesurée directement dans l'émulsion en utilisant un conductimètre. Ces mesures permettent de déterminer le sens des émulsions formulées.

d. Etude de stabilité accélérée à des différentes températures de stockage

Pour suivre l'indice de crémage, des échantillons de différentes émulsions préparées préalablement ont été soumises à deux températures de stockage : 25°C et 40°C pendant 40 jours. Chaque 24 heur, nous avons mesuré l'indice de crémage (en %) selon l'équation suivante **[9]:**

$$\mathbf{I(\%) = (V_e / V_t) * 100 \ldots\ldots\ldots\ldots III.1}$$

Avec

I : l'indice de crémage en %.

V_e : le volume de la phase aqueuse externe.

V_t : le volume totale de l'échantillon.

e. pH:

La mesure de pH est effectuée par un pH mètre électronique relié à une électrode en verre. L'électrode est introduite dans l'échantillon à analyser et la lecture se fait directement sur l'enregistreur électronique quand l'affichage est stabilisé.

f. Teste granulométrique

La mesure de la taille des gouttelettes des émulsions formulées est réalisée par logiciel Image G.

g. Teste de centrifugation

Les formulations préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 3000 tr/min, pendant 5 minutes. Ce teste est effectuée par une centrifugeuse de type Hettid Zentrifugen EBA 20.

III.4.4 Encapsulation du CTC

III.4.4.1 Formulation des émulsions multiples avec CTC

Pour encapsuler le CTC, la formulation EP10 de proportions 23.4% en beurre de cacao ,35.1% en huile d'olive et 1.5% de Span 60 avec 40% de phase aqueuse a été choisie pour la préparation de différentes émulsions multiples (EZ1, EZ2, EZ3 et EZ4)

La formulation EP12 a été choisie pour l'encapsulation du CTC. La composition des différents émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées à différents valeurs de rapport OSA/GX avec 35% de EP et 1g/l de chlorotetracycline encapsulée est présentés sur le tableau III.10.

Tableau III.10: Composition des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différents rapport OSA/GX, EP 35% et 1g/l de CTC

Nombre d'essais	EZ1	EZ2	EZ3	EZ4
EP	35%	35%	35%	35%
OSA	0.25%	0.1%	0.25%	0.5%
GX	0.1%	0.25%	0.25%	0.25%
La phase aqueuse externe (E2)	64.65%	64.65%	64.50%	64.25%

III.4.4.2 Contrôle de libération de CTC

- **Détermination de la longueur d'onde optimale**

Un balayage dans le domaine UV-Vis a été effectué afin de déterminer la longueur d'onde optimale λ_{max}, correspondant à l'absorption de la molécule CTC dans le milieu de dissolution. Pour la détermination de λ_{max}, Les solution de CTC sont préparées dans une solution tampon à pH6, à une concentration de 0,1 mg/ml. Les résultats montrent des pic d'absorptions maximums définis à une longueur d'onde λ_{max} = 362nm.

Le contrôle de libération de CTC est basé sur la quantification de leur concentration libérer dans la phase aqueuse externe en fonction du temps.

Pour déterminer cette concentration en utilisent la méthode centrifugation pour séparer la phase aqueuse externe et l'émulsion primaire **[64].**

- **Détermination de la courbe d'étalonnage**

Pour déterminer la courbe d'étalonnage, nous avons préparés des solutions de chlorotetracycline par dilution de la solution mère dont les concentrations obtenues varient entre 10; 50;100; 220 et 220 mg/l. La densité optique (DO) a été mesurée pour chaque concentration à une longueur d'onde λ=362nm.

Enfin nous avons tracé la courbe d'étalonnage représentant l'évolution de la DO en fonction de la concentration (DO= f (C)).

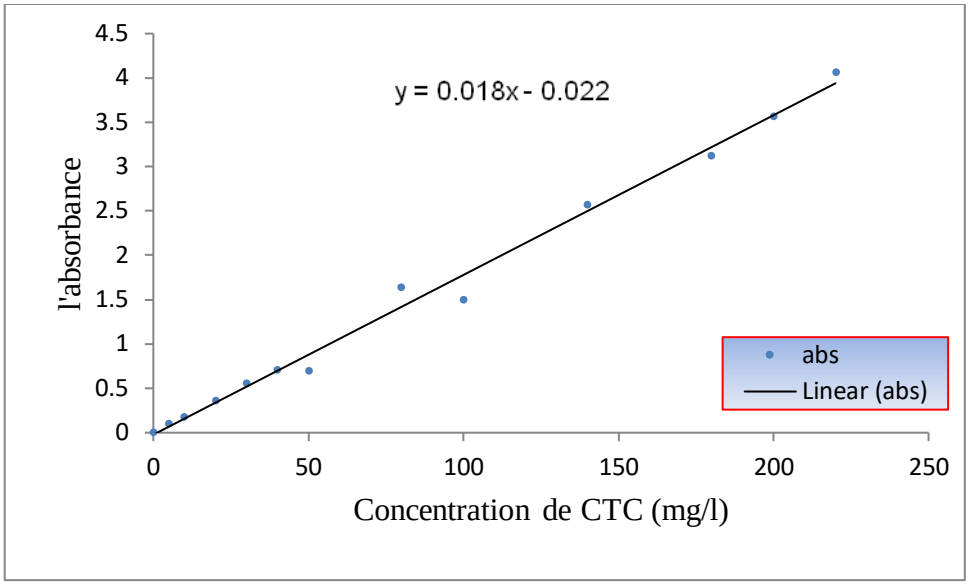


Figure III.11: Courbe d'étalonnage de chlorotetracycline dans (λ_{max} =362 nm).

D'après les résultats obtenus, la méthode de dosage du DS par UV offre une bonne détection présentée par la bonne linéarité.

- **Analyse quantitative de la concentration de CTC**

On prendre une quantité de la phase aqueuse externe prélever avec dilution de 5fois puis on mesurant la densité optique à l'aide de l'appareil spectroscopie U-V, en utilisent la courbe d'étalonnage pour déterminer la concentration de CTC libérer **[64].**

III.4.4.3 Effet d'inhibition du CTC sur les souches bactériennes

Pour vérifier l'activité de CTC encapsulé, un test d'antibiogramme a été réalisé sur trois souches bactériennes : *S.aureus, E.coli , Ps. Aeruginosa. Les étapes sont les suivantes :*

- La réactivation des germes (*S.aureus, E.coli , Ps.aeruginosa) :* Dans des tubes stériles on met l'eau physiologique et en prendre et en prendre avec un lance de platine un petite quantité de germe et en ensemence la bactérie dans les tubes puis on mesure la densité optique à l'aide de spectroscopie U-V tel que DO (0.08-0.1) (concernent la charge).
- L'ensemencement des germes : A l'aide d'un écouvillon on ensemence les germes dans les milieux (soja agar).
- Mettre les échantillons : à l'aide d'un pince on met les disques dans l'échantillon, dans l'eau distillée (comme un témoin) et dans la solution de CTC (comme un référence).Après on met les boites dans l'incubateur à 37°C pendant 24h,
- Après on faire la lecture et la mesure de diamètre des zones d'inhibition.

IV.1 Caractérisation des émulsions primaires

IV.1.1 Etat macroscopique

Une analyse macroscopique basée sur une visualisation à l'œil nue a été réalisée, elle consiste à observer l'aspect des émulsions primaires formulées. Pour l'émulsion ont montrées un aspect homogène, épais, onctueux de couleur jaune brillante, elles ont une consistance élevée variable en fonction de la concentration de beurre de cacao dans la phase huileuse comme le montre la figure IV.1, IV.2 et IV.3, sauf pour les formulations EP7 et EP8 préparées avec le rapport (E_1/H: 40/60;50/50) qui ont présenté une séparation de phase directement après préparation

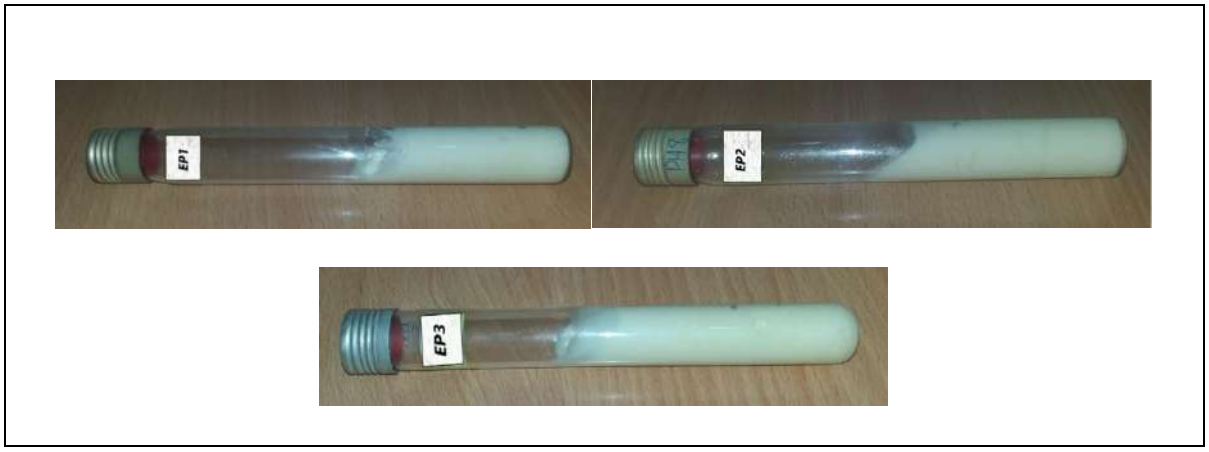


Figure IV.1 Aspect macroscopique des émulsions primaires directement après préparation (effet du rapport beurre de cacao /huiles d'olive : 50/50,40/60 et 30/70 et 30% d'eau [65])

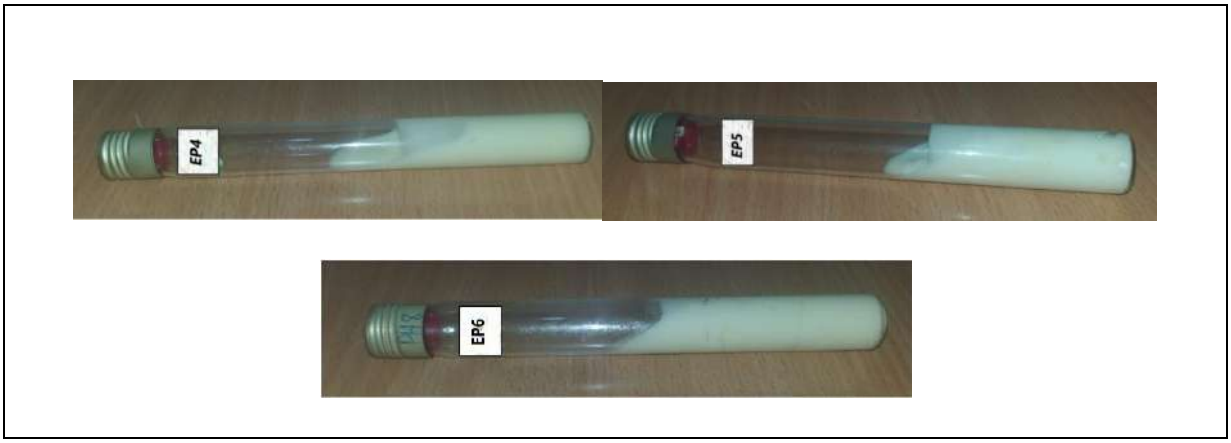


Figure IV.2 Aspect macroscopique des émulsions primaires directement après préparation (effet du rapport E_1/H: 10/90, 20/80 et 30/70)

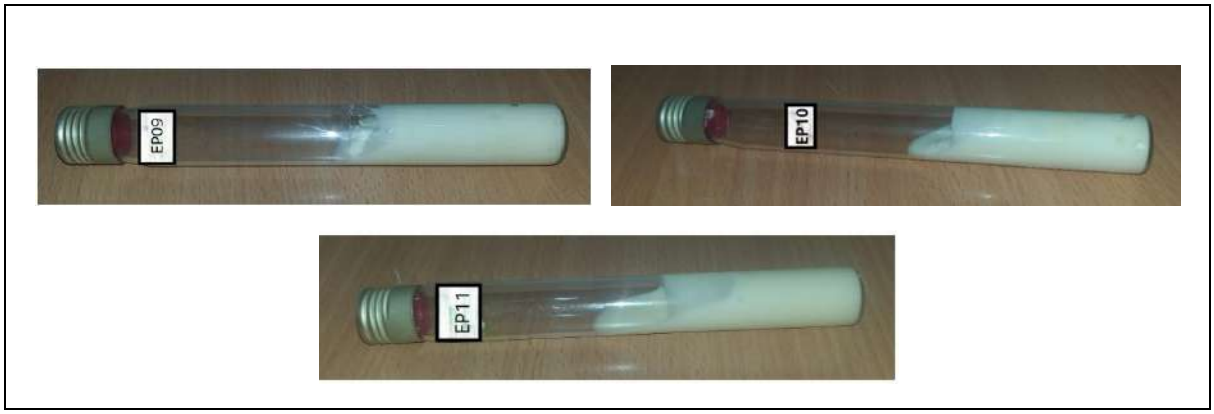
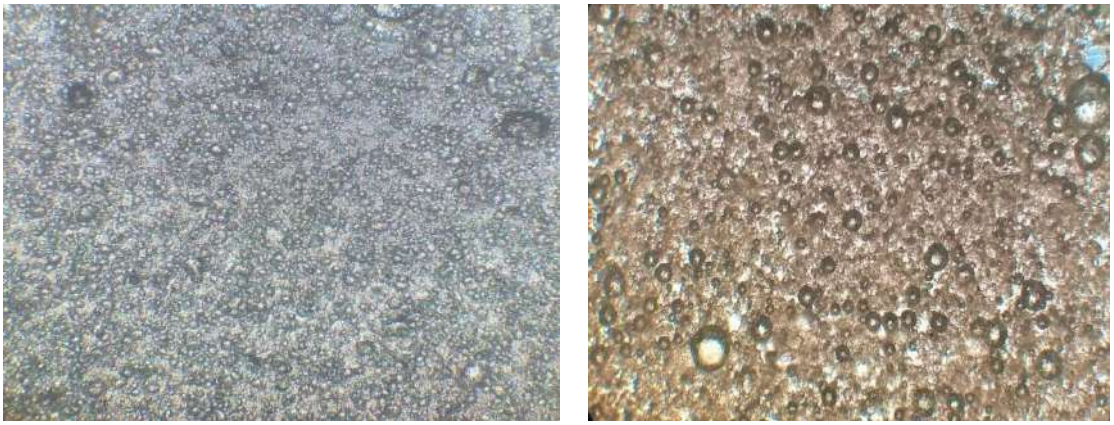


Figure IV.3 Aspect macroscopique des émulsions primaires directement après préparation (effet de la concentration de Span 60 :1%; 1.5% et2%)

VI.1.2 Etat microscopique

L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 10 et 40fois directement après formulation. L'examen microscopique permet d'identifier la multiplicité des systèmes formulés. Pour une meilleure dispersion de l'émulsion, l'échantillon a été placé entre une lame et lamelle. Les vues microscopiques des formulations sont représentées dans les figures (IV.4, IV.5).



