**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE MEDEA**

**FACULTE DES SCIENCES**

# Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

**Spécialité :** Chimie Pharmaceutique

**Par :**

**BOUZID MERIEM**
**KEHAL IMANE**

## Thème :

**ETUDE DES FACTEURS DE STABILISATION DES EMULSIONS PHARMACEUTIQUES**

Soutenue publiquement le : /09/2020, Devant le jury composé de :

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Dr. REBOUH Samia** | MCA | UYFM | Présidente |
| **Dr. YAHOUM Madiha M** | MCB | UYFM | Examinatrice 1 |
| **Dr. GHARDAOUI Dahbia** | MCB | UYFM | Examinatrice 2 |
| **Dr. LEFNAOUI Sonia** | MCA | UYFM | Encadreur |
| **Mme. TOUMI Selma** | Doctorante | UYFM | Co-encadreur |

Année universitaire 2019/2020

# *Remerciement*

*Tout d'abord, nous remercions ﷲ de nous avoir donné la santé, la patience et les moyens, à fin que nous puissions accomplir ce travail.*

*Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous la direction du Dr. LEFNAOUI Sonia Maitre de Conférence classe A à l'université de Médéa nous la remercions pour sa patience, sa disponibilité, sa modestie, sa gentillesse, sa richesse d'expériences, qui nous ont guidés dans notre travail, son encouragement et ses efforts pour le bon déroulement de ce travail, et pour son aide précieuse à l'élaboration de ce mémoire.*

*Un grand merci à notre Co-promotrice Madame TOUMI Selma, ce travail était d'autant plus agréable grâce à sa gentillesse et ses encouragements.*

*Nos sincères remerciements vont au Dr. REBOUH Samia, Maitre de conférence classe A à l'université de Médéa pour avoir accepter de présider ce jury.*

*On adresse également nos remerciements aux Dr. YAHOUM Madiha Melha et Dr .GHARDAOUI Dahbia maitres de conférences classe B à l'université de Médéa pour avoir accepter d'examiner ce travail.*

*Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

# Dédicaces

*A Mes Très Chers Parents*

*Ce manuscrit de thèse représente le fruit de vos années d'investissement et je suis fière de vous le dédier. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble formation, et c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi. Vous résumez si bien le mot parents qu'il serait superflu d'y ajouter quelque chose. Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.*

*A Mes Chers Frères Ali & Mohamed*

*En plus de mes chers frères, vous êtes aussi mes amis éternel. Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais. J'implore Dieu qu'il vous apporte bonheur, et vous aides à réaliser tous vos vœux.*

*A la mémoire de Mon Très Chère Grand-père*
*A Toute Ma Famille*

*Mes tantes , mes oncles et mes chères cousines Veuillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien, encouragements et affection.*

*A Mes chers amis*

***A ma chère binôme Imane** , a tous mes collègues et amis du master spécialisé chimie pharmaceutique.*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

***Mer iem***

# DEDICACE

*A l'homme de ma vie mon exemple éternel,*
*mon soutienmoral et source de joie et de bonheur,*
*celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir,*
*à toi **MON PERE** .*

*A la lumière de mes jours la source de mes efforts,*
*la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ;*
***MAMAN** que j'adore .*

***A MES FRERES ET SŒURS***
*Toufik, Rafik, Billal, Omar, Mohamed Ismahane, Hiba.*
*Je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs*
*revient en premier lieu pour*
*leurs conseils, aides, et encouragements.*

***À MES CHERS PETITS NEVEUX***
*Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour*
*que j'ai pour vous,*
*Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur.*

***A MES SŒURS DE CŒUR***
*qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours*
*à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin*

***A MON BINOME MERIEM***
*de m'avoir fait confiance et d'avoir tenté l'aventure avec moi,*
*Ce travail n'aurait pas pu voir le jour sans toi.*

*Imane*

**ملخص**

الهدف من هذا العمل الحالي هو دراسة تأثير الببوليمير الحيوي الأصلي (kappa carraghénane KC) و المعدل ( KCR µonde و KCR VN) على استقرار المستحلبات البسيطة من نوع زيت في الماء (H\E). مشتقات KC المتحصل عليها عن طريق تفاعل الأثيرة باستخدام تقنيتين للتسخين ,التسخين العادي (KCR VN) و التسخين بالميكروويف (KC µonde) . المشتقات المتحصل عليها تمت دراستها بالتحليل الطيفي للأشعة الحمراء من خلال تحديد الوظائف العضوية الجديدة و تأكيد عملية الأثيرة لل KC و قد تم تقييم تأثير الاستحلاب للبوليميرات الحيوية التي تمت دراستها من خلال دراسة المظهر المجهري للمستحلبات التي تم الحصول عليها و بالتالي تكون المستحلبات (H\E) مستقرة باستخدام مشتقات KC . بالإضافة إلى ذالك يظهر مشتق KCR µonde قدرة استقرار أفضل من خلال مقارنتها مع مشتق KCR VN .

**الكلمات المفتاحية** : مستحلب ، استقرار ،كابا الكاراجينان المعدل ، عملية أثيرة .

**Résumé**

L'objectif de ce présent travail est l'étude des effets d'un biopolymère natif (Kappa carraghénane KC) et modifiés (KCR VN et KCR µondes) sur la stabilisation d'émulsions simples de type Huile dans Eau (H/E). Les dérivés de KC ont été obtenus par une réaction d'éthérification en utilisant deux techniques de chauffage, chauffage ordinaire (KCR VN) et micro-ondes (KCR µondes). Les dérivés obtenu ont été caractérisés par analyse FTIR, en identifiant de nouvelles fonctions organiques, confirmant l'éthérification du KC. L'effet émulsifiant des biopolymères étudiés a été évalué en étudiant l'aspect microscopique des émulsions obtenus. Ainsi, Les émulsions H/E sont stables en utilisant les dérivés de KC. De plus, le dérivé KCR µondes montre une meilleure capacité de stabilisation en le comparant au dérivé KCR VN.

**Mots clés** : Emulsion, Stabilisation, Kappa carraghénane modifié, Ethérification.

**Abstract**

The objective of this work is to study the effects of native (Kappa carrageenan KC) and modified (KC VN and KC µ-ondes) biopolymers on the stabilization of simple oil-in-water (O/W) emulsions. The KC derivatives were obtained by an etherification reaction using two heating techniques: ordinary heating (KC VN) and microwave (KC µ-ondes). The obtained derivatives were characterized by FTIR analysis, identifying new organic functions, confirming the etherification of KC. The emulsifying effect of the studied biopolymers was evaluated by studying the microscopic aspect of the obtained emulsions. The emulsions obtained are stable using KC derivatives. Moreover, the µ-ondes KC derivative shows a better stabilizing capacity when compared to the KC VN derivative.

**Key words**: Emulsion, Stabilization, Modified Kappa carrageenan, Etherification .

**REMERCIEMENTS**

**DEDICACES**

**RESUME**

**TABLE DE MATIERE**

**LISTE DE FIGURES**

**LISTE DES TABLEAUX**

**LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES**

**INTRODUCTION GENERALE** **01**

**CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

**I.1.INTRODUCTION** **03**

**I.2. LES EMULSIONS** **04**

I.2.1. **Composition des émulsions** **05**

**I.2.2. Les émulsifiants** **06**

**I.2.3. Classification des émulsions** **06**

I.2.3.1.Émulsions simples **07**

I.2.3.2.Émulsions multiples **08**

I.2.3.3. Microémulsions **09**

**I.2.4. Caractérisation des émulsions** **09**

I.2.4.1.Contrôle macroscopique **09**

I.2.4.2. Examen microscopique **09**

I.2.4.3. Détermination du sens de l'émulsion **10**

a. Méthode de coloration **10**

b. Méthode de dilution **10**

c. Méthode par la mesure de conductivité **10**

I.2.4.4.Granulométrie d'émulsion **10**

I. 2.4.5. Analyse rhéologique **11**

**I. 3. PHENOMENE D'INSTABILITE DES EMULSIONS** **11**

**I. 3.1. Migration des gouttes** **12**

I. 3.1.1. Sédimentation et crémage **12**

I. 3.1.2. Floculation **12**

**I. 3.2. Variation de taille des gouttes** **13**

I. 3.2.1. Coalescence **13**
I. 3.2.2. Mûrissement d'Ostwald ou diffusion moléculaire **14**
I. 3.2.3. Inversion de phase **14**
**I. 4. TECHNIQUES DE STABILISATION DES EMULSIONS** **15**
**I. 4.1. Stabilisation électrostatique** **16**
**I.4.2. Stabilisation stérique** **16**
**I. 4.3. Stabilisation électrostérique** **16**
**I.4.4. Stabilisation rhéologique** **17**
**I. 5. EMULSIONS STABILISEES PAR DES POLYSACHARIDES** **17**
**I. 5.1. Stabilisation sans adsorption aux interfaces** **17**
**I. 5.2. Stabilisation avec adsorption aux interfaces** **18**
**I.6. POLYSACHARIDES** **19**
**I. 6.1.Classification des polysaccharides** **20**
**I. 6.2. Dispersion aqueuse des polysaccharides** **20**
**I. 6.3. Propriétés fonctionnelles des polysaccharides** **20**
**I. 6.4. Polysaccharides modifiés** **21**
I. 6.4.1 Généralités **21**
I. 6.4.2. Réactions d'éthérification **22**
I. 6.4.2.1. Réaction avec un époxyde alkylique **23**
I. 6.4.2.2. Réaction avec un halogénure d'alkyle **23**
**I. 6.5. Polysaccharides modifiés par microondes** **24**
I. 6.5.1. Synthèse sous micro-ondes **25**
I.6.5.2.Spécificité de l'activation micro-onde **26**
I.6.5.3.Application aux polysaccharides **26**
**I. 7. LES CARRAGHENANES** **26**
**I. 7.1. Historique** **28**
**I. 7.2. Définition et origine des carraghénanes** **29**
**I. 7.3. Extraction des carraghénanes** **29**
**I. 7.4. Le Kappa-carraghénane** **31**
I. 7.4.1. Propriétés du κ-carraghénane **32**
I. 7.4.2. Modification chimique du κ-carraghénane **31**
**I.8. DOMAINE D'UTILISATION DU KAPPA CARRAGHENANE** **32**

**I.9.CONCLUSION** **34**

**CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES EXPERIMENTALE**

**II.1. INTRODUCTION** **35**

**II.2. MATERIELEETPRODUITS** **35**

**II 2.1. Matériel** **35**

**II.2.2. Produits chimiques** **36**

**II.2.3. Biopolymère : kappa carraghénane** **36**

**II.3. METHODES** **37**

**II.3.1. Modification chimique du Kappa carraghénane** **37**

**II.3.2. Caractérisation physico-chimique des dérivés de kappa carraghénane** **40**

II.3.3.1. Identification par FTIR **40**

II.3.3.2. Analyse conductimétrique **41**

II.3.3.3. Point de fusion **41**

II.3.3.4. Analyse viscosimétrique **42**

**II.3.4. Etude des propriétés antibactériennes des dérivés de KC** **43**

**II.3.5. Evaluation du pouvoir émulsifiant** **45**

II.3.5.1. Préparation des émulsions **45**

II.3.5.2. Caractérisation des émulsions **45**

a. Aspect macroscopique **45**
b. Aspect microscopique **45**
c. Mesure de la viscosité **46**
d. Etude de Stabilité **46**

**II.4. CONCLUSION** **47**

**CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS**

**III.1.INTRODUCTION** **48**

**III.2. Résultats et discussions** **48**

**III.2.1. Analyse infrarouge (FTIR)** **48**

**III.2.2. Préparation des émulsions** **52**

**III.2.3. Contrôle qualité des émulsions** **53**

**III.2.3.1. Examen microscopique des émulsions** **53**

**III.2.3.2. Etude de la stabilité des émulsions** **57**

**a. Stabilité à la centrifugation** **57**

**b. Stabilité en temps réel** **58**

**III.3. CONCLUSION** **58**

**CONCLUSION GENERALE** **59**

## CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

**Figure I.1.** Représentation classique des tensioactifs **05**

**Figure I.2.**Schéma de l'orientation des tensioactifs dans deux types d'émulsion **06**

**Figure I.3.** Représentation des deux types d'émulsions simples : Emulsion H/L et Emulsion L/E **07**

**Figure I.4.**Types d'émulsion doubles **08**

**Figure I.5.** Phénomènes de crémage et de sédimentation **11**

**Figure I.6.** Phénomène de floculation **12**

**Figure I.7.** Phénomène de coalescence **13**

**Figure I.8.**Phénomène de mûrissement d'Ostwald **13**

**Figure I.9.** La double couche électrique **15**

**Figure I.10.** Schématisation de la stabilisation stérique **16**

**Figure I.11.**Structure générale des polysaccharides **18**

**Figure I.12.** Dispersion de poudres de polysaccharides dans une solution aqueuse **19**

**Figure I.13.** Différentes réaction d'éthérification (a, b, c)et estérification (d, e, f) des Polysaccharides **21**

**Figure I.14.** Réaction d'éthérification des polysaccharides avec de l'époxyde alkylique **22**

**Figure I.15.** Réaction d'éthérification des polysaccharides avec les halogénures d'alkyle R-X **23**

**Figure I.16.**Schéma de principe d'un four à micro-ondes **24**

**Figure I.17.** Source de carraghénane (Algues rouges Eucheuma) **27**

**Figure I.18.** Structures du κ, ι et λ carraghénane **28**

**Figure I.19.** Structure de kappa carraghénane **29**

**Figure I.20.** Gélification des carraghénanes **31**

**Figure 1.21.** Modifications chimiques du κ-carraghénane **32**

## CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES EXPERIMENTALE

**Figure II.1.** Aspect et structure du kappa carraghénane (KC) **37**

**Figure II.2.**Différente étape dumodification chimique du Kappa carraghénane **39**

**Figure II.3**. Schéma représentant les principaux éléments d'un spectromètre IR. **40**

**Figure II.4.** Stades de fusion des substances **42**

**Figure.II.5**. Viscosimètre (HAAKE, Visco-Tester VT5) **43**

## CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Figure III.1**. Spectre FTIR représentant la transmittance en fonction du nombre d'ondes du Kappa Carraghénane (KC) **49**

**Figure III.2**. Spectre FTIR représentant la transmittance en fonction du nombre d'onde Du dérivé KC VN. **50**

**Figure III.3**. Spectre FTIR représentant la transmittance en fonction du nombre d'onde Du dérivé KC µondes. **50**

**Figure III.4**. Spectre FTIR représentant la transmittance en fonction du nombre d'ondes de KC et ses dérivés. **51**

**Figure III.5.** Dispersion de la phase huileuse dans la phase aqueuse en présence de KC et ses dérivés **52**

**Figure III.6.** Micrographes des émulsions : **E1** stabilisée par KC à 0.75 %, **E2** stabilisée par KC à 1 %. **54**

**Figure III.7.** Micrographes des émulsions : **E3** stabilisée par KCR VN à 0.75 %, **E4** stabilisée par KCR VN à 1 %. **55**

**Figure III.8.** Micrographes des émulsions : **E5** stabilisée par KCR µondes à 0.75 %, **E6** stabilisée par KCR µondes à 1 %. **56**

## CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES EXPERIMENTALE

**Tableau II.1.** Appareillage utilisé dans la synthèse **36**

**Tableau II.2.** Produits chimiques utilisés. **36**

**Tableau II.3.**Propriétés physico-chimiques de kappa carraghénane **37**

**Tableau II.4.** Classification de souches bactériennes testées **44**

**Tableau II.5.** Composition du milieu Mueller Hinton **44**

## CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau III.1.** Composition des émulsions H/E. **53**

**Tableau III.2.** Résultats du test de stabilité par centrifugation des émulsions étudiées. **57**

**η**: viscosité

**(ι) :** Iota carraghénanes

**(κ)** : Kapp carraghénane

**(λ) :** Lamda

**(*N*)** : Newton

**°C** : degré  celsius

**µonde** : micro-onde

**A** : surface

**CMC** : cellulose carboxyméthylique

**d** : densité

**E** : émulsion

**E\H** :  l'eau dans huile

**E-coli** : Escherichia coli

**F** : une force

**FTIR** : Fourier Transformed Infra Redspectroscopy

**g\l** : concentration massique

**GHz** : Giga hertz

**H ou E** : phase hydrophile

**H** : heure

**H/L/H** : huile dans l'eau dans l'huile

**H\E** : huile dans l'eau

**$H_2O$** : eau

**HEC** : cellulose hydroxyéthylique

**HPC** : cellulose hydroxypropylique

**Hz** : hertz

**IR** : infra rouge

**KC** : kappa carraghénane

**KCR VN** : kappa carraghénane modifié par voie normale

**KCRs** : kappa carraghénane modifiés

**KOH** : Hydroxyde de potassium

**L ou H** : phase lipophile

**L/H/L** : l'eau dans l'huile dans l'eau

**l'IUPAC:** International Union of Pure and Applied Chemistry

**N** : noramlité

**NaCl** : Chlorure de sodium

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

$NH_3^+$ : ammoniac

**Nm** : nano-métre

**OH** : hydroxyle

**pH** : Potentiel hydrogène

**QSP** : quantité suffisante pour

**r** : rayon de la particule

**R** : réactif

**RX** : halogénures d'alkyl

**TBAOH**: tetrabutyl ammonium

**tr/mn** : tour par minute

**UV-Vis** : ulra violet – visible

# *INTRODUCTION GENERALE*

A l'heure actuelle, les émulsions sont très utilisées dans plusieurs types d'industrie, notamment les industries pharmaceutiques, cosmétique, agroalimentaire, les peintures, l'agrochimie et l'industrie pétrolière. Dans l'industrie pharmaceutique, les applications sont nombreuses telles que les émulsions parentérales, les émulsions topiques et les émulsions orales ou ophtalmiques. Du fait de cette large étendue d'utilisation, de nombreuses études sont en cours pour essayer de mieux contrôler comprendre le comportement de cette forme galénique[1].

La formulation d'une émulsion semble être bien sûr simple, En revanche, la rendre stable est bien plus délicat, car l'équilibre thermodynamique d'un mélange de deux fluides conduit à la séparation des deux phases, donc à la déstabilisation de l'émulsion. A cet effet, l'utilisation des agents stabilisants est nécessaire. Souvent les agents émulsifiants et stabilisants les plus couramment utilisés dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques sont des produits de synthèse chimique. Ces tensioactifs synthétiques sont potentiellement irritants, et il serait intéressant de les remplacer par d'autres molécules naturelles afin de développer des émulsions pharmaceutiques et cosmétiques qui s'inscrivent dans la tendance actuelle de produits naturels et biodégradables[2].Deux stratégies sont actuellement étudiées pour stabiliser les émulsions qui sont respectivement la stabilisation à l'aide de particules solides et la stabilisation à l'aide de biopolymères [2] . Au cours de cette étude, cette deuxième approche a été développée.

Les biopolymères tels que les polysaccharides sont des exemples de stabilisants et émulsifiants naturels utilisé dans la formulation d'émulsions grâce à leurs propriétés de surface et de gélification[3]. Certains polysaccharides possèdent une activité de surface et sont alors capables de stabiliser les émulsions en s'adsorbant à l'interface des deux liquides[4]. Le plus connu, le Kappa carraghénane (KC) est certes très utile sous sa forme

native, mais il est parfois nécessaire de recourir à des modifications chimiques afin d'élargir ses domaine d'utilisation en améliorant ses propriétés physico-chimiques.

On s'intéresse dans cette présente étude à la modification chimique de KC afin de lui conférer des propriétés de surface, permettant la formulation d'émulsions simples stabilisées par les dérivés (KCRs) de Kappa carraghénane modifié.

Pour ce faire, ce mémoire est structuré en trois chapitres :

- La première partie ou le chapitre 1, a été consacré à une revue bibliographique, dans laquelle sont abordées, les différentes notions théoriques utiles. A cet effet, une étude générale sur les émulsions (classification, propriétés, caractérisation) a été présentée. Les polysaccharides seront ensuite présentés suivis d'une étude détaillée sur le biopolymère utilisé dans cette étude (kappa carraghénane). Enfin, un résumé sur les émulsions stabilisées par des polymères, spécialement les polysaccharides a été reporté.
- La deuxième partie quant à elle a été consacrée au matériel et méthodes. Dans ce deuxième chapitre, on retrouve l'ensemble du matériel et équipements utilisés pour la synthèse et la caractérisation physicochimiques des produits de synthèse obtenus tels que : l'analyse infrarouge (FTIR), la détermination du point de fusion et l'étude du pouvoir émulsifiant du KC et de ses dérivés.
- Enfin, la troisième partie, englobe l'ensemble des résultats expérimentaux obtenus à partir des tests physico-chimiques d'analyse, ainsi que l'interprétation et la discussion de chaque résultat.

Ce travail est enfin, clôturé par une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus.

# *CHAPITRE I*

# *REVUE BIBLIOGRAPHIQUE*

**I.1. Introduction**

La fabrication des émulsions est connue depuis l'antiquité, mais leur étude scientifique ne date que du début du vingtième siècle. Depuis, la connaissance et l'utilisation des émulsions dans différentes applications a pris une ampleur extraordinaire.

Le terme « émulsion » désigne un système colloïdal comprenant au moins deux liquides non miscibles (habituellement l'eau et l'huile), dont l'un est dispersé en petites gouttes dans une phase continue constituée par l'autre liquide, sous une forme plus ou moins stable. Les émulsions sont constamment présentes dans notre quotidien et les domaines où on les rencontre sont très nombreux. Il est possible de les retrouver à l'état naturel (lait), comme produit temporaire de certains procédés industriels (polymérisation en émulsion), comme produit indésirable (exploitation des gisements pétroliers), ou enfin comme produits finis ou d'usage courant (vinaigrette, mayonnaise, crèmes, shampoings, peintures, bitumes, etc.) [1] .

L'élaboration des émulsions est une opération dont le principal enjeu est de combiner de façon adéquate les propriétés physico-chimiques des constituants de l'émulsion et les conditions hydrodynamiques liées à la technique mise en œuvre pour réaliser l'émulsification. Ce sont des systèmes thermodynamiquement instables, qui sont donc sujet à une déstabilisation se traduisant par un état final de séparation des phases [2]. Le formulateur peut ralentir ou inhiber les mécanismes physiques conduisant à la démixtion et permettre ainsi la formation d'une émulsion plus stable dans le temps. Ceci s'effectue bien souvent par l'ajout d'agents tensioactifs. Le principal rôle de ces derniers est d'abaisser la tension interfaciale entre les deux liquides non miscibles donnant lieu à la formation de gouttelettes de plus petite taille sous agitation mécanique et formant un film protecteur autour de ces gouttelettes pour ainsi limiter leur agrégation.

Les agents émulsifiants et stabilisants les plus couramment utilisés dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques sont des produits de synthèse chimique. Ces tensioactifs synthétiques sont potentiellement irritants [3], et il serait intéressant de les remplacer par d'autres molécules naturelles afin de développer des émulsions pharmaceutiques et cosmétiques qui s'inscrivent dans la tendance actuelle de produits naturels et biodégradables .

Dans ce chapitre, nous abordons tout d'abord une étude générale sur les émulsions (classification, propriétés, caractérisation). Les polysaccharides seront ensuite présentés suivis d'une étude détaillée sur le biopolymère utilisé dans cette étude (kappa

carraghénane) ; il s'ensuit une étude sur les émulsions stabilisées par des polysaccharides modifiés.

**I.2. Les émulsions**

Une émulsion est, selon la définition courante, une dispersion d'un liquide en fines gouttelettes dans un autre liquide, les deux liquides étant non miscibles :

- Le liquide sous forme de gouttelettes est qualifié de phase dispersée, phase discontinue ou phase interne.
- L'autre liquide est appelé phase dispersante, phase continue ou phase externe [4].