« A » **« B »**

Figure IV.4 Vue microscopique d'une émulsion primaire à base de beurre de cacao et huile d'olive directement après préparation. « A » agrandissement 10 fois « B » agrandissement 40 fois**.**

L'examen microscopique (figure IV.4(A)) montre que les émulsions composées à base de beurre de cacao et de l'huile d'olive sont caractérisées par un nombre important de gouttelettes d'eau qui sont bien dispersées dans l'huile.

La figure IV.4 (B) montre que la forme des gouttelettes est circulaire et contient un film interfaciale uniforme. Cela montre que le beurre de cacao est cristallisé dans la phase continue ce qui donne aux gouttelettes d'eau une forme arrondie avec un film uniforme.

IV.1.3 Mesure de la viscosité apparente

Ce test consiste à étudier la variation de la viscosité en fonction des vitesses de cisaillement. Les mesures de surveillance ont été réalisées par un viscosimètre avec la tige N°3, à température ambiante directement après formulation. Les résultats de cette étude sont représentés sur les figures IV.5, IV.6 et IV.7.

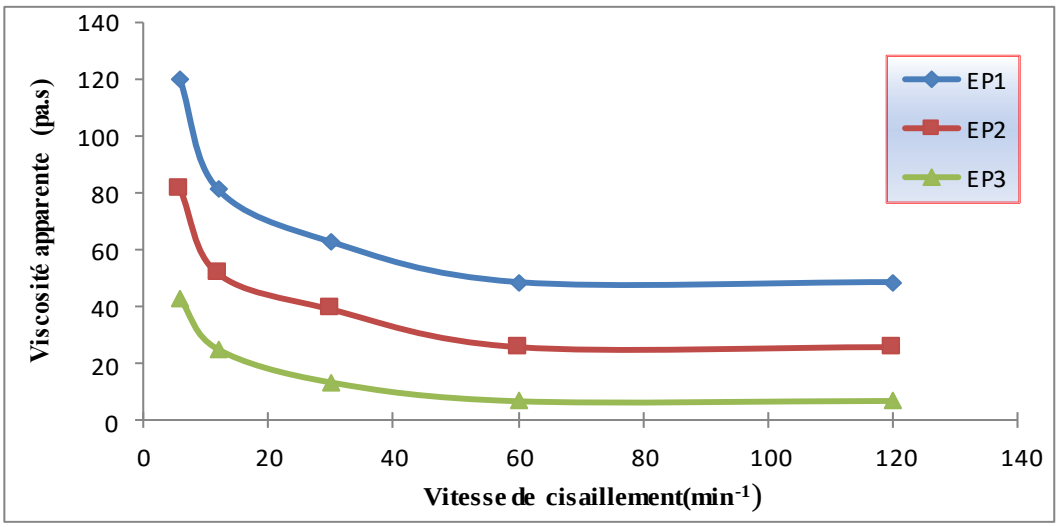


Figure IV.5 Variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions primaires préparées avec 30% en phase aqueuse et pour différentes concentrations en beurre de cacao 50%, 40% et 30%.

La figure IV.5 montre que pour une proportion de 30% en phase aqueuse, la viscosité apparente des émulsions formulées diminue avec la diminution de la proportion de beurre de cacao et l'augmentation de la concentration en huile d'olive. La viscosité diminue également avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement. Pour les formulations EP7et EP8 préparées avec un rapport (E_1/H : 40/60 et 50/50), la consistance était très élevée ce qui a empêché la mesure de la viscosité. Donc on peut conclure que la viscosité de ces émulsions suit la viscosité de la phase huileuse extérieure qui est en fonction de la concentration en beurre de cacao et cela pour la même concentration en phase aqueuse.

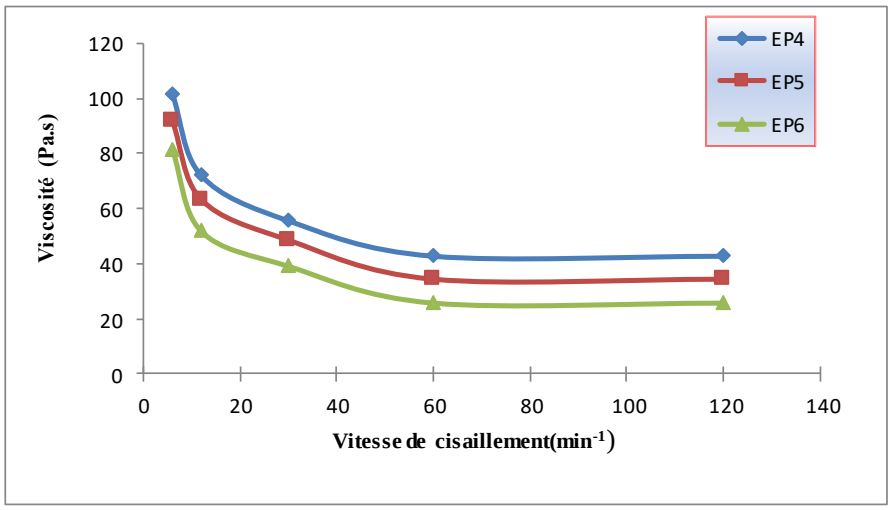


Figure IV.6 Variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions primaires préparées avec 30% en beurre de cacao et pour différentes proportions en phase aqueuse : 10%, 20% et 30%.

A partir de cette figure on remarque que pour des faibles vitesses de cisaillement la viscosité des différentes émulsions formulées varie considérablement avec la variation de la concentration en phase aqueuse. La viscosité des émulsions diminue avec l'augmentation de la concentration en phase aqueuse.

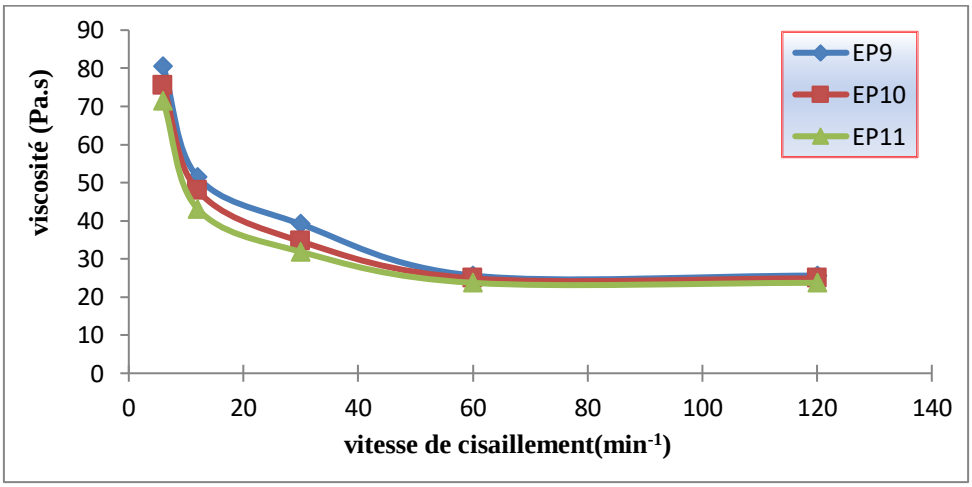


Figure IV.7 Variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions primaires préparées avec un rapport E_1/H: 40/60 et pour différentes concentrations en Span 60 : 1%; 1.5% et 2%.

A partir de cette figure, nous remarquons que la viscosité des émulsions varie en fonction de la concentration du Span 60. La viscosité diminue avec l'augmentation de concentration en Span 60. Ce résultat peut justifier la bonne stabilité de l'émulsion formulée en présence du tensioactif en quantité suffisante.

On remarque aussi que pour toutes les émulsions formulées, la viscosité apparente diminue avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement puis prend une valeur constante. De ce fait nous pouvons conclure que les émulsions simples obtenues sont de type fluide non newtonien d'un comportement rhéofluidifiant.

IV.1.4 Mesure du pH et de la conductivité électrique

Les mesures de pH et de conductivité électrique des différentes émulsions primaires préparées à base de beurre de cacao et huile d'olive sont présentées dans le tableau (IV.1)

Tableau IV.1 Résultats de mesure du pH et de conductivité électrique des émulsions primaires préparées à base de beurre de cacao et huile d'olive

	EP1	EP2	EP3	EP4	EP5	EP6	EP9	EP10	EP11
pH	6.844	6.258	5.031	5.123	5.021	4.557	5.652	6.212	4.228
Conductivité (µs/cm)	1.542	1.265	2.178	1.258	1.203	1.049	2.160	2.321	2.985

Les valeurs de la conductivité électrique des différentes émulsions préparées présentent des valeurs faibles ce qui montre que la phase continue est huileuse et les émulsions sont de type E/H.

IV.1.5 Test de centrifugation

Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 3000 tr / min, pendant 5 minutes. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux (IV.2, IV.3 et IV.4).

Tableau IV.2 Résultats du test de centrifugation des émulsions E_1/H préparées à des différentes valeurs de concentration en beurre de cacao avec 30% de la phase aqueuse.

vitesse de centrifugation	EP1	EP2	EP3
1000 tr/min	+	+	+
2000 tr/min	+	+	+/-
3000 tr/min	+	+	-

- : séparation de phase +/- : légère séparation + **:** stable

L'analyse de ces résultats montre que les émulsions formulées par le rapport beurre de cacao/ huile d'olive : 50/50; 40/60 sont stables à toutes les vitesses de centrifugation. Pour des teneurs en

beurre de cacao /huile d'olive de 30/70 l'émulsion est instable à3000 tr/min. Donc plus on augmente la concentration en beurre de cacao plus les émulsions constituées sont stables en raison de sa cristallisation en phase continue et autour du film interfaciale des gouttelettes d'eau. Cette cristallisation empêche le mouvement des gouttelettes et améliore de ce fait la stabilité des émulsions formulées.

Tableau IV.3 : Résultats du test de centrifugation des émulsions E_1/H préparées avec différentes concentrations en phase aqueuse avec rapport beurre de cacao/ huile d'olive : 40/60.

La vitesse de centrifugation	EP4	EP5	EP6
1000 tr/min	+	+	+
2000 tr/min	+	+	+
3000 tr/min	+	+	+

+ : stable

D'après les résultats ci-dessus, nous remarquons l'absence des phénomènes d'instabilité pour toutes les émulsions préparées à différente proportion en phase aqueuse à l'exception des formulations EP7 et EP8 préparées avec un rapport E_1/H : 40/60 et 50/50(en poids) qui sont instables directement après la préparation. Cela est dû à une quantité excessive de la phase aqueuse.

Tableau IV.4 : Résultats du test de centrifugation des émulsions préparées avec un rapport E_1/H : 40/60 et pour différentes concentrations en Span 60 : 1%, 1.5% et2%.

La vitesse de centrifugation	EP09	EP10	EP11
1000 tr/min	+	+	+
2000 tr/min	+/-	+	+
3000 tr/min	-	+	+

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

L'analyse de ces résultats montre que les émulsions EP10 et EP11 formulées avec une concentration de Span 60 : 1.5% et 2% sont stables à toutes les vitesses de centrifugation. L'émulsion EP9 formulée avec 1% de Span 60est instable à3000 tr/min. Plus la quantité de Span 60 est élevée, plus la stabilité des émulsions augmente. De cela, nous concluons que le Span 60 a un effet sur la stabilité des émulsions stables.

IV.2 Caractérisation des émulsions multiples E/H/E formulées

IV.2.1 Etat macroscopique

Une analyse macroscopique basée sur une visualisation à l'œil nue a été réalisée, elle consiste à observer l'aspect des émulsions multiples formulées. Toutes les émulsions obtenues (EM1, EM2, EM3, EM4, EM5, EM6, EM7et EM8) et (EX1, EX2, EX3, EX4, EX5 et EX6) pour 20% et 35% en émulsion primaire respectivement ont un aspect blanc laiteux, aqueux et homogène avec une viscosité variable en fonction de la concentration de GX comme le montre les figures (IV.8 et I.9)

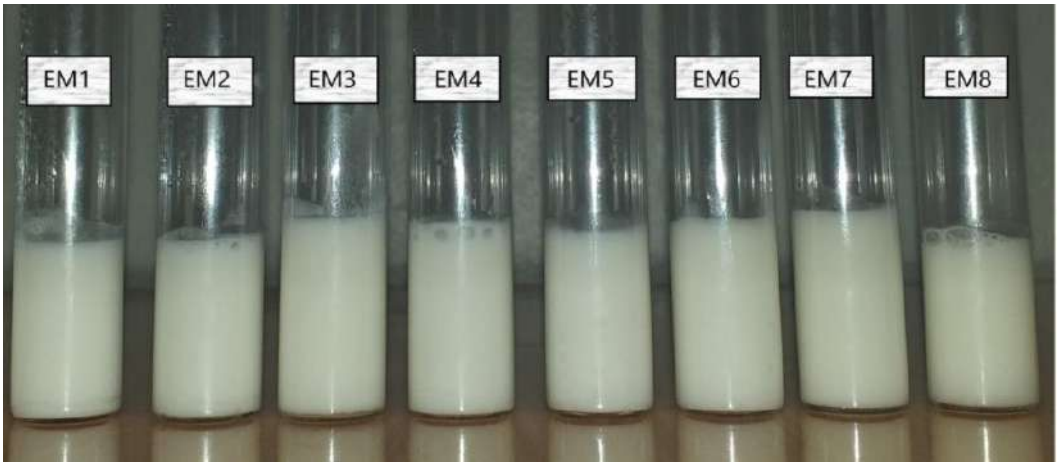


Figure IV.8 Aspect des émulsions multiples préparées avec différent rapport OSA/GX et 20% en émulsion primaire directement après formulation.