Les deux phases non miscibles de l'émulsion n'ont pas la même solubilité. L'une est hydrophobe ou lipophile, on parle couramment de phase huileuse (mais elle n'est pas forcement lipidique). L'autre est hydrophile, on parle aussi de phase aqueuse.

La définition traditionnelle de l'émulsion comme dispersion liquide/liquide a été modifiée par **l'IUPAC** (International Union of Pure and Applied Chemistry) pour y inclure les cristaux liquides (le cristal liquide désignant un état combinant les propriétés d'un liquide conventionnel et celles d'un solide cristallise).

Une émulsion est donc une dispersion liquide/liquide ou cristal liquide/liquide. Le système ainsi créé ne correspond pas à un état thermodynamiquement stable, l'état le plus stable consisterait en la séparation macroscopique des deux fluides.

**I.2.1. Composition des émulsions**

La composition principale d'une émulsion est une phases huileuse (lipophile) et une phase aqueuse (hydrophile) :

- ***La phase huileuse***, appelée également phase grasse, phase lipophile ou phase organique, comporte des huiles, des cires et des graisses (respectivement liquides, solides ou semi-solides à température ambiante) d'origine végétale, animale ou minérale. Des substances synthétiques dérivées ou non de substances naturelles sont aussi utilisées. La phase huileuse d'une émulsion est généralement composée d'un mélange d'ingrédients.
- ***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.

En fonction du type d'émulsion (alimentaire, cosmétique, pharmaceutique), des substances peuvent être ajoutées à l'une ou l'autre phase pour conférer au produit diverses

propriétés (augmentation de la durée de conservation, modification du gout, de la texture, de l'aspect, maintien de l'humidité, etc.).

Les additifs utilisés sont très variés. Ils se distribuent entre phase aqueuse et phase grasse suivant leur solubilité. Leur utilisation est soumise à une réglementation qui dépend du secteur industriel considère. Les produits pharmaceutiques et les produits cosmétiques de soin comportent d'autre part au moins un principe actif (appelé actif ou ingrédient actif pour les cosmétiques) dans l'une ou l'autre phase de l'émulsion.

### I.2.2. Les émulsifiants

Les émulsions conventionnelles sont des systèmes thermodynamiquement instables qui se séparent, plus ou moins rapidement, en deux phases. On parle de systèmes hors équilibre. En raison de cette instabilité les émulsions industrielles comportent toujours des émulsifiants, ou émulsionnants, formant un film interfaciale, ou film mince, ou membrane interfaciale, autour des globules de phase dispersée. Il s'agit le plus souvent de petites molécules amphiphiles appelées tensioactifs, surfactifs, surfactants ou agents de surface. La schématisation classique des tensioactifs met en évidence un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe (Figure I.1).

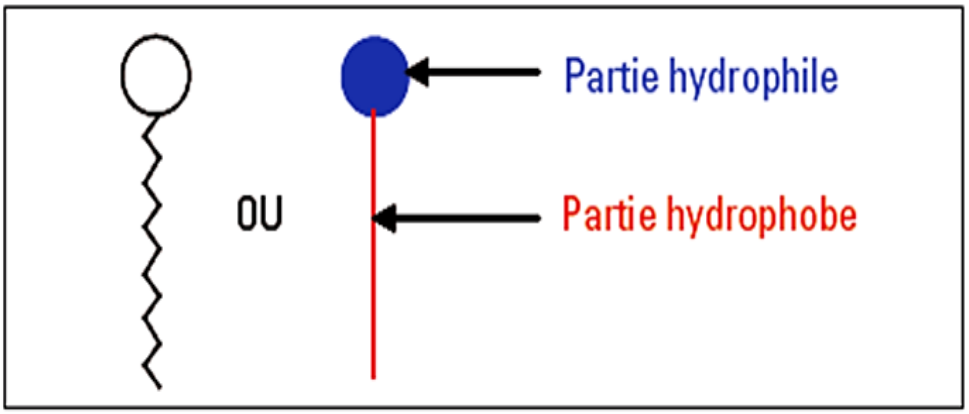



**Figure I.1.** Représentation classique des tensioactifs

Grâce à la "tête" hydrophile et à la "queue" hydrophobe, le tensioactif a une affinité avec les phases hydrophiles et les phases non hydrophiles (lipophiles). Il se place donc à l'interface de ces deux phases et permet de faire chuter la tension interfaciale. Ceci permet donc de solubiliser deux phases initialement non miscibles. Dans le cas des émulsions, le tensioactif utilisé est appelé émulsifiant ou émulsionnant. Il aura une affinité avec la phase hydrophile (H ou E) et une affinité avec la phase lipophile (L ou H). Les

tensioactifs sont essentiels dans les émulsions. Ce sont eux qui facilitent, en abaissant la tension interfaciale, la formation de l'émulsion. Lors de la préparation d'une émulsion, une étape d'agitation permet aux tensioactifs de faciliter la dispersion d'une phase dans l'autre sous forme de gouttelettes. Ils assurent également la stabilité d'une émulsion dans le temps (de manière relative) en inhibant la coalescence des gouttes. En fonction du type d'émulsion, l'orientation des tensioactifs ne sera pas la même. En effet, dans le cas d'une émulsion Huile dans Eau, la tête hydrophile est placée à l'extérieur des gouttelettes et inversement dans le cas d'une émulsion Eau dans Huile (Figure I.2)[5].

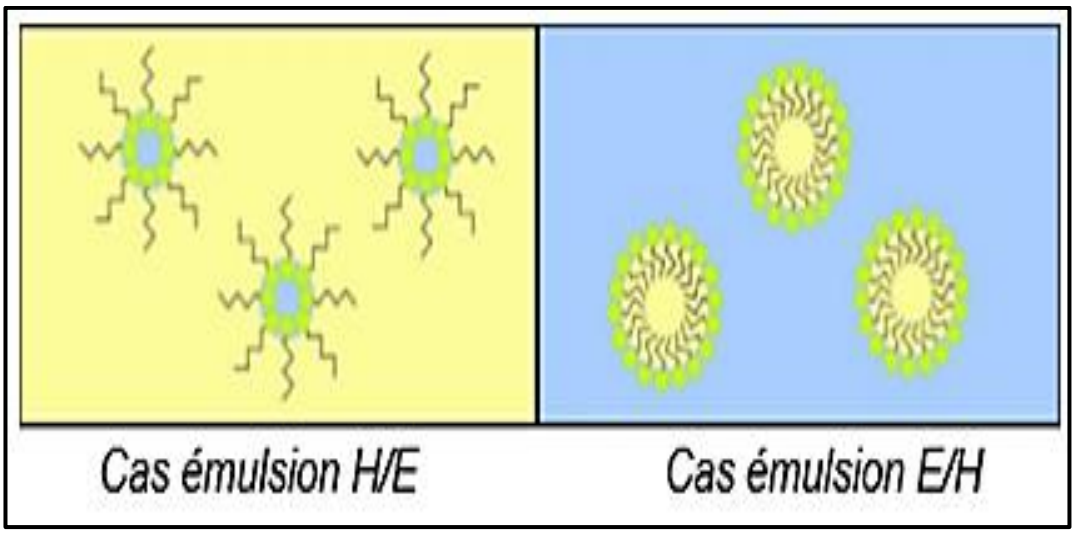



**Figure I.2.**Schéma de l'orientation des tensioactifs dans deux types d'émulsion[5]

### I.2.3. Classification des émulsions

Les émulsions peuvent être classées selon leurs types et le nombre de phases comme suivant :

#### I.2.3.1.Émulsions simples

Elles sont composées d'une phase lipophile (L ou H), d'une phase hydrophile (H ou E) et d'un émulsifiant. Suivant que la phase continue est lipophile ou hydrophile, on définit deux types d'émulsions [4]**.** Les symboles utilisés (L ou H) désignent toujours la phase dispersée en premier. Les émulsions de type huileux étant les moins courantes, elles sont parfois appelées émulsions inverses. La figure (I.3) donne une représentation schématique des deux types d'émulsions.

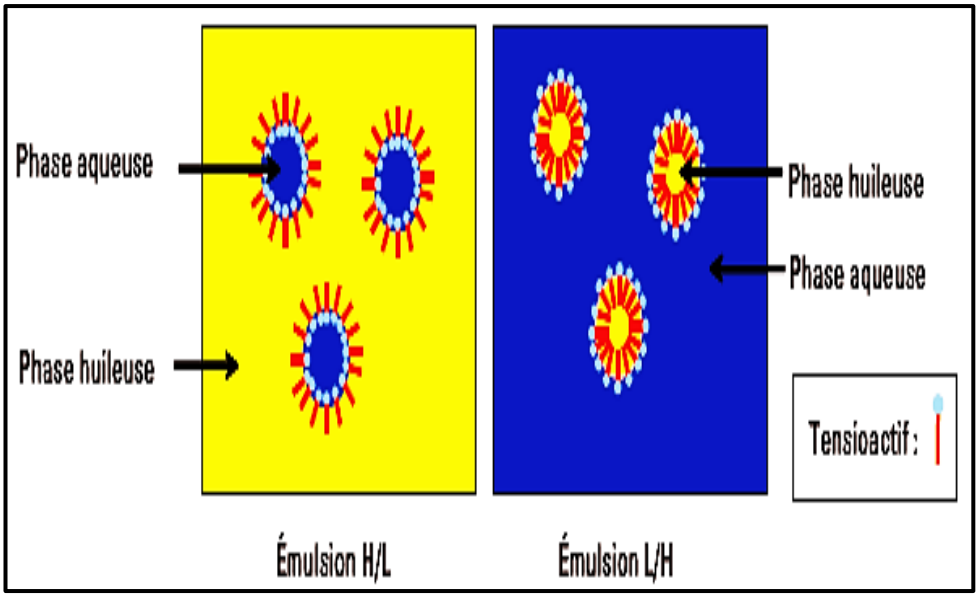



**Figure I.3.** Représentation des deux types d'émulsions simples : Emulsion H/L et Emulsion L/E[4]

En fonction de la taille moyenne des gouttelettes on distingue des émulsions plutôt grossières, appelées émulsions ou macroémulsions et des émulsions plus fines, submicroniques, appelées mini ou nano émulsions.

### I.2.3.2.Émulsions multiples

Il s'agit d'émulsions ou de dispersion d'une émulsion dans une phase dispersante :

- La dispersion d'une émulsion H/L dans une phase aqueuse (H) donne une émulsion H/L/H (ou E/H/E ou W/O/W).
- À l'inverse, la dispersion d'une émulsion L/H dans une phase huileuse (L) donne une émulsion L/H/L.

Ces deux exemples correspondent au cas le plus simple d'émulsions multiples : les émulsions doubles (Figure I.4).

On y distingue trois phases : interne / intermédiaire/ externe. Les sphères formées par la phase intermédiaire sont généralement qualifiées de globules, disperses dans la phase externe, et les sphères de phase interne sont appelées gouttelettes .[4]

Cette distinction n'existe pas pour les émulsions simples pour lesquelles les sphères de phase dispersée sont appelées indifféremment gouttelettes ou globules. Chaque phase peut contenir des ingrédients actifs différents, ce qui permet la présence d'actifs incompatibles, l'un en phase interne, l'autre en phase externe.Ce type d'émulsion permet aussi de

protéger un principe actif contenu dans l'eau interne ou l'huile interne ou, plus généralement, de séparer des ingrédients solubles mais ne devant pas être en contact dans la même phase.Les émulsions multiples sont surtout utilisées en pharmacie et en cosmétique. Leur formulation est plus complexe que celle des émulsions simples.

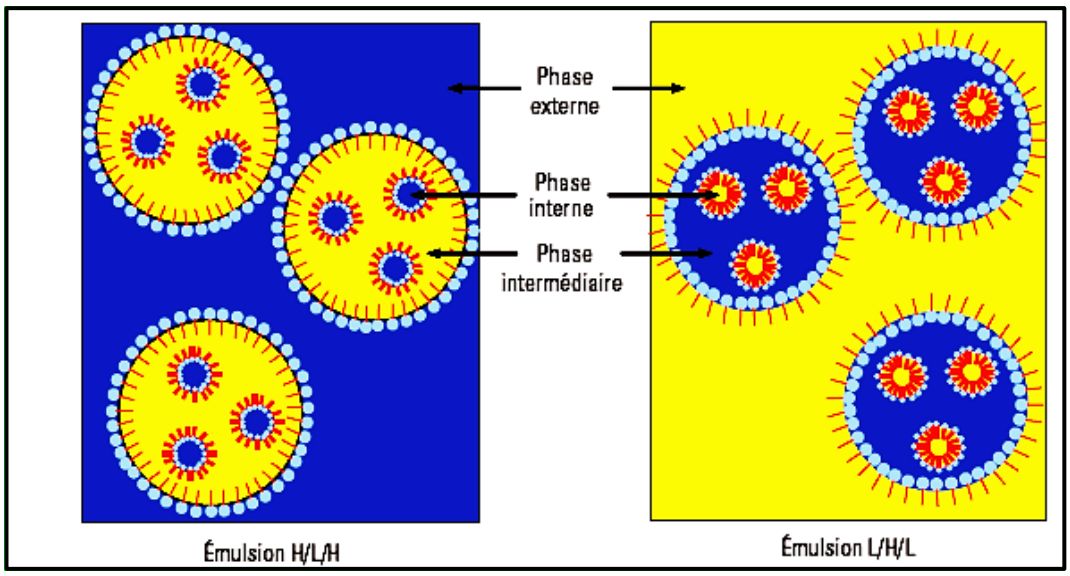



**Figure I.4.**Types d'émulsion doubles[4]

### I.2.3.3. Microémulsions

Le terme de Microémulsions a été introduit en 1959 par Schulman pour décrire des émulsions transparentes. Le plus souvent, les Microémulsions sont décrites comme des systèmes biphasique composent de gouttelettes très fines (10-200 nm), d'où leur aspect (lié au fait que les diamètres des gouttelettes sont inférieurs aux longueurs d'onde de la lumière visible). Mais une autre description en a été faite comme systèmes monophasiques obtenus grâce à un émulsifiant permettant la coexistence des molécules de la phase aqueuse et de la phase huileuse sous forme de micro domaines d'une dizaine de nanomètres: *« Les Microémulsions sont des mélanges d'eau, d'huile et d'amphiphile qui forment une phase unique à l'équilibre thermodynamique, au lieu de se séparer en une phase aqueuse et une phase huileuse »*[4].

La description la plus satisfaisante admet plusieurs structures en équilibre : une structure de type biphasique, avec des microgouttelettes dispersées, et une structure dite bicontinue.

Dans une microémulsion H/E, les molécules lipidiques sont solubilisées dans les micelles et dans une microémulsion E/H, les molécules d'eau sont solubilisées dans les micelles inverses[5].

### I.2.4. Caractérisation des émulsions

Une émulsion se caractérise par des grandeurs mesurables. Cette caractérisation peut être utile dans la phase de développement d'une nouvelle formule, mais elle est tout à fait indispensable pour l'étape de contrôle post-fabrication. Les critères principaux permettant de caractériser une émulsion sont : le sens de l'émulsion, la taille et la distribution de taille des gouttes (granulométrie), la stabilité et la rhéologie[6].

#### I.2.4.1.Contrôle macroscopique

- **Aspect** : il dépend de la nature des phases constituantes et de l'état du principe actif, il peut être brillant, satiné ou mat ou bien transparent, translucide ou opaque.
- **Consistance** : elle revêt différents qualitatifs, il est possible par exemple de décrire une rigidité compacte ou filante ou une gélification, ferme ou tremblante.
- **Homogénéité** : elle est primordiale et doit être vérifié au niveau de l'aspect qui est lisse ou granuleux et de la couleur [7].

#### I.2.4.2. Examen microscopique

L'examen microscopique est le premier essai effectué pour identifier les systèmes obtenus. Il constitue un excellent moyen pour suivre la stabilité de ces systèmes lors du vieillissement. Le microscope optique est une méthode d'analyse usuelle pour la multiplicité des systèmes, cette méthode permet d'avoir une idée sur la taille des globules internes souvent de l'ordre du micromètre [8]

#### I.2.4.3. Détermination du sens de l'émulsion

La phase continue d'une émulsion peut être de l'eau (émulsion H / E) ou de l'huile (émulsion E / H). Trois tests cités pour déterminer le sens d'émulsions sont fondés respectivement sur :

- **Méthode de coloration** : la coloration de l'une des phases (par exemple, addition d'un colorant hydrosoluble qui permet d'identifier la phase aqueuse).
- **Méthode de dilution** : la dilution par addition d'eau qui montre si ce liquide est compatible ou non avec la phase continue.
- **Méthode par la mesure de conductivité** : la mesure de la conductivité de phase externe est plus précise. En effet, une phase continue aqueuse a une conductivité plus élevée qu'une phase huileuse [9].

### I.2.4.4.Granulométrie d'émulsion

La granulométrie d'une émulsion correspond à la taille des gouttelettes de la phase dispersée : distribution de la taille et le diamètre moyen. C'est un paramètre très important qui est lié au processus de formulation. La distribution de la taille des gouttelettes et la polydispersité peuvent être mesurées au moyen de diverses techniques expérimentales telles que la diffraction laser [10],[11], la diffusion dynamique de la lumière [12],[13] et la microscopie optique.

### I.2.4.5. Analyse rhéologique

Récemment, les mesures rhéologiques sont devenues de plus en plus importantes pour pouvoir caractériser la consistance des émulsions. Elles sont maintenant requises dans le contrôle de la qualité, la stabilité au stockage, les effets de la formulation sur la cohérence et la prédiction du comportement d'écoulement dans la production (pour le pompage, le mélange et l'emballage) [14].

L'analyse rhéologique est réalisée à l'aide d'un rhéomètre où une fine couche de fluide est enfermée entre deux plaques d'une surface A ($m^2$). La plaque supérieure est forcée à se déplacer par une force $F$ ($N$), avec la vitesse $dx$ ($m$ / $s$), tandis que la plaque inférieure est fixe [15].

## I.3. Phénomène d'instabilité des émulsions

Les émulsions, instables thermodynamiquement, possèdent une stabilité cinétique, assurée le plus souvent par l'addition d'agents tensioactifs, de solides finement divisés [16], de polymères ou de macromolécules biologiques (émulsifiants). La stabilité des émulsions n'existe que parce que le formulateur est capable de ralentir ou d'inhiber les mécanismes physiques qui conduisent normalement à la démixtion des phases non miscibles. Au cours du temps, une émulsion évolue fatalement vers la séparation des phases.

Les mécanismes de déstabilisation d'une émulsion peuvent être répartis en deux catégories :

- La première regroupe les phénomènes de migration de gouttes et met en jeu des phénomènes réversibles (une agitation faible permet laredispersion).
- La seconde concerne la variation de taille des gouttes, consistant en des processus irréversibles[6].

### I.3.1. Migration des gouttes

Ce type d'instabilité regroupes plusieurs phénomènes qui sont essentiellement :

#### I.3.1.1. Sédimentation et crémage

Ce mécanisme résulte de la différence de densité entre la phase dispersée et la phase continue. On parle de crémage quand il s'agit d'une ascension de la phase dispersée et de sédimentation quand la phase dispersée chute (Figure I.5). C'est un phénomène réversible: l'interface existe toujours, il suffit d'agiter pour revenir à l'émulsion [17].

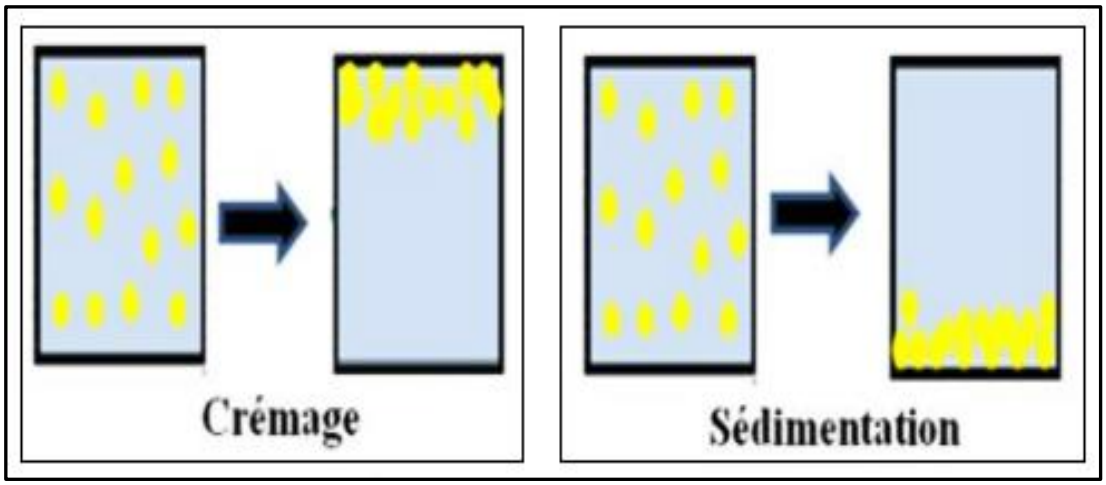



**Figure I.5.** Phénomènes de crémage et de sédimentation[18]**.**

La loi qui régit la vitesse du crémage d'une particule, dans une émulsion, est celle de Stockes [19] :

$$\upsilon = 2gr^2 \frac{(d2-d1)}{9\eta} \qquad \text{(I.1)}$$

Avec : r : rayon de la particule exprimé en $mm$, $d_1$ : densité de la phase dispersée, $d_2$ : densité de la phase dispersante, $\eta$: viscosité de la phase dispersante exprimée en $Pa.s$.

### I.3.1.2. Floculation

Ce mécanisme résulte de l'agrégation des gouttelettes due aux interactions attractives. L'énergie d'interactions entre les particules est due à la somme des forces de répulsions électrostatiques et au potentiel d'attraction de type Van der Waals (FigureI.6). Ce phénomène peut être réversible lorsque l'attraction est peu énergétique ou irréversible lorsqu'elle est très énergétique[17].

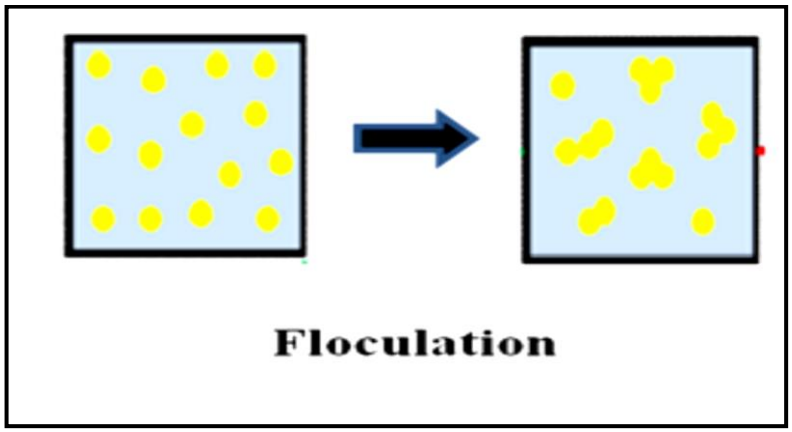



**Figure I.6.** Phénomène de floculation[18].

### I.3.2. Variation de taille des gouttes

Ce type d'instabilité regroupes plusieurs phénomènes qui sont essentiellement :

### I.3.2.1. Coalescence

Ce mécanisme, irréversible, résulte de la rupture du film interfaciale entre les gouttes de la phase dispersée (Figure I.7). Deux ou plusieurs gouttes fusionnent pour former une goutte plus grosse. Le processus se répétant, l'aire interfaciale devient de plus en plus petite et la phase dispersée démixe, et à terme on revient au système diphasique de départ. C'est un processus énergétiquement favorable [17].