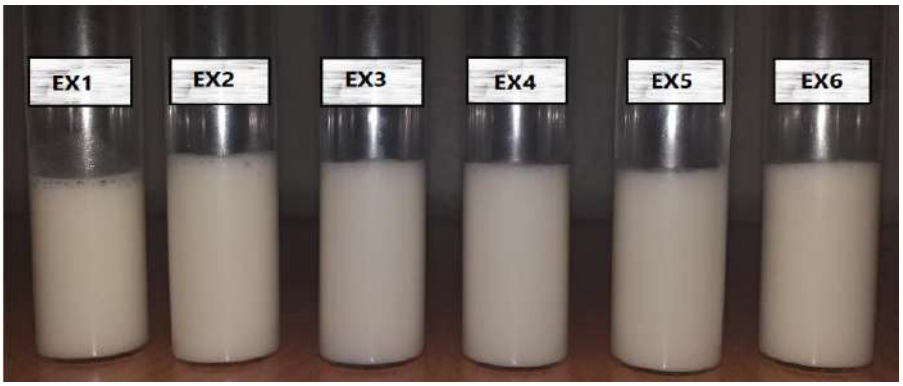


Figure IV.9 Aspect des émulsions multiples préparées avec différent rapport OSA/GX et 35% en émulsion primaire directement après la formulation.

Après l'examen macroscopique nous concluons qu'il y a un effet notable de rapport: OSA/GX sur l'aspect macroscopique des émulsions tel que toutes les émulsions présentent un aspect laiteux avec une consistance variée selon la teneur en GX. Il est à noter que les émulsions contenant 0.5% de GX ont une consistance plus élevée que les autres formulations.

IV.2.2Etat microscopique

L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un grandissement de 100 fois. Les vues microscopiques des formulations directement après la préparation sont représentées sur les figures IV.10 et IV.11

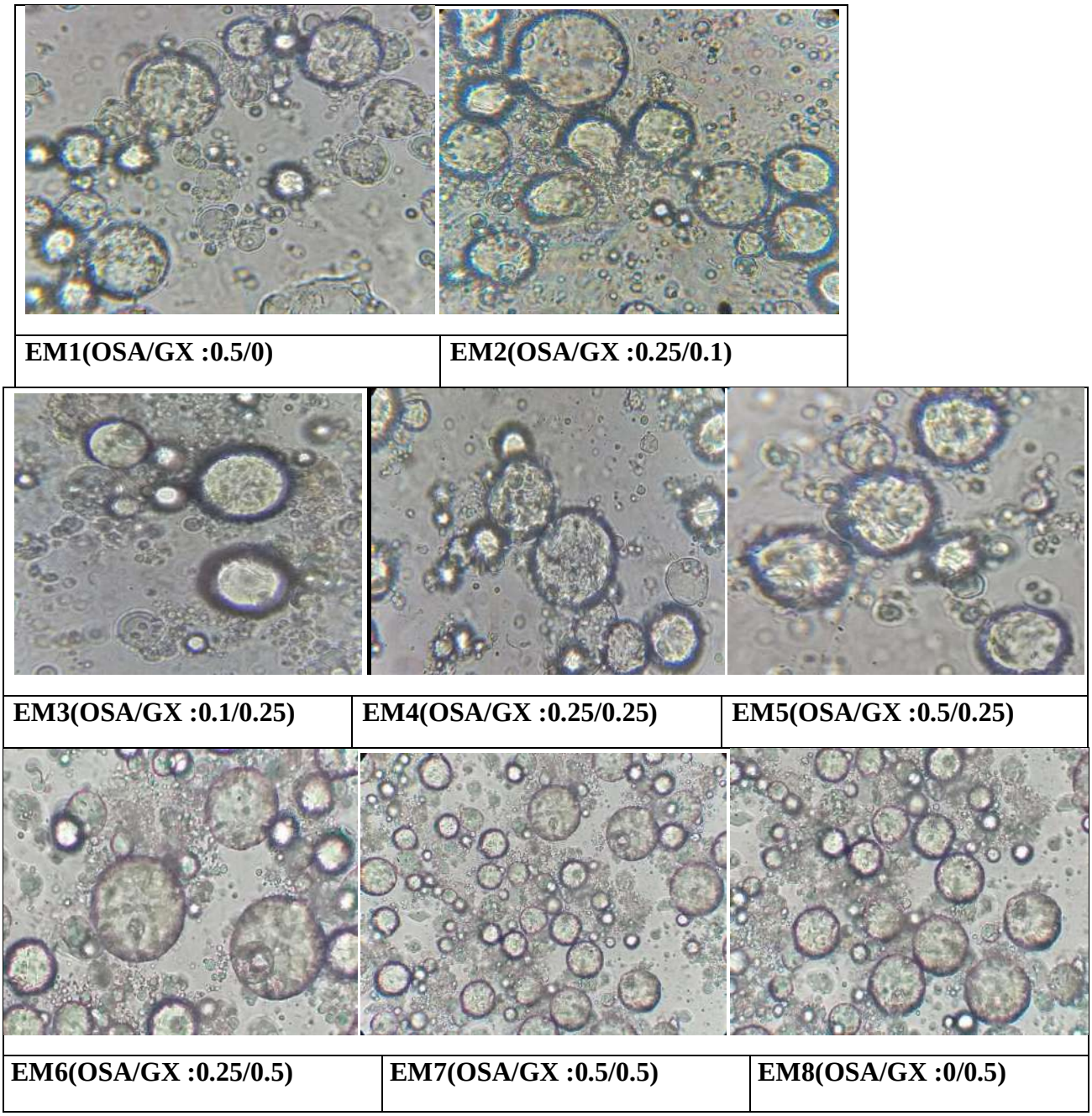


Figure IV.10 Vues microscopiques des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différents rapport (OSA/GX) et 20% d'émulsion primaire.

L'examen microscopiques montre que les émulsions obtenues sont des émulsions multiples E/H/E, a des globules bien dispersées dans la phase aqueuse externe qui contient un film interracial rigide et chargées à l'intérieure par des gouttelettes d'eau. Cette analyse montre aussi que la taille des globules diminue avec l'augmentation de la concentration en GX.

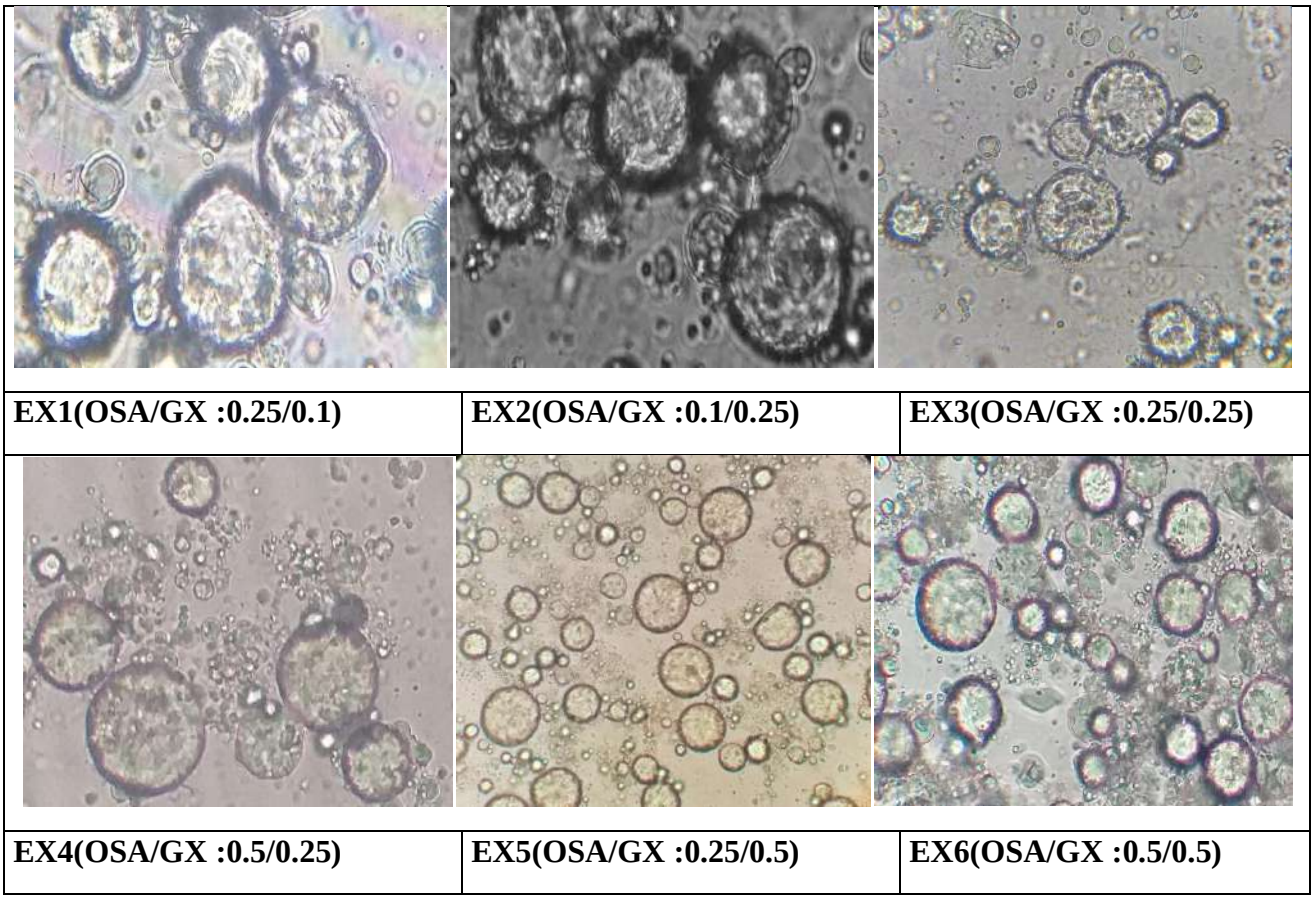


Figure IV.11 Vues microscopiques des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différents rapport (OSA/GX) et EP 35%.

Après comparaison avec la figure(IV.10) nous avons remarqué qu'il n'y avait aucun effet de la concentration en émulsion primaire sur l'aspect microscopique des formulations sauf l'augmentation du nombre des globules dispersés.

IV.2.3 Mesure de la viscosité apparente

Les mesures de la viscosité apparente ont été réalisés par un viscosimètre avec la tige N°3 et à température ambiante. Les résultats de cette analyse sont représentés sur les figures (IV.12 et IV.13).

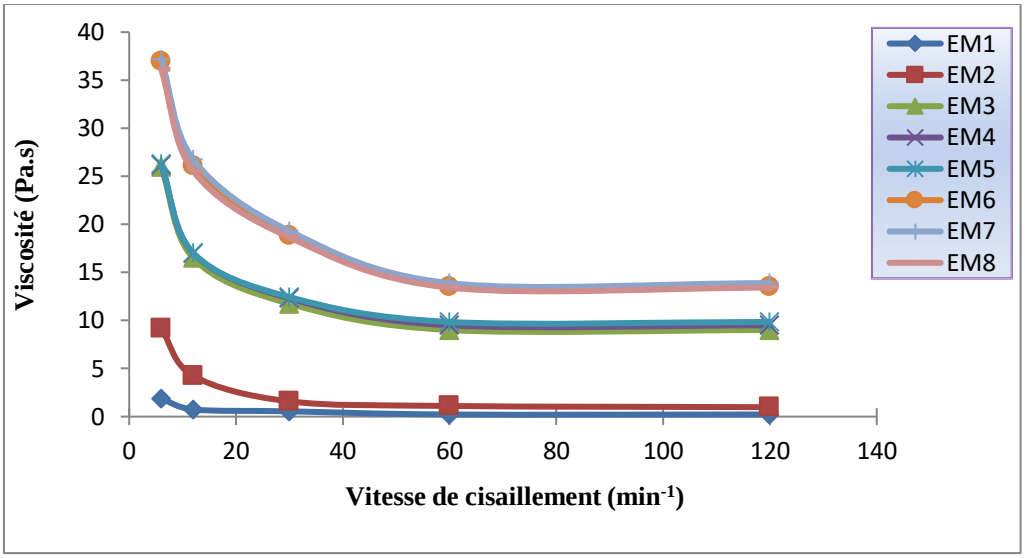


Figure IV.12 Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées par différent rapport (OSA/GX) et EP 20%

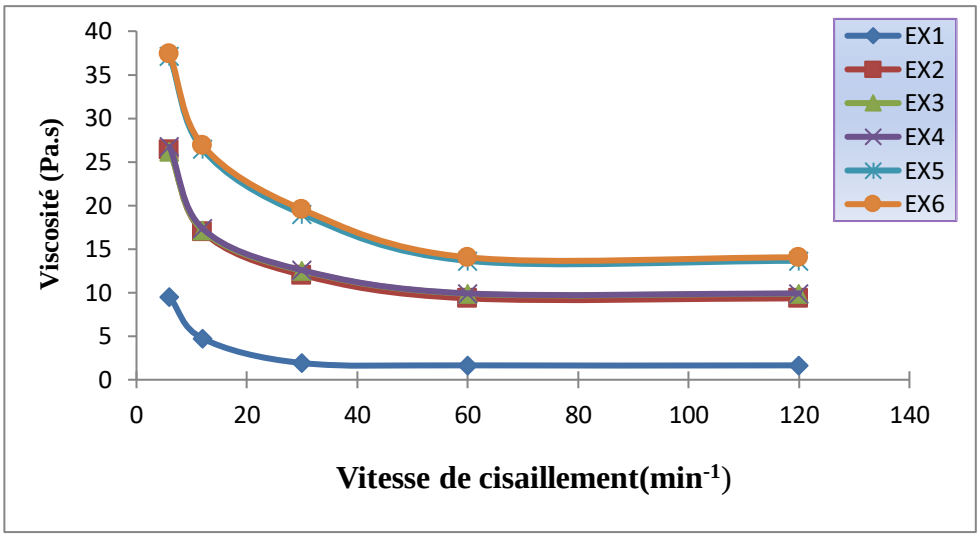


Figure IV.13 Profil de variation de la viscosité apparente en fonction des vitesses de cisaillement des émulsions multiples $E_1/H/E_2$par des différents rapports (OSA/GX) et EP 35%

Les résultats obtenus montrent que les courbes de la viscosité des trois émulsions préparées par une même concentration en GX et une concentration croissante en OSA (EM3, EM4, EM5) sont presque identiques (effet faible sur la viscosité). Donc l'augmentation de la concentration en OSA a peu d'influence sur la viscosité des émulsions préparées.

La figure IV.12 montre que les courbes de viscosité des trois formulations préparées par une même concentration en OSA et une concentration croissante en GX sont différentes, plus la concentration en GX augmente, plus la viscosité de l'émulsion est importante. En conclusion, la

viscosité de l'émulsion suit la viscosité de la phase extérieure qui est en fonction de la concentration en GX. La stabilité de ces trois formulations est du donc à la concentration importante en GX.

L'analyse de la figure IV.3 confirme les résultats de la figure (IV.12), la viscosité de la phase extérieure est en fonction de la concentration en GX. La viscosité apparente pour toutes les formulations diminue en fonction de la vitesse de cisaillement. Mais lorsque la concentration de l'émulsion primaire a été augmentée, une légère augmentation des valeurs de viscosité a été observée. Donc l'augmentation de la concentration en émulsion primaire a peu d'influence sur la viscosité des émulsions préparées.

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

IV.2.4 Mesure de pH et de la conductivité électrique

Les résultats de mesures de pH et de conductivité des différentes formulations préparées sont présentées dans les tableaux (IV.5 ; IV.6)

Tableau IV.5 Les valeurs de pH et de conductivité électrique des émulsions multiples formulées par différents rapport (OSA/GX) et 20% d'émulsion primaire.

	EM1	EM2	EM3	EM4	EM5	EM6	EM7	EM8
pH	4.37	4.79	4.59	4.59	4.71	4.49	4.78	4.65
Conductivité (ms/cm)	0.921	0.947	0.903	1.353	1.583	1.475	0.901	1.544

Tableau IV.6 Valeurs de pH et de la conductivité électrique des émulsions multiples formulées par différent rapport (OSA/GX) et EP 35%.

	EX1	EX2	EX3	EX4	EX5	EX6
pH	4.65	4.66	4.94	4.83	4.89	4.78
Conductivité (ms/cm)	0.813	0.885	0.905	0.987	1.204	1.051

Les résultats de ces tableaux montrent que la conductivité de toutes les émulsions formulé est élevée ce qui montre que la phase continue est une phase aqueuse. Ce résultat confirme le sens $E_1/H/E_2$ des émulsions préparées.

IV.2.5 Test de centrifugation

Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 3000 tours/ minute, pendant 5 minutes. Les résultats obtenus sont représentés sur les tableaux IV.7 et IV.8.

Tableau IV.7 : Test de centrifugation des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées par différents rapport (OSA/GX) et EP 20%.

Vitesse de centrifugation	EM1	EM2	EM3	EM4	EM5	EM6	EM7	EM8
1000 tr/min	-	+	+	+	+	+	+	+
2000 tr/min	-	+/-	+	+	+	+	+	+
3000 tr/min	-	-	+/-	+/-	+/-	+	+	+

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

L'analyse de ce tableau montre que la stabilité des émulsions $E_1/H/E_2$ dépond fortement de la concentration en GX. L'émulsion EM1 formulée avec l'OSA seul est instable à différentes vitesses de centrifugation. L'augmentation de la concentration en GX dans les émulsions EM2, EM4 et EM6 formulées avec 0.25 % en OSA a permis de d'améliorer leurs stabilités. Pour les émulsions EM2, EM3 et EM4 préparé avec 0.25% en GX, l'augmentation de la concentration en OSA n'a pas un effet sur la stabilité. Les émulsions restent instables à 6000tr/min donc l'augmentation de la concentration en OSA n'a pas d'influence sur la stabilité des émulsions préparées. En conclusion, la stabilité des émulsions formulées est en fonction de la concentration en GX. Plus la concentration en GX augmente, plus la stabilité des émulsions est importante.

Tableau IV.8 : Résultats de test de centrifugation des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées par différent rapport (OSA/GX) et EP 35%

Vitesse de centrifugation	EX1	EX2	EX3	EX4	EX5	EX6
1000 tr/min	+	+	+	+	+	+
2000 tr/min	+/-	+	+	+	+	+
3000 tr/min	-	+/-	+/-	+/-	+	+

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

Après comparaison avec les résultats de tableau IV.7 nous avons remarqué qu'il n'y avait aucun effet de la concentration en émulsion primaire sur la stabilité des formulations. Donc l'augmentation de la concentration en émulsion primaire n'a pas d'influence sur la stabilité des émulsions préparées.

IV.2.6 Etude de stabilité accélérée à différentes températures de stockage

Les différentes émulsions $E_1/H/E_2$ ont été soumises à différentes températures de stockage 25°C et 40°C pendant 40 jours. Les figures (IV.14, IV.15, IV.17 et IV.18) montrent l'évolution de l'aspect des différentes formulations après 24 h, 7, 20 et 40 jours. Les figures IV.16 et IV.19présentent l'indice de crémage des différentes formulations durant le stockage.

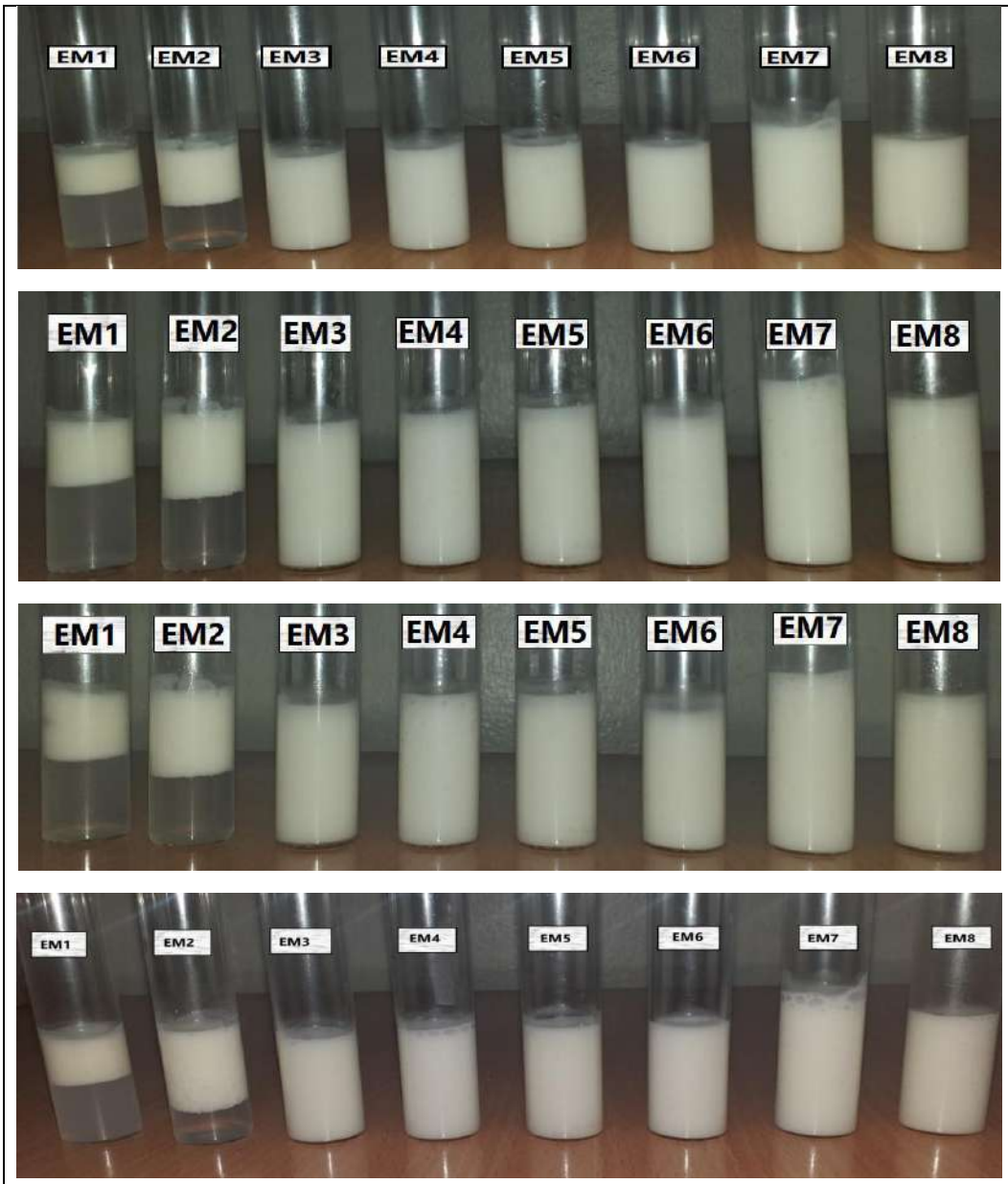


Figure IV.14 Aspect des émulsions multiples avec 20% d'émulsion primaire à 25°C.

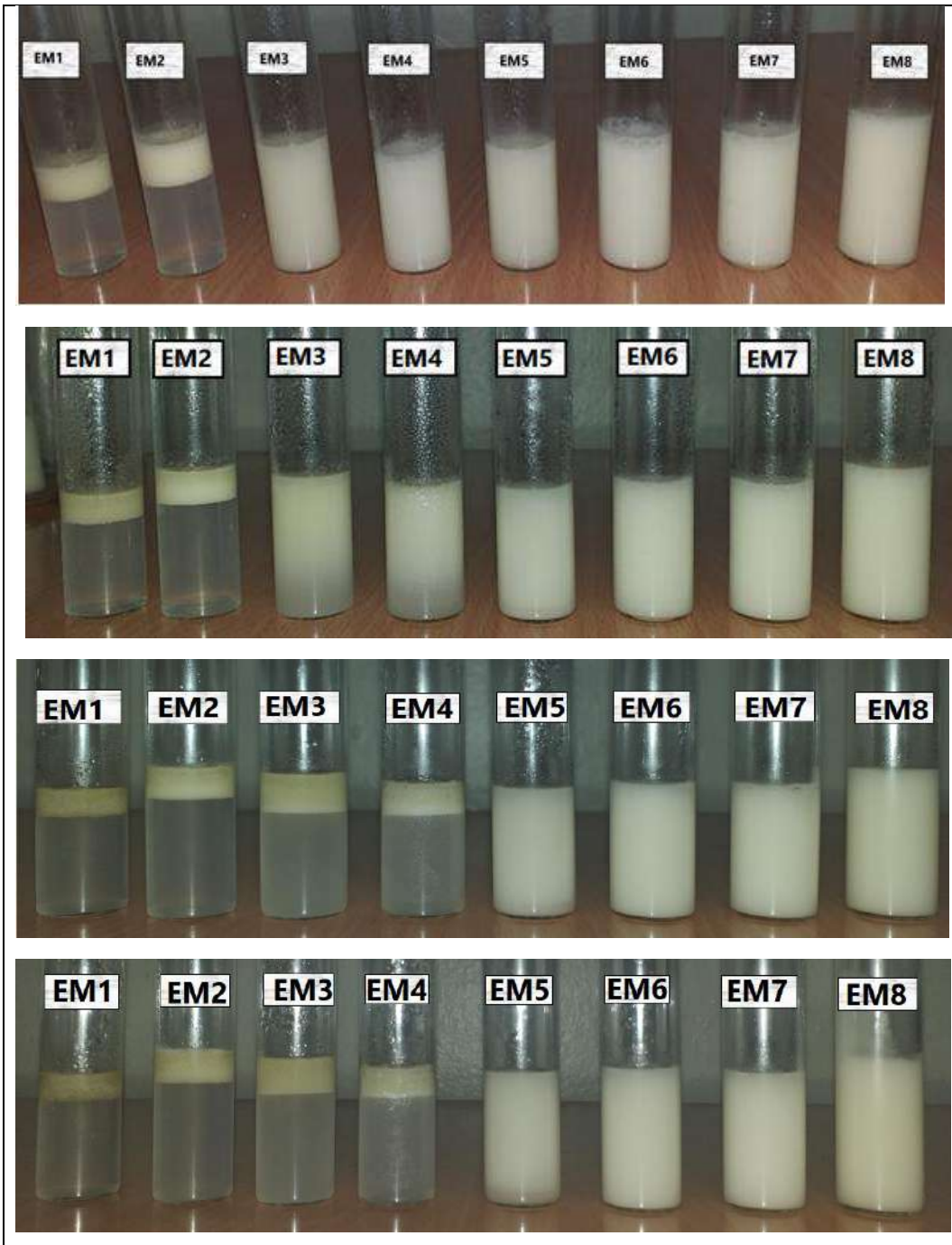


Figure IV.15 Aspect des émulsions multiples avec 20% d'émulsion primaire à 40°C.