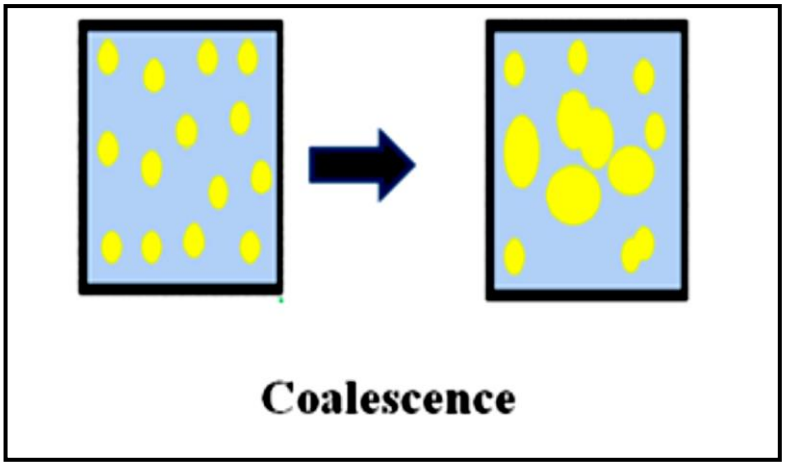



**Figure I.7.** Phénomène de coalescence [18]**.**

### I.3.2.2. Mûrissement d'Ostwald ou diffusion moléculaire

Il existe toujours une solubilité partielle de la phase dispersée dans la phase continue l'issue de l'étape d'Emulsification, la population de gouttelettes n'est pas homogène en taille (Figure 1.8). Il existe un flux de matière des petites vers les grosses gouttes, au travers de la phase continue. Les petites gouttes se vident au profit des grosses, et la granulométrie se modifie puisque les classes de faible taille disparaissent. Ce phénomène irréversible constitue le mûrissement d'Ostwald [17].

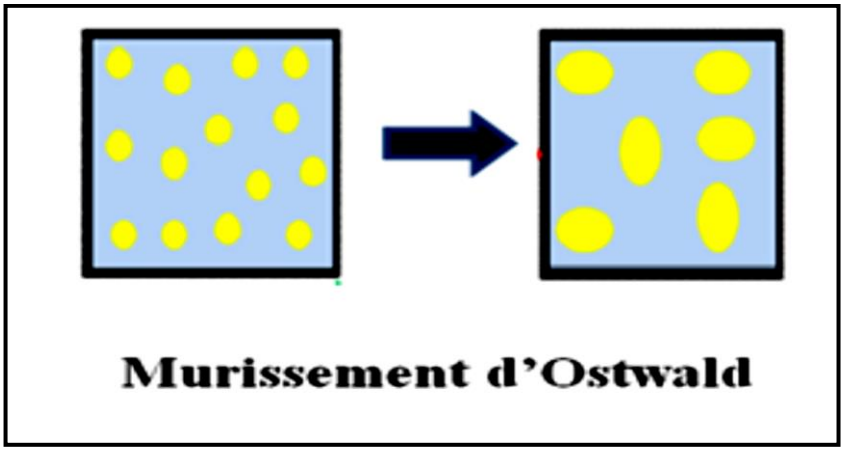



**Figure I.8.**Phénomène de mûrissement d'Ostwald[18].

### I.3.2.3. Inversion de phase

L'inversion de phase est un phénomène qui traduit par un changement du sens de l'émulsion c'est-à-dire une transformation d'une émulsion E/H en une H/E ou inversement. L'inversion de phase est aussi liée à d'autres facteurs tels que, la nature de la phase huileuse, la nature et la concentration des sels existant[18].

**I.4. Techniques de stabilisation des émulsions**

La stabilité de l'émulsion résulte de la stabilité physique (pas de séparation des phases), de la stabilité chimique (absence de réaction chimique) et de la stabilité microbiologique (pas de développement microbien). La stabilité physique peut être évaluée par deux méthodes :

- La première consiste à évaluer des échantillons stockés à différentes températures (de 0 à 40 ° C) et pour diverses périodes. Il peut également comprennent des cycles de refroidissement à chaud répétés.
- La seconde méthode consiste à augmenter les processus de sédimentation ou de crémage qui peuvent conduire à la coalescence par centrifugation [20].

Et comme il existe toujours des forces d'attraction fortes et à longue distance entre des particules de la phase dispersée d'une émulsion, il est nécessaire de prévoir une répulsion à grande distance entre les particules pour conférer une stabilité. Cette répulsion doit être au moins aussi forte que la force d'attraction et comparable dans la portée de l'interaction attrayante. Cette stabilité peut être obtenue par [21] :

- La stabilisation électrostatique ou de charge (La double couche électrique).
- La stabilisation stérique (Les molécules polymères adsorbées).
- La stabilisation électrostérique.
- La stabilisation rhéologique

**I.4.1. Stabilisation électrostatique**

Un moyen efficace de contrebalancer l'attraction entre les particules dans les liquides polaires est de fournir les particules de répulsion. Dans les milieux de dispersions liquides, les groupes ioniques peuvent s'adsorber à la surface d'une particule à travers différents mécanismes pour former une couche chargée. Pour maintenir l'électroneutralité, un nombre égal des contre-ions avec la charge opposée entourera les particules et donnera lieu à des couches doubles totales neutres en charge (Figure I.9). Dans la stabilisation de charge, c'est la répulsion mutuelle de ces couches doubles entourant des particules qui fournit la stabilité [21] .

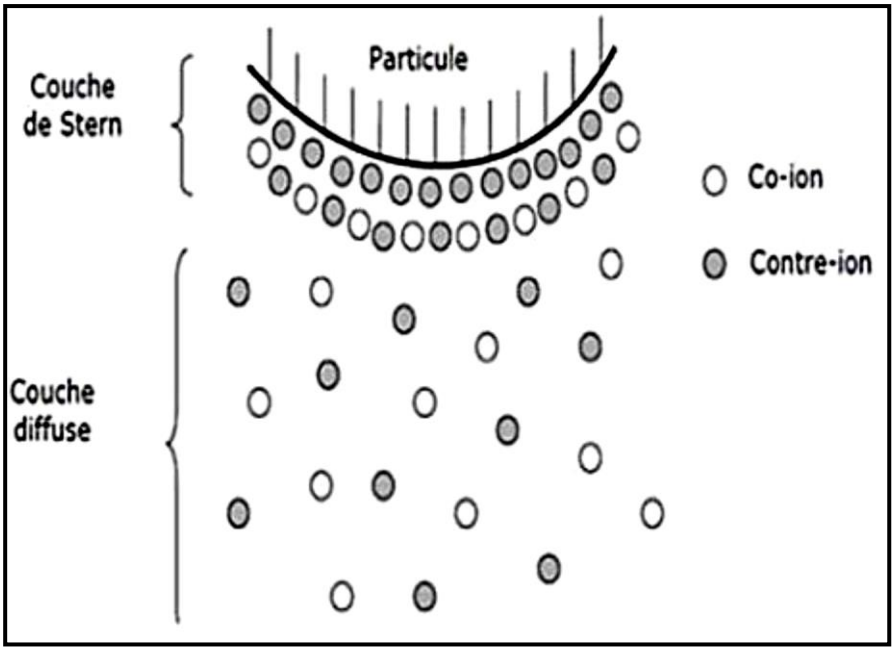



**Figure I.9.** La double couche électrique[22]**.**

La force ionique est importante dans la stabilité de l'émulsion car une force ionique élevée peut induire une floculation des gouttelettes si la concentration en électrolyte est suffisamment élevée pour cribler électrostatiquement la charge des gouttelettes [21]. Il faut noter que l'ajout d'un sel au système fait augmenter la force ionique, ce qui restreint la double couche en réduisant la portée de la répulsion, ce qui peut générer des effets d'agrégation[22].

**I.4.2. Stabilisation stérique :** Pour les polymères de poids moléculaire assez élevé, les dimensions de la chaîne sont comparables ou supérieures à la plage de l'attraction. Par conséquent, ils peuvent engendrer une répulsion. Ces molécules du polymère peuvent être utilisées pour conférer une stabilité. La stabilisation stérique des particules est obtenue par fixation de macromolécules sur les surfaces des particules (Figure I.10). La stabilisation due aux couches adsorbées sur la particule dispersée est généralement appelée stabilisation stérique [21].

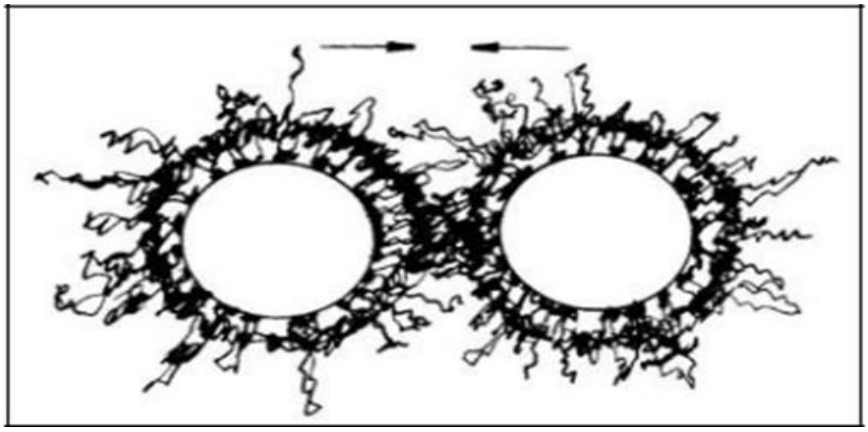


**Figure I.10.** Schématisation de la stabilisation stérique **[23]** .

### I.4.3. Stabilisation électrostérique

La stabilisation électrostatique et celle stérique peuvent être combinées en tant que stabilisation électrostérique. L'origine du composant électrostatique peut être une charge nette sur la surface des particules et / ou des charges associées au polymère fixé à la surface (c'est-à-dire à travers un polyélectrolyte fixé)[21].

### I.4.4. Stabilisation rhéologique

Il s'agit de l'incorporation d'additifs qui permettent d'augmenter la viscosité de la phase continue, tels que les polymères viscosifiants ou certains tensioactifs, de manière à ce que les gouttes dispersées soient moins mobiles et que la probabilité du choc diminue[22].

## I.5. Emulsions stabilisées par des polysaccharides

Les polysaccharides sont connus pour leurs propriétés de rétention d'eau et d'épaississement en raison de leur caractère hydrophile et de leur poids moléculaire élevé. Leur principal effet stabilisant de l'émulsion est la modification de la viscosité ou la gélification de la phase continue aqueuse, ce qui ralentit le mouvement et la rencontre des gouttelettes .Les polysaccharides peuvent être classés respectivement en composés non adsorbants et adsorbants[24].

- Stabilisation sans adsorption aux interfaces.
- Stabilisation avec adsorption aux interfaces.

### I.5.1. Stabilisation sans adsorption aux interfaces

Les polysaccharides sont connus pour leurs propriétés d'affinité élevée pour l'eau et d'épaississement et de leur poids moléculaire élevé. Leur effet de stabilisation des émulsions résulte principalement d'une modification de la viscosité ou la gélification de la phase continue aqueuse, ce qui ralentit le mouvement des gouttelettes et baisse leur chance de rencontre, freinant ainsi le phénomène de coalescence[25].

### I.5.2. Stabilisation avec adsorption aux interfaces

Certains polysaccharides sont dotés d'une activité de surface, comme la gomme Arabique, l'amidon modifié chimiquement ou les dérivés de cellulose, des hydro Colloïdes galactomannanes naturels (gomme de guar, gomme de fenugrec), pectine Acétylée provenant de la betterave à sucre, etc[26] .

L'activité superficielle rapportée et les propriétés émulsionnantes de ces composés sont principalement attribuées à la présence d'une fraction protéique, soit comme contaminant, soit liée de manière covalente dans un complexe (protéine: polysaccharide)[26]. La fonctionnalisation des polysaccharides les transformes en composés amphiphiles grâce au greffage de groupements hydrophobes qui se positionnent au niveau de l'interface Huile /Eau et permettent une stabilisation de l'émulsion.