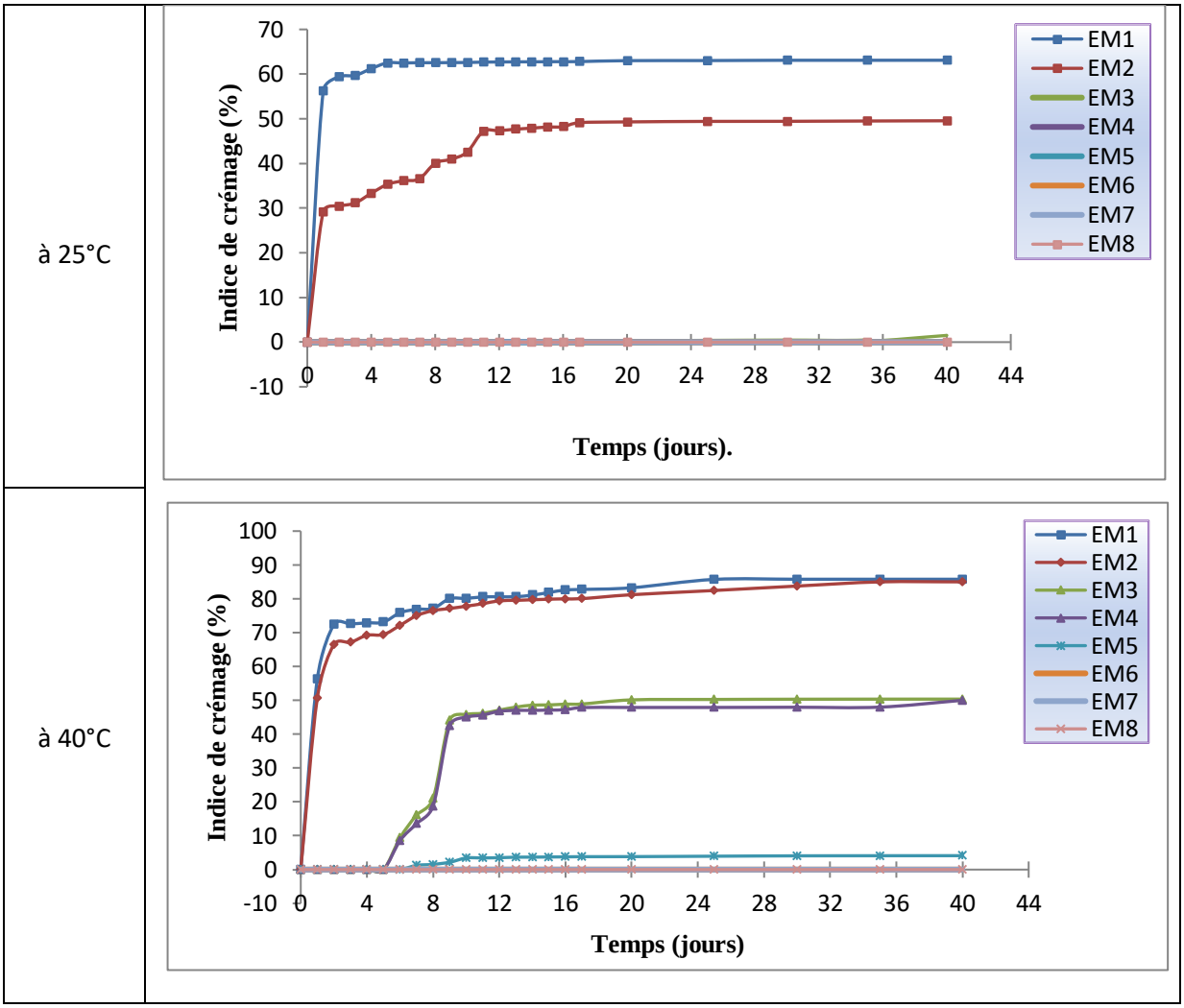
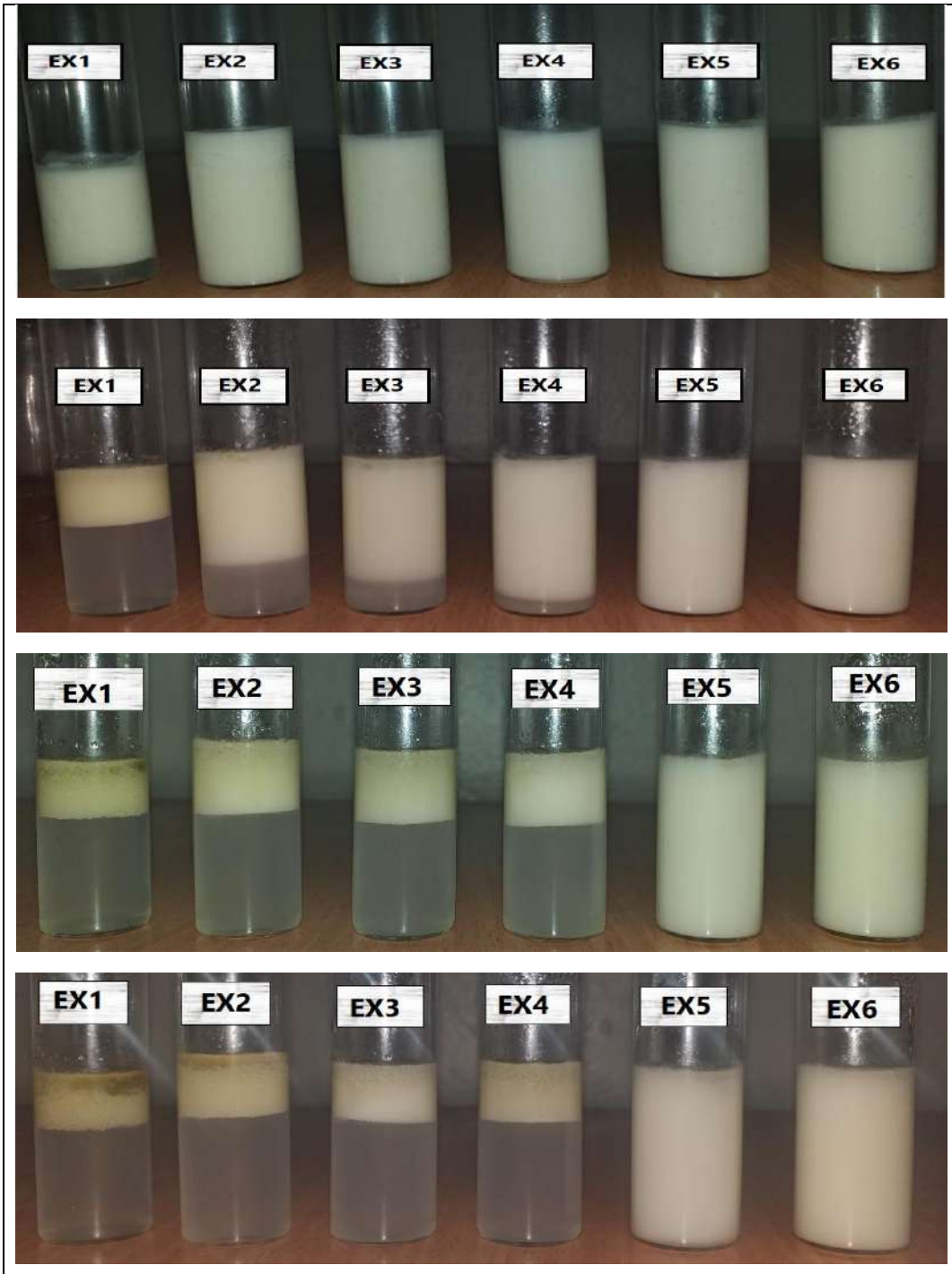


Figure IV.16 Profil de variation de l'indice de crémage des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ formulées avec EP 20% (à 25 et 40°C)



après 24heurs

après 7 jours.

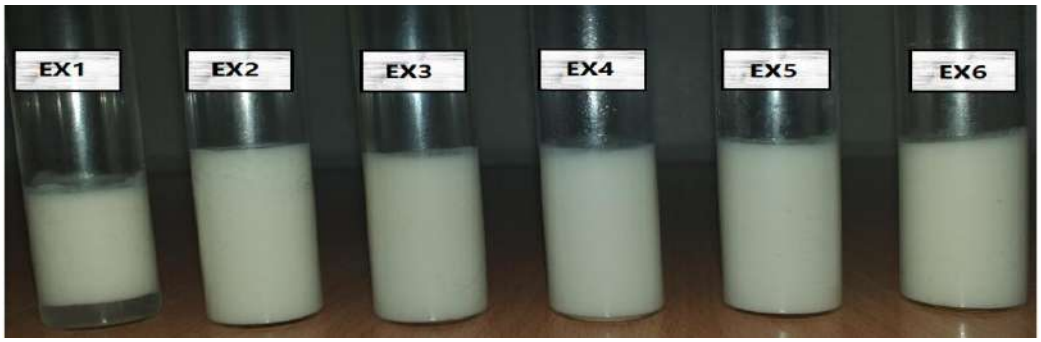
Après 20jours

après 40jours

Figure IV.17: Aspect des émulsions multiples préparées par EP 35% à 40°C.



Après 24heurs



Après 7 jours.



Après 20jours



Après40jours

Figure IV.18 Aspect des émulsions multiples préparées avec EP 35% à 25°C.

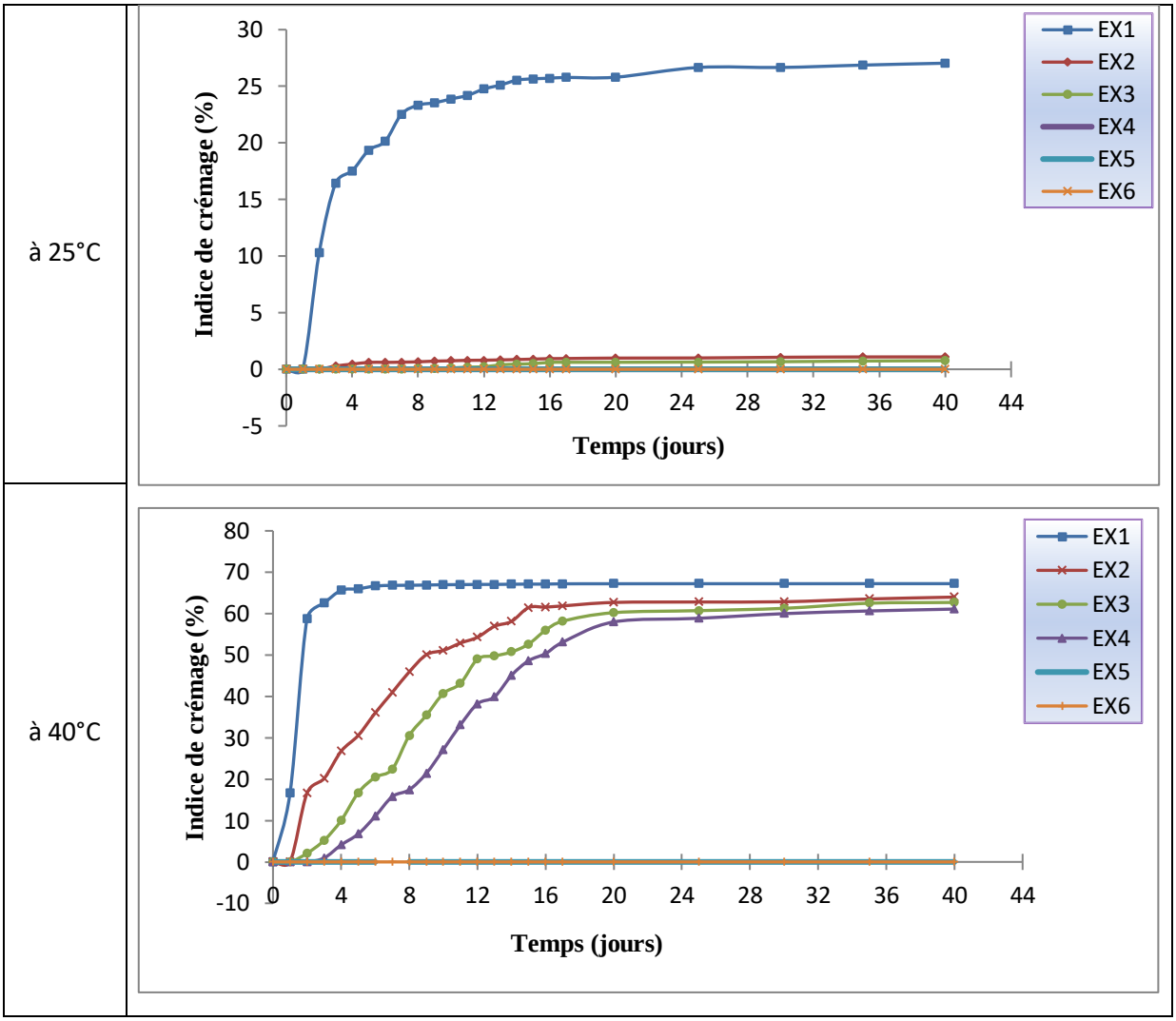


Figure IV.19 Profil de variation de l'indice de crémage des émulsions multiples $E_1/H/E_2$formulées avec EP 35 % (à 25 et 40°C)

L'analyse des résultats obtenus montre l'effet de rapport OSA/GX sur la stabilité des émulsions préparées. À des faibles concentrations de GX (0 % et0.1%), un phénomène de crémage est apparu après 24 h de conservation à 25°C et 40°C. Cette instabilité est due à la faible viscosité de la phase aqueuse externe qui facilite le mouvement et le rapprochement des gouttelettes. Par contre, Pour les échantillons contenant 0.5% de GX, l'indice de crémage diminue et aucun phénomène d'instabilité n'a été observé après 40 jours de conservation soit à 25°Cou 40°C. Donc la stabilité des émulsions formulées dépond de la concentration en GX. L'OSA par ces propriétés de surface s'adsorbe à l'interface ce qui favorise la formation d'un film interfaciale rigide tandis que la GX par ces propriétés de gélification entoure les gouttelettes et empêche leur rapprochement. Ces résultats confirment celles obtenues par le test de stabilité à la centrifugation.

Après comparaison entre les résultats des figures (IV.14, IV.15 et IV.16) et les figures (IV.17, IV.18 et IV.19) nous avons remarqué que l'augmentation de la concentration en émulsion primaire a peu d'influence sur la stabilité des émulsions préparées.

IV.2.7 Analyse granulométrique

Pour vérifier l'effet de rapport OSA/GX et la concentration en émulsion primaire sur la taille des globules, nous avons fait l'analyse granulométrique de différentes formulations $E_1/H/E_2$, les figures IV.20, IV.21, IV.22 et IV.23) représentent les résultats du ce teste.