### I .6. Polysaccharides

Les polysaccharides forment la famille de biopolymères la plus abondante et la plusdiverse [27]. Ils sont des macromolécules d'un très grand nombre de monosaccharides liés entre eux par des liaisons glycosidiques (Figure I.11). La longueur de la chaine, le nombre et le type d'unités constitutifs influent sur les propriétés fonctionnelles comme la viscosité, la capacité de rétention d'eau et la réticulation [28]. Si un polysaccharide ne contient qu'un seul type de molécule de monosaccharide, il est connu sous le nom d'homopolysaccharide, alors que s'il contient plus d'un type de monosaccharide on dit qu'il est un hétéropolysaccharide[29].

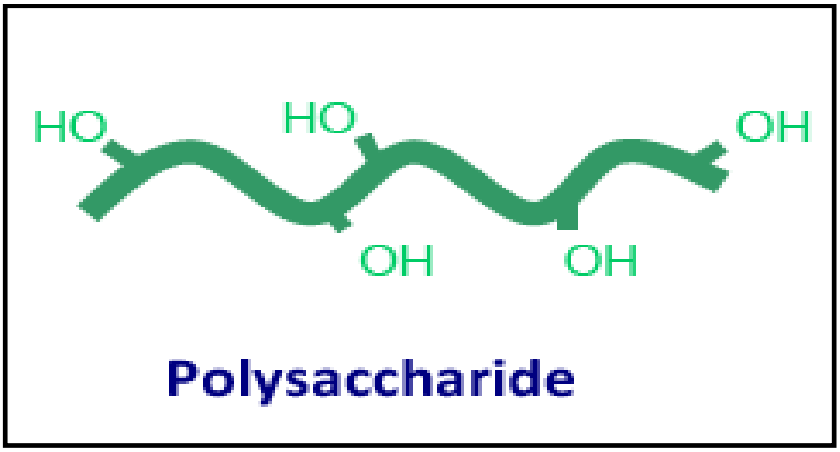



**Figure I.11.**Structure générale des polysaccharides [30]

### I.6.1.Classification des polysaccharides

Comme tous les polymères, les polysaccharides peuvent être classés selon plusieurscritères, notamment : leur charge, leur structure ou encore leur origine[31].

Les végétaux sont la source principale des polysaccharides qui sont divisés selon leur structure en deux groupes : les homopolysaccharides et les Hétéropolysaccharides : [32]

- ✓ Les homopolysaccharides formés d'un seul type de monosaccharide;
- ✓ Les hétéropolysaccharides constitués de plusieurs unités d'oses différents.

Selon leur charge, on distingue :

- ✓ Les polysaccharides anioniques : come les gommes arabique et pectine.
- ✓ Les polysaccharides cationiques : comme le chitosane.
- ✓ Les polysaccharides non-ioniques : comme la cellulose.

Les polysaccharides peuvent avoir differentes origines. Ainsi les polysaccharides se trouvent dans les bactéries, les algues, les champignons, les animaux et les végétaux [33] . On distingue :

- ✓ Origine algale : Carraghénans, Alginates, Aagar.
- ✓ Origine animale : Chitine et Chitosane.
- ✓ Origine végétale : Amidon et Cellulose.
- ✓ Origine microbienne (bactéries ou champignons): Glycane, Pullulane, Dextrane, Xanthane [31].

### I.6.2. Dispersion aqueuse des polysaccharides

Les polysaccharides ont une affinité pour l'eau du fait de la présence des fonctions hydroxyles. Lors de leur dispersion, les polysaccharides peuvent augmenter de volume jusqu'à 10 fois leur volume initial. Cette caractéristique leur confère des propriétés de rétention d'eau.

La dispersion des polysaccharides passe par une étape de gonflement des grains, suivie d'une solubilisation complète accompagnée de la structuration finale du mélange (Figure I.12)[34].Il est de ce fait nécessaire d'individualiser les grains de polysaccharides afin de faciliter le gonflement par hydratation avec les molécules d'eau. Pour cela, des agents dispersant peuvent être utilisés, qui contribuent à isoler les grains les uns des autres et permettent d'éviter leur agglomération (formation de grumeaux) au contact de l'eau. La formation de grumeaux peut également être limitée en ajoutant lentement la poudre de polysaccharide dans un liquide soumis à une forte agitation.

La solubilité des polysaccharides dépend de leur structure moléculaire. La présence de ramifications augmente leur solubilité. Les polysaccharides portant des charges électriques sont solubles sous forme saline, et deviennent insolubles sous forme acide.

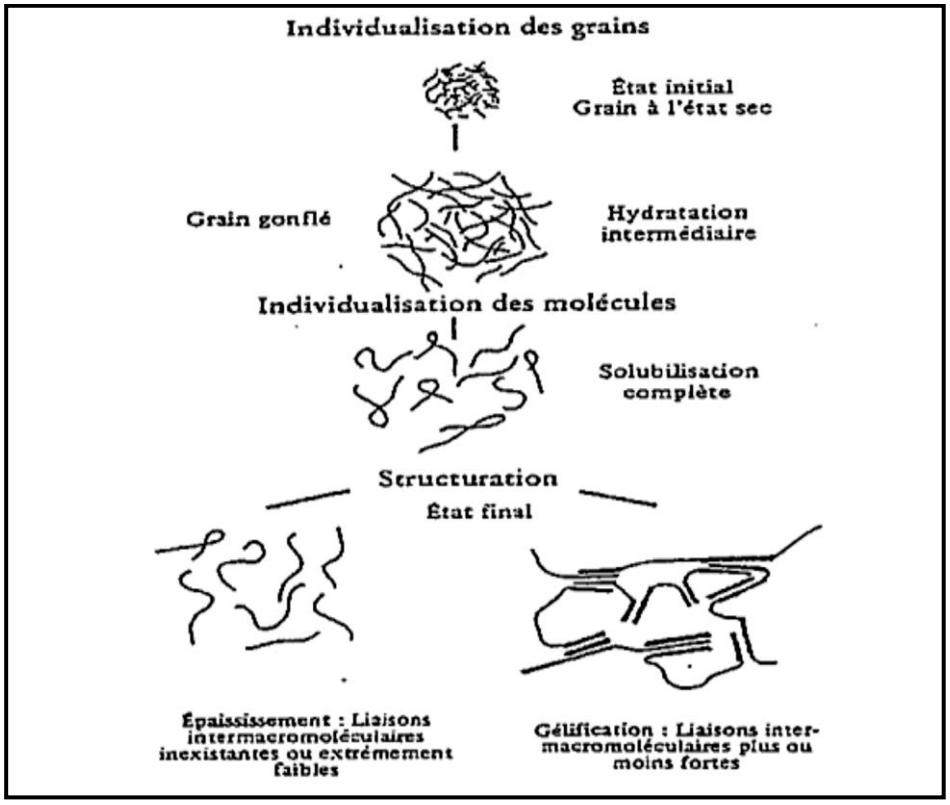



**Figure I.12.** Dispersion de poudres de polysaccharides dans une solution aqueuse.[34]

### I.6.3. Propriétés fonctionnelles des polysaccharides

Les polysaccharides possèdent différentes propriétés qui sont exploitées dans différents domaines industriels. Ils peuvent développer des viscosités élevées pour de faibles concentrations. De ce fait, ils sont largement utilisés comme agent texturant ou stabilisant dans l'industrie alimentaire, cosmétique, pharmaceutique. Leurs propriétés rhéologiques dépendant du temps (thixotropie) sont également exploitées dans la formulation des peintures. Ils possèdent également des propriétés de rétention en eau utilisées en pharmacologie. En outre ils possèdent des propriétés d'adhérence utilisées dans les encres à imprimer.

Des fortes sollicitations telles que les forts cisaillements des solutions des polysaccharides peuvent entrainer une dégradation mécanique qui peut résulter d'une dépolymérisation, qui peut entrainer une modification des propriétés rhéologiques de la solution.

### I.6.4. Polysaccharides modifiés

#### I.6.4.1 Généralités

La modification chimique des polysaccharides est considérée comme l'une des voies les plus importantes pour améliorer les propriétés de ces biopolymères[35]. Les biopolymères sous leur forme native offrent de multiples possibilités d'utilisation, mais présentent quand même l'inconvénient de ne pas pouvoir satisfaire tous les besoins de la formulation dans tous les domaines, ce qui conduit souvent les chimistes à une alternative très intéressante pour pallier à cet inconvénient et qui est la modification ou la fonctionnalisation de ces biopolymères. La fonctionnalisation permettra non-seulement de doter ces polymères de nouvelles propriétés et d'élargir leurs domaines d'utilisations mais aussi de limiter le recours à certains produits synthétiques nocifs pour le consommateur et l'environnement. Il existe plusieurs méthodes ou stratégies permettant la modification des bioplymères en fonction des objectifs à atteindre et des fonctions présentes dans la molécule du polymère. Dans le cas des polysaccharides, on s'intéresse le plus souvent aux fonctions alcools car c'est les fonctions majoritairement présentes dans la structure du polysaccharide, étant donné que c'est une chaine glucidique[36]. D'où le fait de recourir très couramment à des réactions d'estérification et d'éthérification en utilisant différentes méthodes et réactifs (Figure I.13).

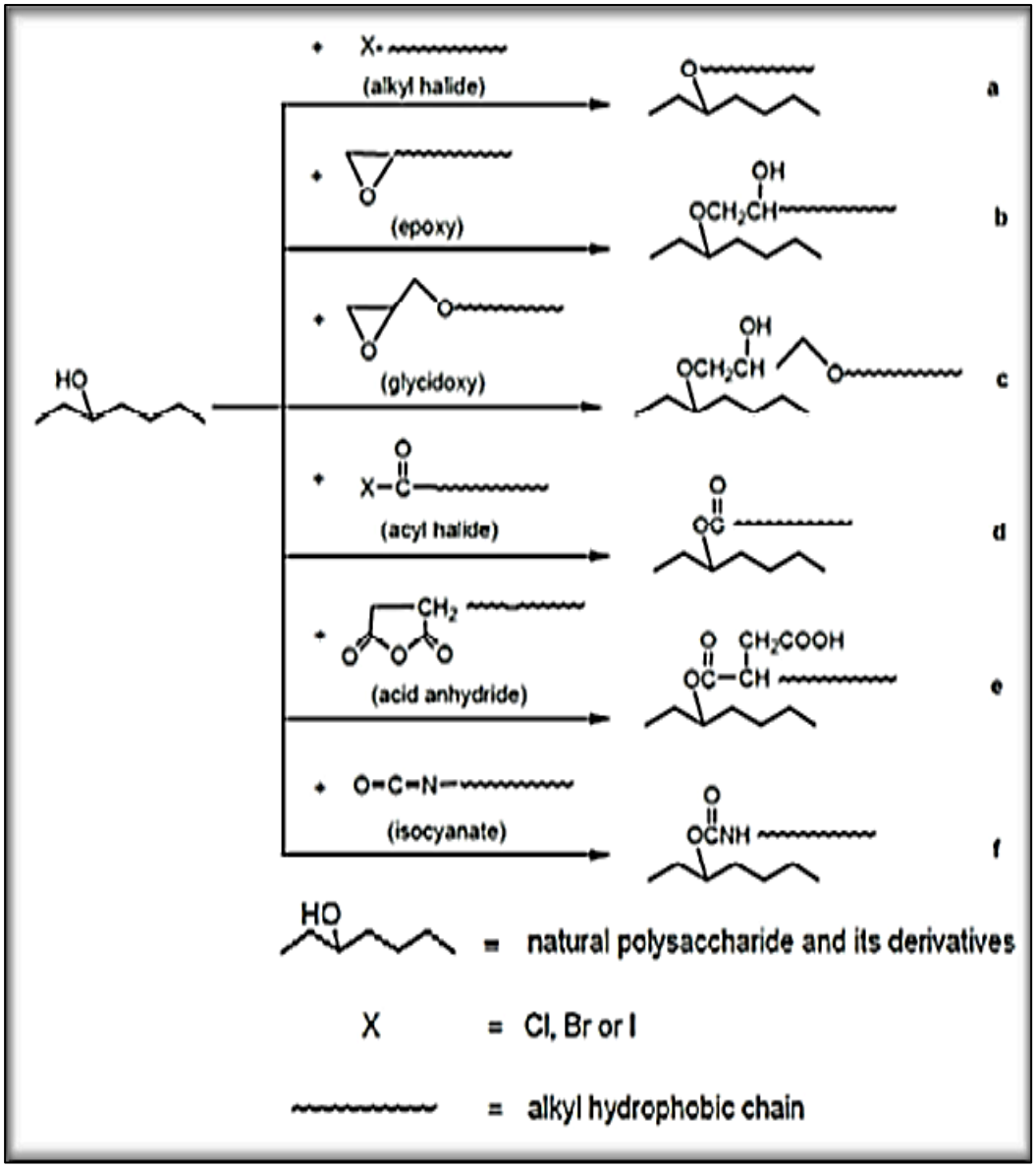



**Figure I.13.** Différentes réaction d'éthérification (a, b, c)
et estérification (d, e, f) des Polysaccharides[36]

### I.6.4.2. Réactions d'éthérification

Les réactions d'éthérification des polysaccharides ont lieu majoritairement selon deux stratégies :