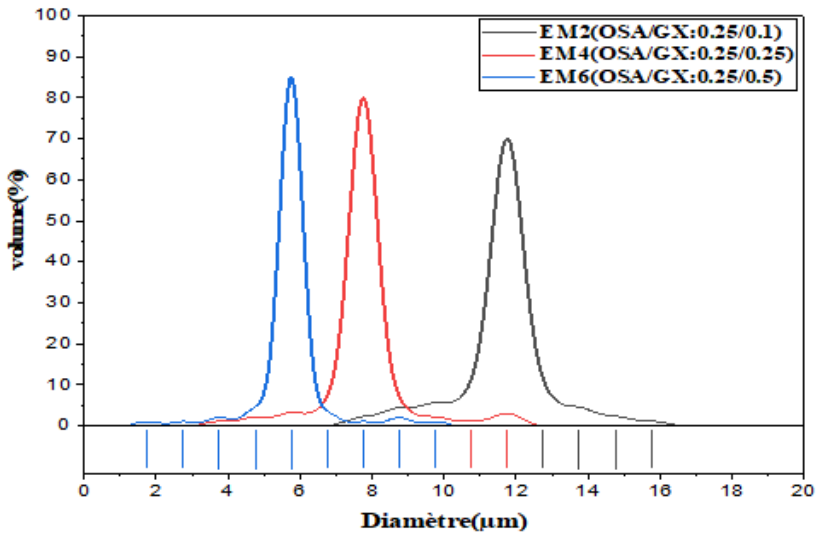


Figure IV.20 Variation de la taille des gouttelettes des émulsions doubles $E_1/H/E_2$formulées avec EP 20% en fonction de la concentration de GX

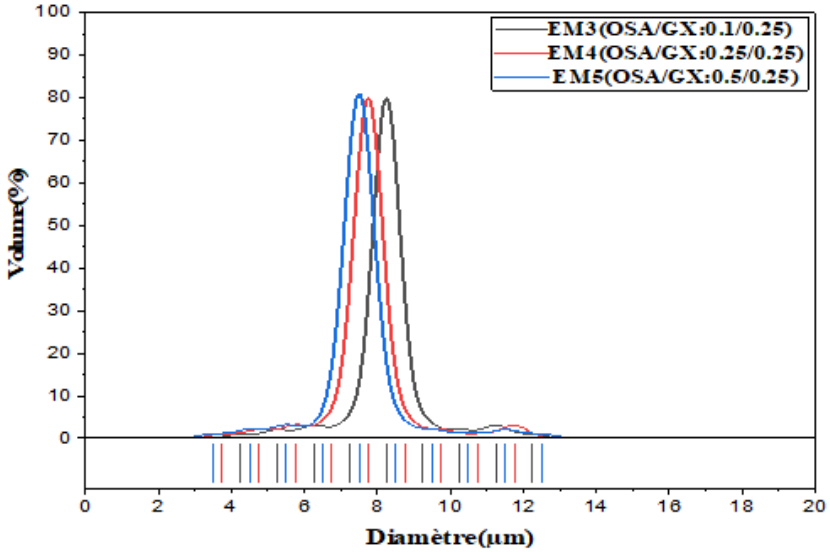


Figure IV.21 Variation de la taille des gouttelettes des émulsions doubles $E_1/H/E_2$formulées avec EP 20% en fonction de la concentration de l'OSA

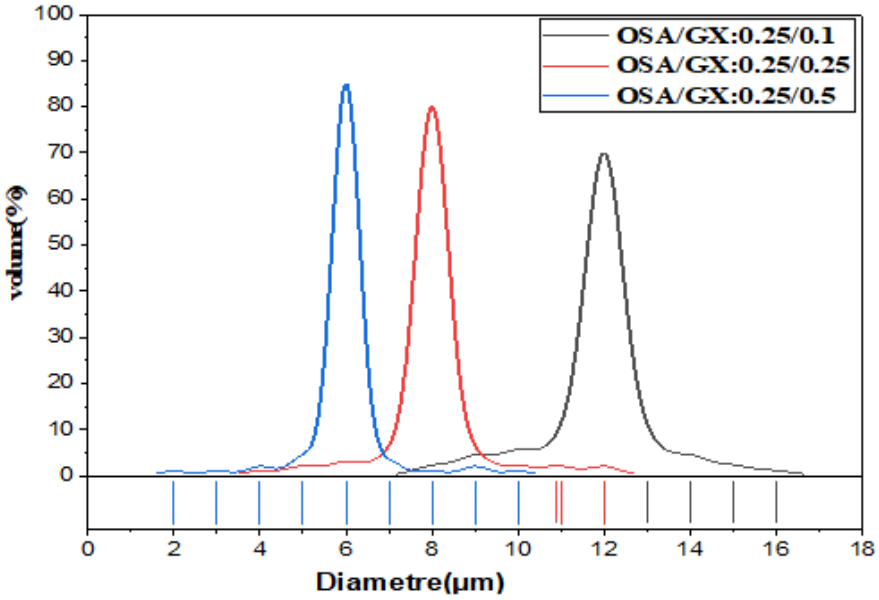


Figure IV.22 Variation de la taille des gouttelettes des émulsions doubles $E_1/H/E_2$formulées avec EP 35% en fonction de la concentration de GX

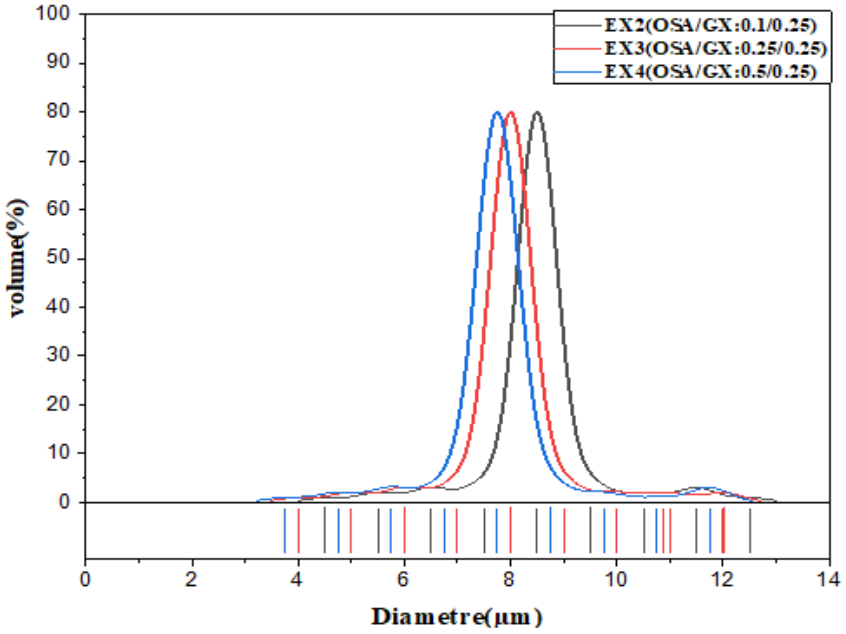


Figure IV.23 Variation de la taille des gouttelettes des émulsions doubles $E_1/H/E_2$formulées avec EP 35% en fonction de la concentration de l'OSA

Les résultats obtenus montrent que l'évolution de la distribution des tailles des globules des trois formulations (EM2, EM4et EM6) préparées par une même concentration en OSA et une concentration croissante en GX sont différentes, plus la concentration en GX augmentée, plus le diamètre des globules de l'émulsion est réduit et la distribution est monomodale, avec une polydispersité similaire. Ceci confirme la bonne uniformité des gouttelettes.

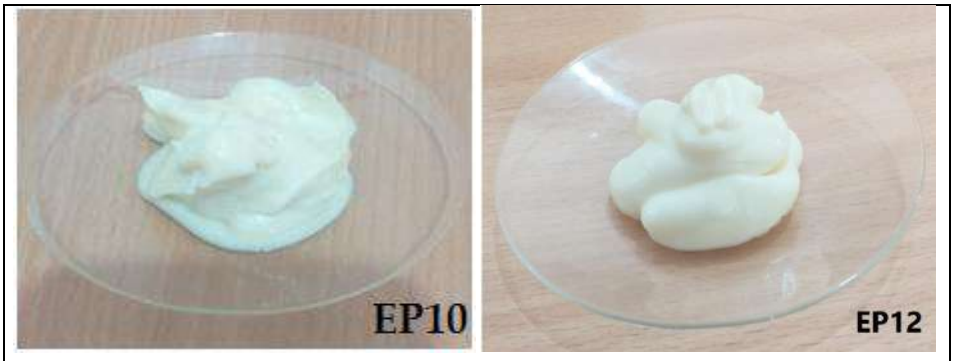
Pour les résultats des trois formulations (EM3, EM4et EM5) obtenus montrent que l'évolution de la distribution des tailles des globules préparées par une même concentration en GX et une

concentration croissante en OSA sont presque identiques (effet faible sur la taille des globules). Donc l'augmentation de la concentration en OSA a peu d'influence sur la taille des globules des émulsions préparées. Après comparaison entre les résultats des figures (IV.20 et IV.21) et les figures (IV.22 et IV.23) nous avons remarqué que l'augmentation de la concentration en émulsion primaire a peu d'influence sur la taille des globules des émulsions préparées mais a effet faible.

IV.3Encapsulation de chlorotétracycline

IV.3.1 Aspect macroscopique de l'émulsion primaire

L'aspect des émulsions primaires EP10 etEP12 formulées avec et sans CTC est représenté sur la figure IV.24. Les émulsions obtenues ont un aspect identique.



Sans chlorotétracycline	Avec chlorotetracycline

Figure IV.24 : Aspect des émulsions primaires avec et sans CTC directement après formulation.

IV.3.2 Aspect macroscopiques des émulsions multiples $E_1/H/E_2$

La figure IV.25montre l'aspect macroscopiques des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différents rapport en (OSA/GX) avec EP 35% contenant le CTC.



Figure IV.25 Aspect des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différents rapport en (OSA/GX) et EP 35% contenant le CTC.

Toutes les émulsions préparées sont homogènes, laiteuses avec une couleur blanche. Par conséquent, nous concluons qu'il n'y a pas d'effet de la CTC sur l'apparence macroscopique des émulsions multiples $E_1/H/E_2$.

IV.3.3 Aspect microscopiques des émulsions multiples $E_1/H/E_2$

Les vues microscopiques des formulations directement après l'encapsulation de CTC sont représentées dans la figure(IV.26).

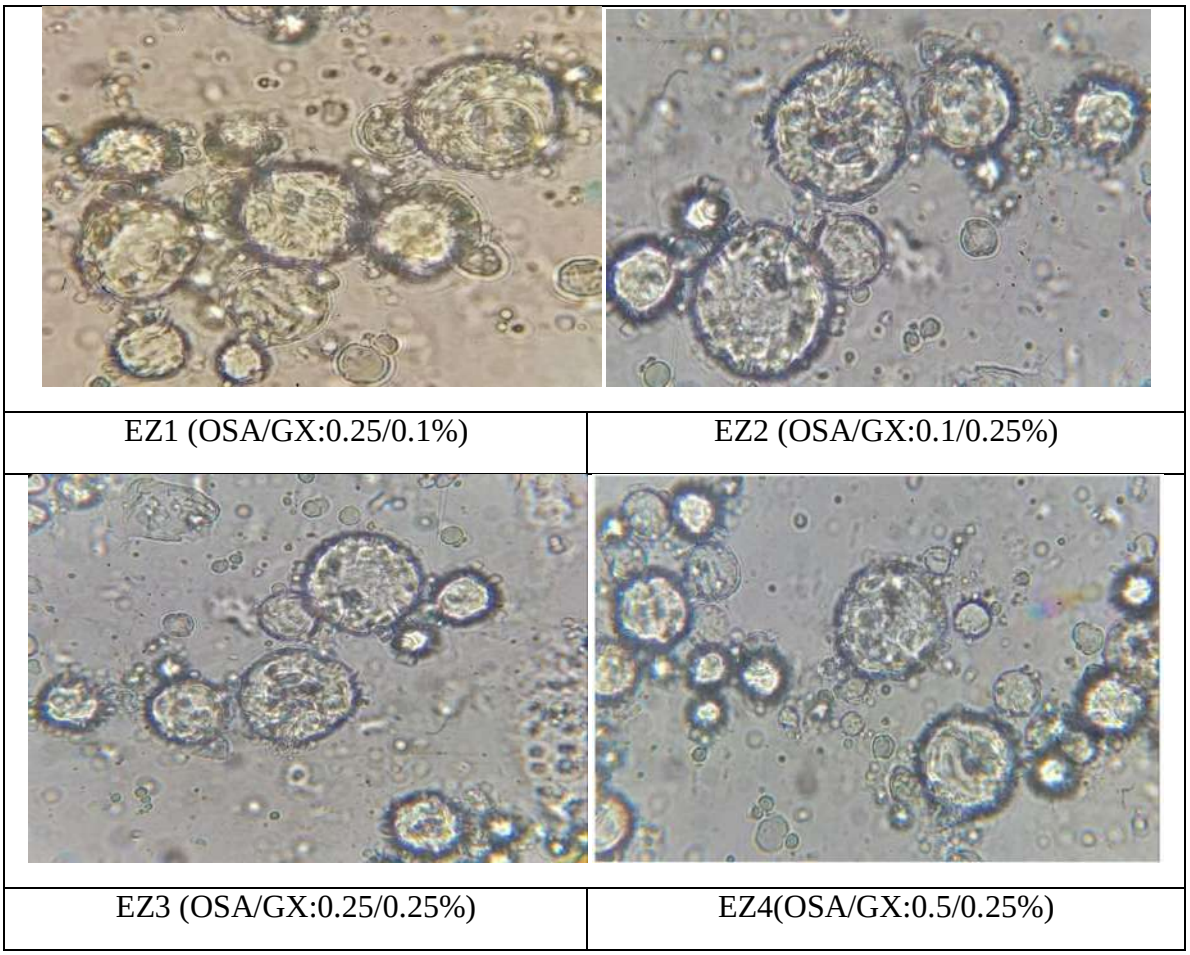


Figure IV.26 Vues microscopiques des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différents rapport (OSA/GX) et EP 35% contenant le CTC.

La présence d'une couleur jaune à l'intérieur des globules est une indication que le CTC était bien encapsulé. Nous notons également qu'il n'y a aucun effet de CTC sur l'aspect microscopique des formulations.

IV.3.4 Mesure du pH et de la conductivité électrique

Les résultats du mesures de pH et de la conductivité électrique des différentes formulations (EZ1; EZ2; EZ3 et EZ4) préparées avec différents rapport de (OSA/GX) et EP 35% sont présentés dans le tableau (IV.9)

Tableau IV.9 Valeurs du pH et de la conductivité électrique des émulsions multiples (EZ1; EZ2; EZ3 et EZ4) formulées avec différents rapport de (OSA/GX) et avec EP 35% contenant CTC.

	EZ1	EZ2	EZ3	EZ4
pH	5.06	5.67	5.28	5.72
Conductivité (ms/cm)	1.014	1.023	1.045	1.125

Ces valeurs du pH et de la conductivité sont presque les mêmes obtenues pour les émulsions préparées sans CTC.

IV.3.5 Teste de centrifugation

Les émulsions (EZ1; EZ2; EZ3 et EZ4) préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 3000 tours/ minute, pendant 5 minutes, et cela afin de vérifier l'effet du CTC sur la stabilité des émulsions multiples formulées. Les résultats obtenus sont représentés sur le tableau IV.10.

Tableau IV.10 : Résultats de test de centrifugation des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ préparées avec différent rapport (OSA/GX) et EP 35% contenant le CTC.

Vitesse de centrifugation	EZ1	EZ2	EZ3	EZ4
1000 tr/min	+	+	+	+
2000 tr/min	+/-	+	+	+
3000 tr/min	-	+/-	+/-	+/-

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



A *B*

Figure IV.27 Résultats de centrifugation des émulsions multiples :*A* sans CTC et *B*avec CTC.