#### I.6.4.2.1. Réaction avec un époxyde alkylique

Les dérivés d'époxyde sont les intermédiaires les plus utilisés pour la synthèse de Polysaccharides hydrophobiquement modifiés par l'intermédiaire de réactions d'éthérification. Deux catégories de produits sont le plus souvent utilisés : l'époxyde alkylique ou un éther glycidyl alkylique. D'une façon générale, le polysaccharide est d'abord mélangé à une base forte, telle que NaOH, KOH, ou hydroxyde de

tetrabutylammonium (TBAOH), sous atmosphère d'azote et l'agent d'éthérification (époxyde alkylique ou éther glycidylique alkylique) est plus tard ajouté au milieu de réaction. Pratiquement, la présence d'un catalyseur est nécessaire pour que l'addition nucléophile ait lieu (Figure I.14).

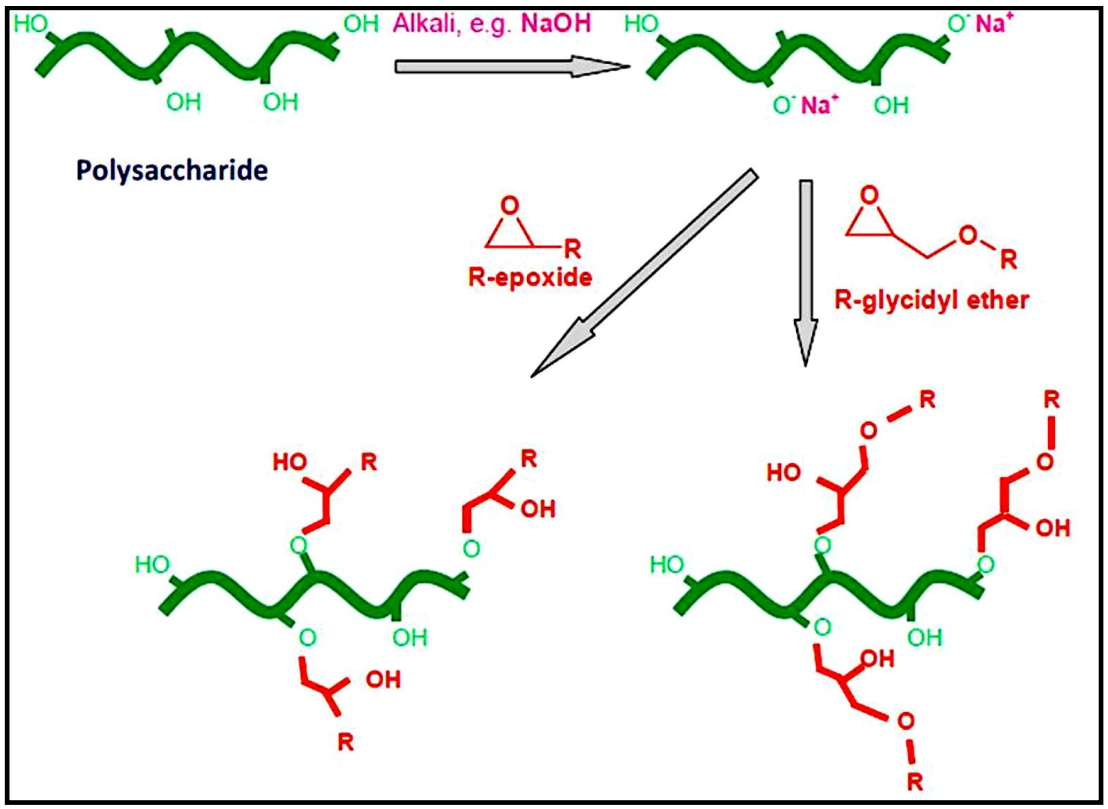



**Figure I.14.** Réaction d'éthérification des polysaccharides avec de l'époxyde alkylique[30] .

**I.6.4.2.2. Réaction avec un halogénure d'alkyle**

Cette réaction permet la préparation facile d'une variété de biomatériaux ayant des propriétés intéressantes. Les réactifs d'éthérification habituellement utilisés pour la modification sont des halogénures d'alkyl (RX) (Figure I.15). D'une façon générale, le polysaccharide est d'abord mélangé avec une base forte, par exemple, hydroxyde des odium aqueux, plus tard, l'alcoolate formé est mis à réagir avec l'halogénure d'alkyle, pour former les éthers alkyliques. Cette stratégie a été appliquée sur divers polysaccharides comprenant la cellulose et dérivés (cellulose hydroxyéthylique (HEC), cellulose carboxyméthylique (CMC), cellulose hydroxypropylique (HPC). Cette réaction est aussi connue sous le nom de réaction de Williamson et dont le mécanisme est celui d'une réaction de substitution nucléophile.

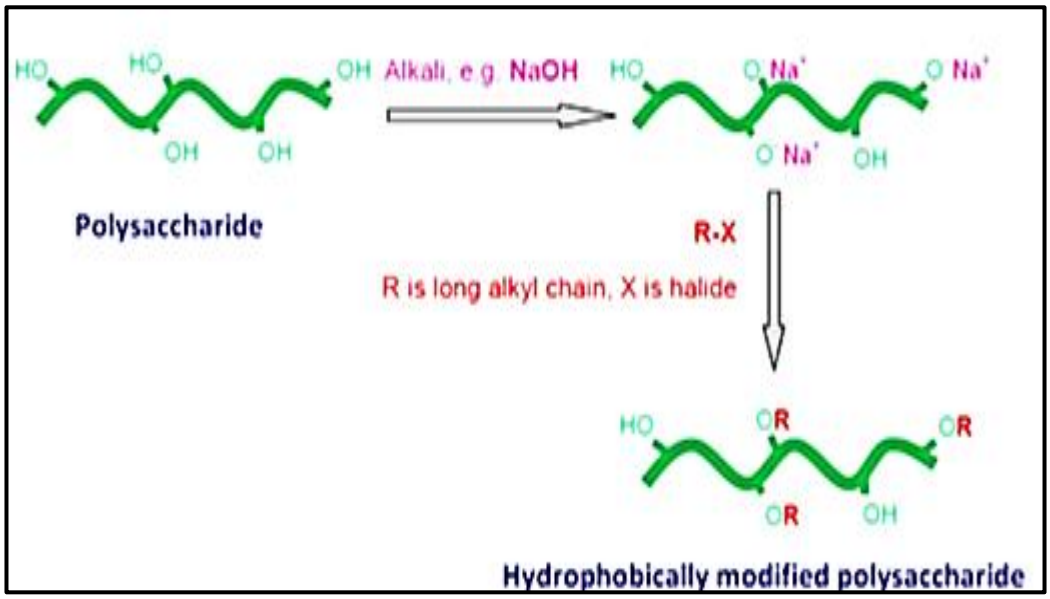



**Figure I.15.** Réaction d'éthérification des polysaccharides avec les halogénures d'alkyle R-X[30] .

### I.6.5. Polysaccharides modifiés par microondes

#### I.6.5.1. Synthèse sous micro-ondes

La synthèse sous micro-ondes est une technique de plus en plus utilisée pour les nombreux intérêts qu'elle présente comme sa simplicité, sa facilité de mise en oeuvre, sa rapidité et sa sélectivité. C'est au cours des années 1975 que les fours micro-ondes domestiques sont apparus dans les laboratoires [37]**.**Utilisés initialement pour sécher la verrerie ou réaliser des réactions de minéralisation, ce n'est que depuis le milieu des années 1980 que le four à micro-ondes s'est révélé être un bon équipement pour réaliser des synthèses organiques, remplaçant le célèbre « reflux »[38]. Un chauffage au cœur de la matière assurant un gain de temps considérable (les synthèses se font en quelques minutes) ainsi que l'augmentation de la sélectivité et du rendement d'un grand nombre de réactions ont fait que l'intérêt pour cette technique s'est très vite développé [39]. Mais l'activation micro-onde en four domestique se heurte à deux problèmes majeurs : celui de la surchauffe des solvants organiques et celui du non reproductibilité des résultats. En effet, dans un four micro-ondes domestique, un magnétron émet des hyperfréquences, ondes électromagnétiques de fréquence 2,45 GHz canalisées dans un guide d'ondes pour arriver au-dessus du plateau tournant. Ces ondes sont ensuite dispersées (on parle de four micro-ondes multi mode) par réflexions multiples sur les parois créant dans le four un chauffage hétérogène : des zones froides et des zone chaudes (ou zone de champ fort, «

hot spot »). C'est essentiellement ce problème d'hétérogénéité de champ qui est tenu comme responsable de la non-reproductibilité des résultats. Les industriels ont donc développé des fours monomodes où le champ d'ondes stationnaires est focalisé grâce à l'utilisation d'un guide d'ondes où les micro-ondes sont canalisées et concentrées sur l'échantillon de monter rapidement à haute température [40].

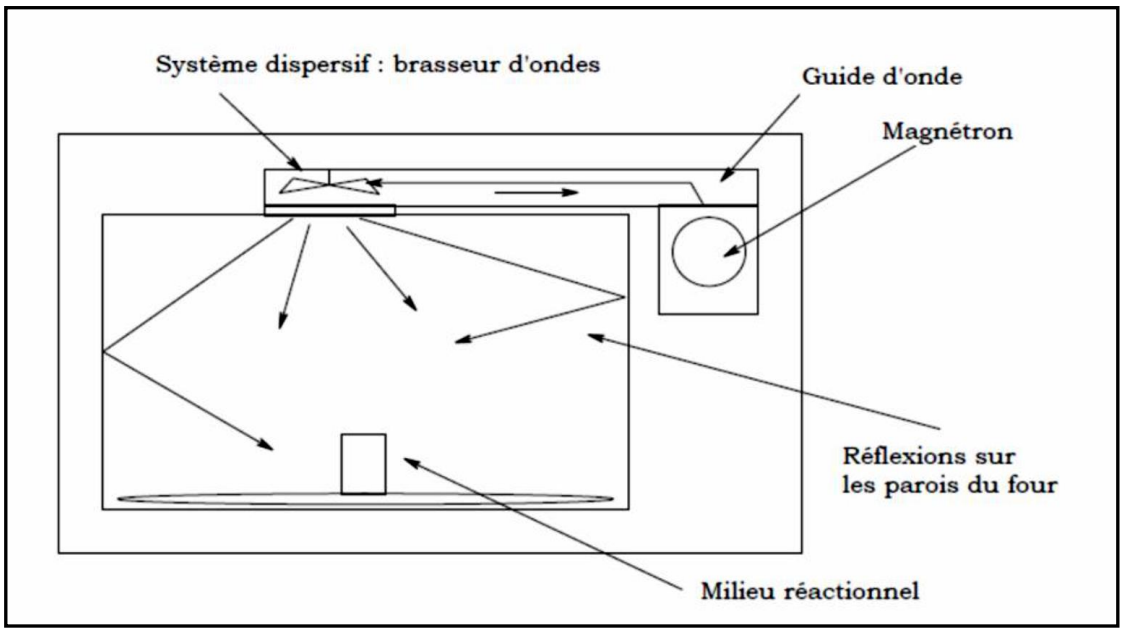



**Figure I.16.**Schéma de principe d'un four à micro-ondes[38]

Le deuxième souci que l'on rencontre avec l'utilisation des fours micro-ondes tient dans le danger que représente l'utilisation des solvants organiques. Les micro-ondes possèdent la particularité d'interagir avec les molécules présentant un moment dipolaire permanent non nul [41], créant ainsi par basculements rapides des molécules résultant d'interactions avec le champ électrique alternatif, un échauffement local par agitation moléculaire. Le mode de chauffage fait que l'on peut rapidement faire monter un solvant en sur ébullition [42]**,**ce qui peut représenter un danger.