Cette figure montre qu'il n'y avait aucun effet de CTC sur la stabilité des formulations. Donc la présence de CTC n'a pas d'influence sur la stabilité des émulsions préparées.

IV.3.6 Etude de la cinétique de libération

a) Teste de libération

L'étude de la cinétique de libération du CTC en fonction du rapport OSA/GX a été réalisée par la détermination de sa concentration libérée dans la phase aqueuse externe en fonction du temps pendant 11 jours. Les résultats obtenus sont illustrés sur la figure (Figure IV.28)

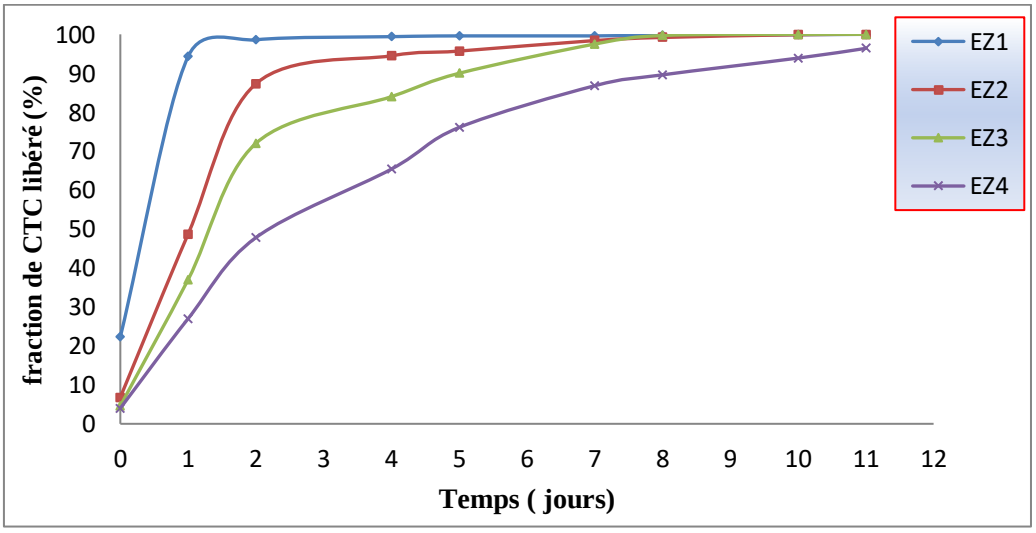


Figure IV.28 Effet du rapport OSA/GX sur la cinétique de libération du CTC (OSA/GX: 0.25/0.1;0.1/0.25; 0.25/0.250;0.5/0.25)

Nous remarquons que le taux de libération cumulé CTC augmente en fonction du temps selon une fonction non linéaire jusqu'à atteindre le taux de 96.4% pour la formulation EZ4 et 100% pour

les formulesEZ1;EZ2 et EZ3 pendant 10 jours de libération. Nous pouvons aussi remarquer la présence de deux phases de libération distinctes, quel que soit la formule étudiée (EZ1; EZ2; EZ3 et EZ4), séparées par une phase stationnaire qui va de 1 à 11jours de libération pour la formule EZ1 et de 8 à 11 jours pour les formules EZ2 et EZ3,sauf la formulation EZ4 qui ne représente qu'une seule phase, nous notons également que le processus de libération n'est pas encore terminé.

b) Vitesse de libération

Pour mieux comprendre le mécanisme de libération mis en jeu, nous avons tracé la vitesse de libération du principe actif en fonction du temps (Figure IV-29). Cette vitesse a été calculée par dérivation de la fonction représentant la fraction cumulée en fonction du temps.

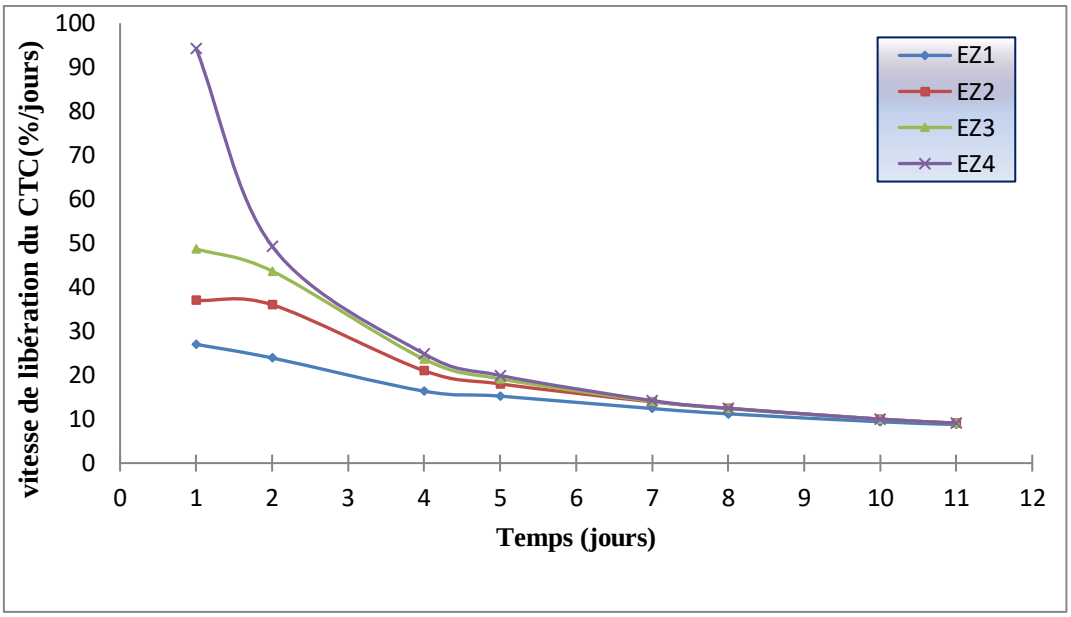


Figure IV.29: Vitesse de libération du PA (CTC) en fonction du temps pour les formules (EZ1, EZ2, EZ3 et EZ4).

Le profil de la vitesse de libération en fonction du temps présente aussi deux phases de libération. La vitesse lors de la première phase est rapide. En effet la vitesse passe de 94.3; 48.7;37 et 27 %.jours^{-1}à le premier jour de libération (pour EZ1, EZ2, EZ3 et EZ4 respectivement) à 12.47; 12.4 ; 12.46 et 11.2 %.jour^{-1} à 8 jours. Par la suite, elle marque une phase stationnaire et reprend à 9 jours de libération mais plus lentement que pour la première phase.

Cela peut être expliqué par le fait qu'au début de la libération, la libération rapide du principe actif est dû à la grande différence de concentration de chlorotetracycline entre la phase interne et externe de l'émulsion et cela est suivi par une phase stationnaire qui représente le phénomène du

gonflement des gouttes de la phase interne due à la différence de la pression osmotique présente entre les deux phases qui mène au passage de l'eau de la phase externe à la phase interne.

Le principe actif est relargué à l'extérieur par la suite. La vitesse devient moins importante qu'au début de libération. En effet, le principe actif doit franchir la barrière des gouttes pour passer au milieu extérieur à cause de l'existence d'huile cristallisable (beurre de cacao). Ainsi que la présence de l'OSA dans la phase extérieure qui augmente l'enchevêtrement du milieu et ralenti la diffusion du principe actif à l'extérieur.

c) Evaluation de l'activité antimicrobienne de CTC

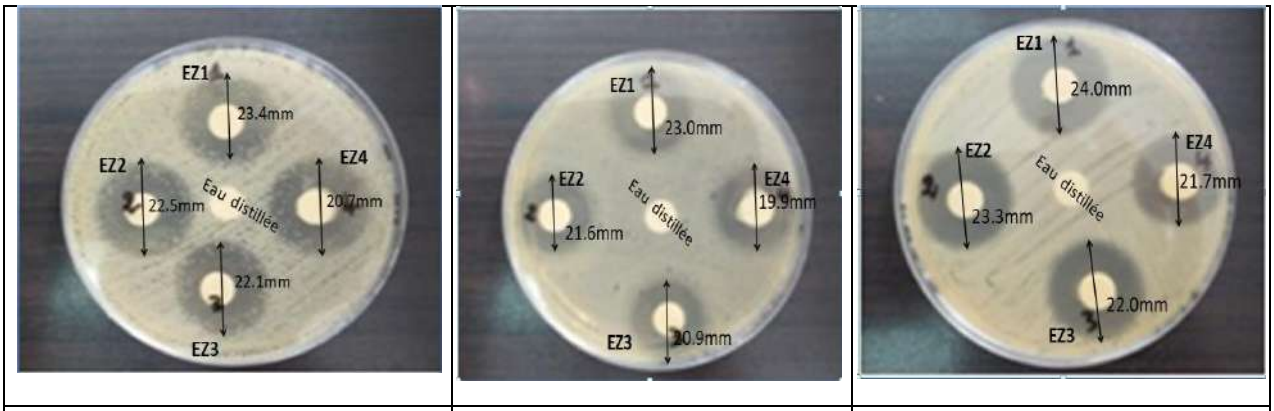
➢ **Teste antibiogramme**

Les observations effectuées sur l'effet de CTC sur la croissance des souches microbiennes testées : *S.aureus, E.coli* et *Ps.aeruginosa*s ont représentées dans le tableau IV.11.

Tableau IV.11 Diamètres des zones d'inhibition de CTC

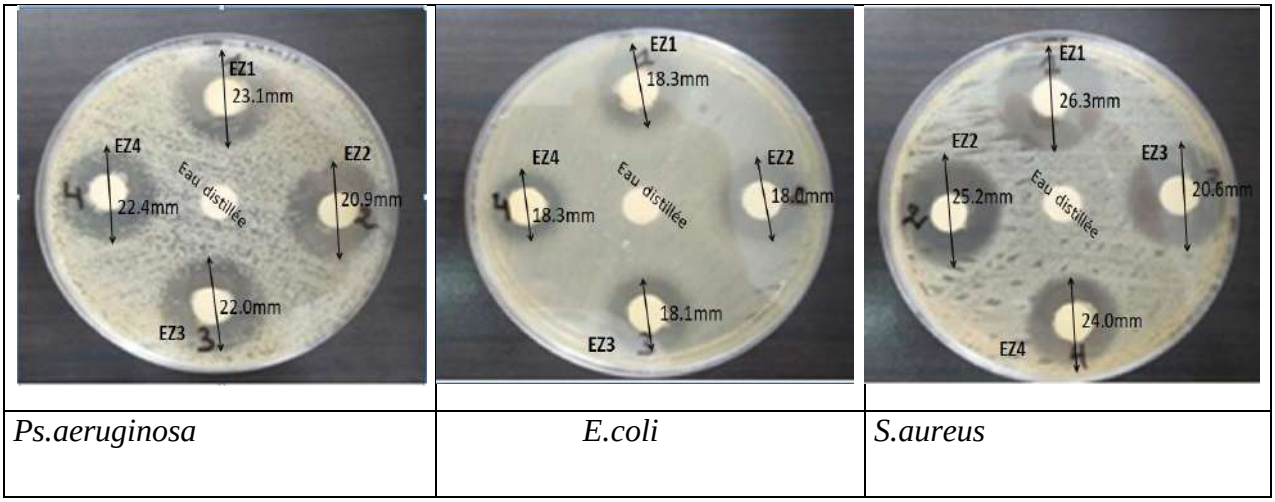
Echantillon	Diamètres d'inhibition (mm)											
	S.aureus				***E.coli***				***Ps.aeruginosa***			
	EZ1	EZ2	EZ3	EZ4	EZ1	EZ2	EZ3	EZ4	EZ1	EZ2	EZ3	EZ4
émulsion multiple	23.1	22.4	22.0	20.9	18.3	18.3	18.1	18.0	26.3	25.2	24	20.6
phase aqueuse externe	23.4	22.5	22.1	20.7	23.0	21.6	20.9	19.9	24	23.3	22	21.7
solution de CTC	34.2				32.8				34.6			
Eau distillée	0											

Les diamètres des disques sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition.



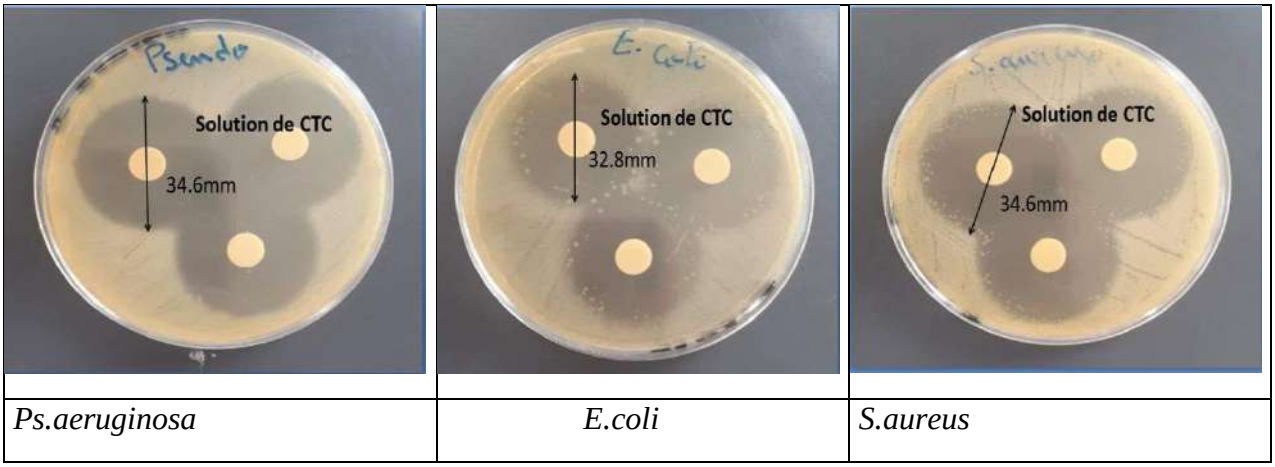
Ps.aeruginosa *E.coli* *S.aureus*

Figure IV.30 Halo d'inhibition de CTC situé au niveau de la phase externe de (EZ1, EZ2, EZ3 et EZ4)



Ps.aeruginosa	*E.coli*	*S.aureus*

Figure IV.31 Halo d'inhibition de CTC contenu dans les émulsions (EZ1, EZ2, EZ3 et EZ4) respectivement



Ps.aeruginosa	*E.coli*	*S.aureus*

Figure IV.32 Halo d'inhibition de CTC en solution de concentration massique 1g/l.

Les résultats d'antibiogramme obtenus à l'aide de la méthode de diffusion sur le soja agar, révèlent que l'activité antibactérienne de CTC testé est en fonction de la bactérie cible.

Les résultats ont montré que le CTC contenu dans les émulsions est la seule à présenter une activité antibactérienne contre *E. Coli ; S.aureus et Ps.aeruginosa* dont le diamètre de la zone d'inhibition est d'environ 18-24 mm. Le CTC situé au niveau de la phase externe des émulsions (EZ1, EZ2, EZ3 et EZ4) est la seule à présenter aussi une activité antibactérienne contre les mêmes bactéries dont le diamètre de la zone d'inhibition est d'environ 19.9-24 mm. Pour le CTC en solution à présenter une activité antibactérienne plus efficace contre les mêmes bactéries dont le diamètre de la zone d'inhibition est d'environ 32.8-34.6 mm.

Le diamètre de la zone d'inhibition dépond du potentiel de résistance des bactéries contre l'action antibactérienne de CTC et déponde aussi de la concentration de CTC qui se situe entre le seuil inhibiteur et la valeur optimale d'inhibition.

Conclusion Générale

Nous avons étudié dans ce travail un procédé d'élaboration d'émulsion E/H simple cristallisable. Les cristaux constituent un rôle majeur dans la stabilité des émulsions, ils ont été trouvés pour couvrir des gouttelettes dispersées avec une couche mince, mais ont également formé un réseau dans la phase continue ce qui a réduit le mouvement des gouttelettes d'eau et leur collision. La nature et la concentration des différents ingrédients notamment la phase huileuse liquide et l'huile cristallisable ont une grande influence sur la stabilité des émulsions cristallisables E/H.

Le Span 60 agit comme un régulateur de consistance et comme émulsifiant naturel, cela dû à sa composition qui pourrait avoir des effets sur l'interface des gouttelettes.

Nous avons exploré la possibilité de remplacer l'huile qui compose le globule double par une autre huile dont la nature offre la possibilité de transiter vers un état solide à température ambiante. Nous sommes intéressés à la stabilisation des émulsions doubles cristallisables de type E/H/E par les mélanges des biopolymères (OSA-GX) formulées par le procédé en deux étapes.

Les moyens de caractérisations des différents systèmes obtenus sont concrétisés par des études physico-chimiques, l'étude de viscosité, la taille des gouttelettes, l'indice de crémage, l'étude de stabilité, ainsi que les études microscopiques. Les résultats obtenus ont permis de sélectionner les meilleures concentrations pour la formulation des émulsions doubles à base de ces deux biopolymères. L'élaboration des émulsions multiples $E_1/H/E_2$ à base de l'OSA et GX a montré que, plus la concentration de GX augmentée, plus la viscosité de l'émulsion augmentée et la taille des gouttelettes réduite, d'autre part la viscosité influe directement sur la stabilité des émulsions. Il a été observé que la durée de stabilité croît en fonction de la concentration de GX.

Le type de la matrice grasse à un effet très important sur la viscosité, la morphologie des globules et alors sur la stabilité. Cela a été démontré dans notre étude, le beurre de cacao a amélioré considérablement la stabilité des émulsions préparées.

La coalescence partielle qui conduit à la gélification de nos émulsions doubles formulées est retardé par l'OSA, qui construit un film interfacial épais autour des globules contenant les cristaux, et la GX qui forme un réseau épais autour des gouttelettes en ralentissant leurs mouvements et leurs rapprochements. L'étude de la stabilité de ces systèmes à différentes températures de stockage choisies (25°C et 40°C) montre, que la meilleure stabilité est observée lors de la conservation à 25°C. La libération du CTC est meilleure dans la formulation à un rapport (OSA/GX: 0.5/0.25%) avec 35% de EP.

Sachant que les émulsions multiples sont des systèmes très instables, cette étude a montré qu'il était possible de préparer des émulsions doubles cristallisables stables à base de bioplolymère par le procédé en deux étapes pour une durée considérable.

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

- ✓ Utiliser d'autres procédés de formulation.
- ✓ Utiliser d'autres moyens de caractérisation (étude rhéologique, microscopie électronique à balayage, microscopie de fluorescence, analyse calorimétrique), pour mieux comprendre le phénomène de cristallisation.
- ✓ Utilisateur d'autres huiles cristallisables ainsi que d'autres bioplolymère.
- ✓ Etudier l'effet des autre paramètres de formulation (vitesse d'agitation, pH ..).

Références Bibliographiques

[1] : BELHADJ Amina et BELMILOUDE Zoheir. Le 07 juin 2014. Les Émulsions Pharmaceutiques. : Mme CHIKH Rebiha , Mr DAMARDJI Boualam . 2014-2015.

[2] :Florence, A.T. Whitehill,D. (1982) The Formulation and Stability of Multiple Emulsions, International Journal of Pharmaceutics . 11: 277-308.

[3] :Joël Cnokaert – IA IPR Biochimie – Génie biologique Françoise Guillet – IGEN Biotechnologies et secteur médico-socia. .1. Les émulsions.

[4] :Essais de mise au point de formulation d'une crème cosmétique hydratante anti âge. DERRAS Meryem Ibtissem, BECHLAGHEM Mohammed. 22.05.2017 .

[5] :J. Guery (2006) Emulsions doubles cristallisables : stabilité, encapsulation et relargage. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI.

[6] :Bêcher, P. (1956) Emulsions, Theory and Practice, 2e Édition, Reinhold, New York, p. 2.

[7] :Beylot C. Place de la cosmétologie et de l'esthétique en dermatologie. Dans Nouv Dermatol. 1998 ; 4 : 244-48.

[8] :Projet Professionnel 2017-2018 LES ÉMULSIONS ALIMENTAIRES ET COSMÉTIQUES. Laurine CAULLET, Alexandra DOS SANTOS, Geoffrey KNIPPER, Margaux RUSALEN et Marie SEIGNEUR.

[9] : Banmeziane Fatma.2013-2014 formulation et caractérisation des émulsions multiples E/H/E stabilisées par des biopolymères.

[10] :Fanny Stauffer. La préparation d'émulsions doubles par un système microfluidique. Sciences pharmaceutiques. 2014. hal-01732016. 14 Mar 2018.

[11] : Sameh Herzi , Wafa Essafi .Food Research International. Crystallizable W/O/W double emulsions made with milk fat: Formulation, stability and release properties.

[12] :Nogueira Duarte, L.J (2005) Extraction à deux phases aqueuses à l'aide d'alcools polyéthoxylés en vue de l'élimination de polluants organique et d'ions métallique. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.

[13] :L. VERMEIR: aspects formulation et caractérisation de la crème à fouetter allégée par technologie eau / huile / eau, mémoire de Univ gent, 2011.

[14] :TOÉ Siessina Lawaldlia Natacha Tchaida Martine. Essais de mises au point de formulation de crèmes et laits corporels a base du beurre de karité du Burkina Faso. Thèse de Doctorat : UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN SCIENCES DE LA SANTE UNINERSITE DE OUAGADOUGOU. 2004. p.11-12.

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

[16] :F. BENAISSA: émulsion multiple stabilisées par des hybrides de biopolymères naturels, mémoire de cu Yahia farès. Médéa, 2006.

[17] :Brochette P., Emulsification Elaboration et étude des émulsions, Edition Technique de l'ingénieur, J2150 , 10-12, 1999.

[18] :LE HIR A. Pharmacie Galénique : Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments. 9 e édition. Paris : Masson, 2009. P.151.

[19] :Le Hir A. Pharmacie Galénique. 6 eme édition. Paris: Masson, 1992. 377 P.

[20] :Allouche J., Développement de nouvelles méthodes pour l'élaboration d'émulsions multiples eau/huile/eau, les-Nancy, 2003.

[21] :Garti, N. (1997) Progress in Stabilization and Transport Phenomena of Double Emulsions in Food Applications. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 30, 222–235.

[22] :préparations d'émulsions par inversion de phase induite par agitation, thèse d'universite henri poincare-nancy 1 2010.

[23] :S.FERARSA, H.BOUCHAABA: étude de la stabilité des émulsions multiples au moyen des mélanges protéines / biopolymères, mémoire d'Univ Yahia farés. Médéa, 2011.

[24] :H.Y. LEEA, M.J. MCCARTHYB ET S.R. DUNGANA: caractérisation expérimentale de la formation et de la coalescence des émulsions par des techniques de diffusion restreinte par résonance magnétique nucléaire, jaocs, vol. 75, non. 4 (1998).

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

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

[27] :Nadji Moulai-Mostefa: Amina Boumenir: Journal of Dispersion Science et Technologie: Formulation d'une émulsion multiple stable via un procédé en une seule étape utilisant les propriétés de surface des émulsifiants mixtes, Faculté des Sciences et Technologie, Université de Medea.

[28] :Salager et al, 1983b; Miñana-Perez et al., 1999; Salager, 2000b

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

[30] : M. DE LUCA; P. ROCHA-FILHO, J.L. GROSSIORD, A. RABARON, C.: les émulsions multiples, revue internationale de science cosmétique, 1991.

[31] : F. COURNARIE, M.P. SAVELLI, V. ROSILIO, F.BRETEZ, CH.VAUTHIER, JL GROSSIORD, M.SEILLER: insulino-chargé sans émulsions multiples: comparaison des performances de systèmes préparés avec des triglycérides à chaîne moyenne et de l'huile de poisson, européen journal de la pharmacie et de la bio-pharmacie. elsevier, 2004.

[32] : A. ASERIN: émulsions multiples: technologie et applications, wiley-interscience, 2007.

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

[34] : Beissinger et al. (1993)

[35] : (Chem, Pharm. Bull. L22(3) 638-642 (1974)J UDC 615. 33.033. 011. 4 : 547.91.02 Effect of Polymorphism on the Dissolution Behavior and Gastrointestinal Absorption of Chlortetracycline Hydrochloride SHOZO MIYAZAKI, TAKAICHI ARITA, RYOHEI, HORI, and KEIJI ITOa) (Received July 2, 1973)

[36] : ALEXANDRAREID: protection de composes bioactifs hydrosolubles et liposolubles par encapsulation dans une émulsion multiple, thèse à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval, Québec 2010.

[37] : Garti N: progrès dans la stabilisation et le transport «émulsions double dans les applications alimentaires. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 1997; 30: 222.

[38] :FORMULATION ET CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE D'UNE EMULSION DOUBLE CRISTALLISABLE A USAGE PHARMACEUTIQUE., Melle Bouahmed Nesrine. 2014-2015.

[39] : F.Thivilliers (2007) gels d'émulsions à base d'huiles cristallisables, thèse de doctorat l'université bordeaux 1.

[40] : Crombie R.L. Cold Pearl mélanges à base de tensioactifs. International Journal of Cosmetie Science (1997) 19 : pp. 205-214.

[41] : Puel F., Veesler S. & Mangin D. Cristallisation - Aspects théoriques. J 2710 Techniques de l'ingénieur (2005).

[42] : Skoda W., den Tempel M.V., J. Colloid Sci., 18, p. 568 (1963).

[43] : Sonoda T., Takata Y., Ueno S., Sato K., Cryst. Croissance Des., 6, p. 306 (2006).

[44] : Thivilliers (2007) gels d'émulsions à base d'huiles cristallisables, thèse de doctorat l'université bordeaux 1.

[45] : WALSTRA P, VAN BERESTEYN ECH. Cristallisation de la matière grasse du lait à l'état émulsionné. Neth Milk Dairy J 1975; 29 : 35-65.

[46] : MJ. W. Povey. Processus de cristallisation dans les graisses et les systèmes lipidiques - Chap. 7. N. Garti & K. Sato (Eds), Marcel Dekker, N.Y., 2001.

[47] : E. Dickinson. F-J. Kruizengn MIW Povey et M. van der Molen. Surf colloïdal. A-

[48] : Heming J., Dahlberg A., Tech. Taureau. N.Y. Agric. Exp. Gare, p. 197 (1932).

[49] : Boode K., Bisperink C., Walstra P., Colloids and Surfaces, 61. p. 55 (1991).

[50] : M.A.J.S. van Boekel et P. Walstra. Colloids Surf., 3 (109), 1981.

[51] : D. Rouseau. Res. Int., 33 (3), 2000.

[52] : S.A. Vanapalli et J.N. Coupland. Food Hycrocolloids, 15, (507), 2001.

[53] : K. Boode et P. Walstra. Surf colloïdal. A-Physicochem. Ing. Aspects, 8, (121), 1993.

[54] : J. Palanuwech et J.N. Coupland. Surf colloïdal. A-Physicochem. Ing. Aspects, 223 (251), 2003,

[55] : H.D. Goff. Int. Laitier. J., 7 (363), 1997.

[56] : Lopez C, Lesieur P, Keller G, Ollivon M. Thermal and structural behavior of milk fat-1. Espèce instable de crème. J Coll Int Sci 2000:229:62 -71.

[57]: Keller G, Lavigne F, Forte L, et al. Spécifications et applications du couplage DSC et diffraction des rayons X. J Therm Anal Calorimetry 1998;51:783-91,

[58]:Lopez C, Lesieur P, Bourgaux C, Keller G, Ollivon M.Thermal and structural behavior of milk fat 2. Formes cristallines obtenues par refroidissement lent de crème. J Coll Int Sci 2001;240:150 – 61.

[59] : Guery J., Bertrand E., Rouzeau C., Levitz P., Weitz D.A., Bibette J., Phys. Rev. Lett, 96, p.198301 (2006).

[60]: Joël Cnokaert -IA IPR Biochimie - Génie biologique „Françoise Guiet IGEN Biotechnologies et secteur médico-social-les émulsions-partie I ,p. 11

[61] : Campbell SD, Goff HD, Rousseau D. Relation des propriétés des graisses en vrac aux systèmes émulsionnés : Caractérisation de la déstabilisation des émulsions par cristallisation des graisses. Dans : Widlak N, Hartel R, Narine

[62] : Hartel R., Crystallization in Foods (Aspen, Gaithersburg, 2001), 4e éd.

[63] : Mullin J., Crystallization (Butterworth-Heinnemann, Oxford, U.K., 2001), 4e éd.

[64] :Formulation et caractérisation physico-chimique d'une émulsion multiple préparée par le procédé de deux étapes. Université de Médéa. 2015/2016. KECHOUT Houria RAHICHE Nassima.

[65] : Preparation of multiple water-in-oil-in-water emulsions without any added oil-soluble surfactant. Received 25 January 2018; Received in revised form 3 June 2018; Accepted 7 August 2018