### I.6.5.2. Spécificités de l'activation micro-onde

L'activation micro-onde résulte de deux contributions :

- Une d'origine purement thermique résultant de l'agitation moléculaire causée parl'inversion des dipôles avec les alternances du champ électrique.
- Une contribution spécifique, d'origine électrostatique résultant d'interactions de

type dipôles-dipôles entre les molécules polaires et le champ électrique : l'apparition de charges dans l'état de transition, comme par exemple la formation d'un intermédiaire tétraédrique dans un mécanisme d'addition élimination, est stabilisé sous irradiation micro-onde [40]. On a donc un effet direct sur la cinétique par la diminution de l'énergie d'activation. L'importance relative de ces deux types d'effets peut être appréciée en comparant les résultats obtenus sous micro-ondes ou par chauffage classique, toutes conditions égales par ailleurs (temps, température, etc.). La synthèse chimique sous micro-ondes constitue donc une technique de plus en plus utilisée en synthèse organique. Destinée à tester rapidement et avec des rendements appréciables de nouvelles voies de synthèses, quelques essais de synthèses industrielles ont été réalisés mais c'est surtout en laboratoire que l'on pratique ce type d'activation, en synthèse simple comme en synthèse parallèle ou en chimie combinatoire.

### I.6.5.3. Application aux polysaccharides

Le recours à la synthèse chimique sous micro-ondes s'est réellement multiplié dans le domaine des polymères aussi bien pour les réactions de polymérisation et le greffage de nouveaux monomères sur la chaine polymérique ou encore dans le domaine de la modification et la fonctionnalisation de polymères ou biopolymères préexistants. Dans le domaine des polysaccharides, différentes études ont montré l'utilité et l'efficacité d'une telle stratégie de synthèse en comparaison aux méthodes conventionnelles de chauffage. Une étude a montré que N-alkylation du chitosane sous micro-ondes donne des résultats nettement supérieurs qu'avec les méthodes conventionnelles et ce, quelque soient les conditions réactionnelles [43]. Les micro-ondes permettent également des modifications enzymatiques à basses fréquences, comme c'est le cas avec l'amidon, où on a procédé à une estérification avec l'acide laurique ou stéarique en utilisant la lipase comme biocatalyseur.Des réactions de copolymérisation de chaines polymériques de différente nature, ont pu avoir lieu sous micro-ondes. Le greffage du polyacrylamide sur la gomme xanthane est l'exemple le plus courant, où on a constaté que le pourcentage de greffage (G%) sousmicro- ondes (190%) est largement supérieur à celui obtenu avec la méthode conventionnelle [44]. D'autres polysaccharides ont été soumis à des modifications par micro-ondes comme: la gomme d'acacia, la gomme guar, alginate, xyloglucane[44] .

## I.7. Les Carraghénanes

### I.7.1. Historique

Dans un comté du sud de l'Irlande, appelé Carragheen, les habitants avaient pour habitude d'utiliser une " mousse d'Irlande ", algue qu'ils trouvaient sur les rochers des côtes, pour faire des pommades et des flans. Vers 1700, au cours de la colonisation de l'Amérique du Nord, les Irlandais constatèrent que leur " mousse d'Irlande " poussait également sur les côtes du Massachusetts. Ils se sont par la suite rendus compte que cette algue appartenait à la famille des Rhodophycées (ou algues rouges), et était appelée Chondruscrispus. On rencontre cette algue rouge sur toutes les côtes de l'Atlantique Nord surtout dans les provinces maritimes du Canada, le Maine, la Bretagne et la péninsule Ibérique. En Bretagne, le Chondruscrispus était appelé " pioka ", sa cueillette se pratique encore les jours de grandes marées.

L'intérêt économique et l'abondance de l'algue, a éveillé l'intérêt des industriels. Ainsi en 1871, le polysaccharide pur, à l'origine des vertus de la " mousse d'Irlande ", est extrait aux Etats-Unis. Il est logiquement appelé carraghénanes en référence à son comté d'origine. Après la Seconde Guerre Mondiale, l'expansion de l'industrie alimentaire a engendré une utilisation accrue des carraghénanes en tant que stabilisants, épaississants et gélifiants. L'importance de la demande a amené la création de fermes aquacoles destinées à la culture du Chondruscrispus. Celles-ci apportent de nombreux avantages : absence de fluctuations climatiques, une récolte facilitée, des matières première Ces polysaccharides de la phase matricielle sont très sulfatés, ne comprennent que du D-galactose (pour les unités « A et B » plus pures et la possibilité de sélectionner les algues les plus productives en carraghénanes [45].

### I.7.2. Définition et origine des carraghénanes

Les carraghénanes sont un groupe de polysaccharides extraits des algues suivantes : *Chondrus, Gigartina, Euchema* et *Hypnea*(Figure I.17).Ce sont des polysaccharides relativement linéaires, de haute masse molaire et très sulfatés, comprenant de 20 à 40 % de sulfate.



**Figure I.17.** Source de carraghénane (Algues rouges Eucheuma)[45]

Les carraghénanes, en fonction de leur solubilité et de leur capacité à former des gels sont divisés en Lamda (**λ)** ,Kappa (κ) et Iota (**ι)** carraghénanes, capacité directement liée à leur teneur en sulfate[46]. Les différences structurales se situent au niveau de la position et du nombre des groupements sulfates, ainsi que la présence ou non de l'unité 3,6anhydrogalactose(DA). Les types de carraghénane les plus rencontrés dans le commerce sont le ι-carraghénane (deux groupements sulfate), le κ-carraghénane (un groupement sulfate), et le λ-carraghénane (trois groupements sulfate)(Figure I.18).

Les carraghénanes forment donc une famille de galactoses hydrophiles linéaires à teneur en soufre variable : κ-carraghénane (22 % de sulfate) ; ι-carraghénane (32 % de sulfate) ; λ- carraghénane (38 % de sulfate) [47] . Les carraghénanes sont largement utilisés comme agents gélifiants, stabilisants et liants de viscosité dans l'industrie alimentaire et dans les formulations cosmétiques et pharmaceutiques[48] .

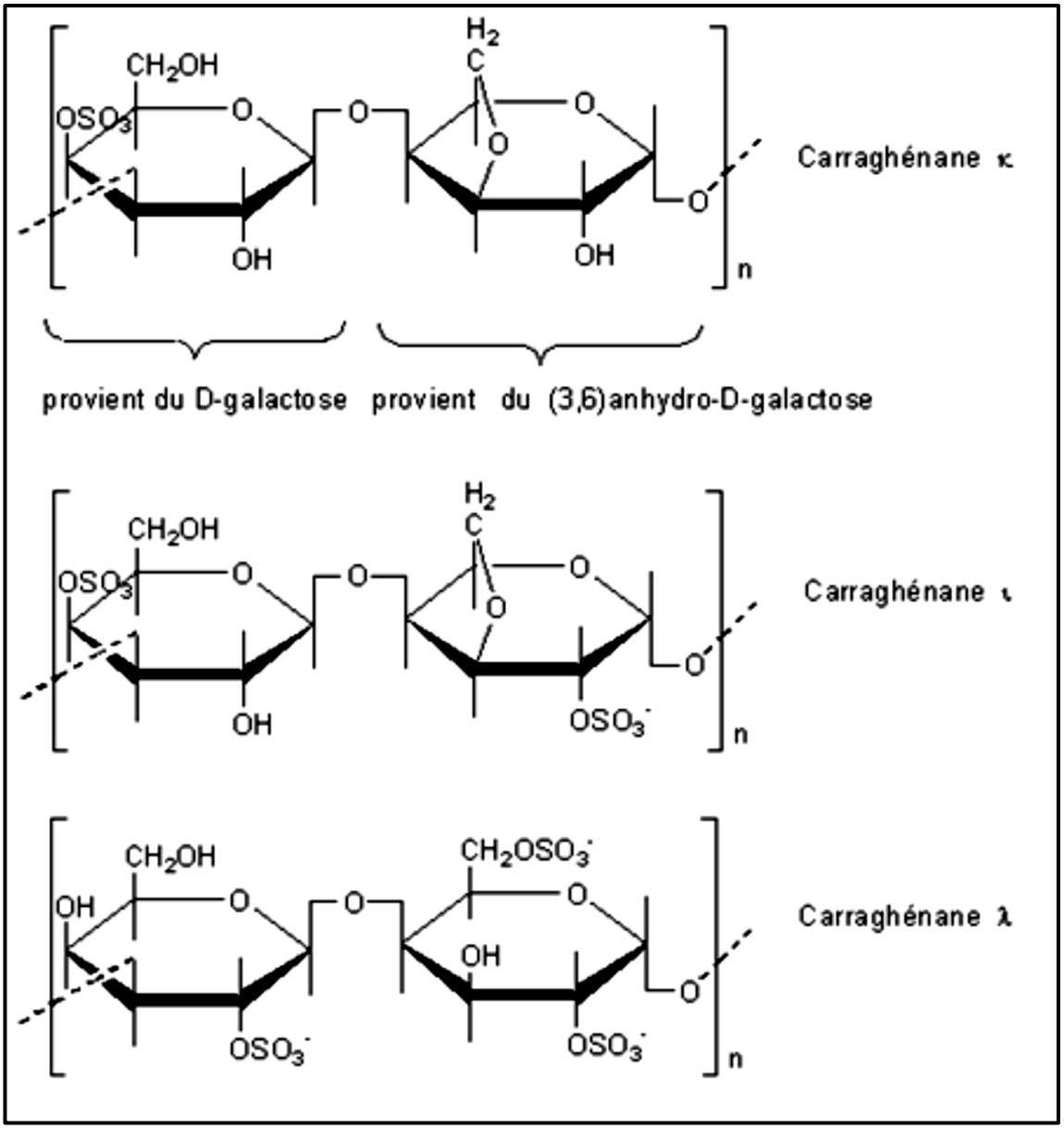



**Figure I.18.** Structures du κ, ι et λ carraghénane.[47]

### I.7.3. Extraction des carraghénanes

Différents procédés existent selon la pureté désirée. Après la collecte, les algues sontrincées pour éliminer le sable, les pierres et autres impuretés puis séchées rapidement pour prévenir. Les carraghénophytes secs sont placés au moment de l'extraction dans une solution de chlorure de calcium sous agitation, afin de fixer les carraghénanes dans les parois algales. Les thalles sont rincés à plusieurs reprises en eau douce puis immergés dans une solution alcaline de soude (1 N).

Les algues sont ensuite dilacérées et les carraghénanes sont libérés dans le milieu sous forme soluble de sels de sodium. Les carraghénanes sont récupérés par filtration avec un

filtre presse à chaud. Les résidus algaux sont éliminés et le filtrat contenant les carraghénanes est ensuite traité par de l'alcool isopropylique. Les carraghénanes précipitent et sont récupérés par passage sur un crible métallique pour êtreséchés[46].

### I.7.4. Le Kappa-carraghénane

La famille Kappa (κ) contient les polymères constitués par des résidus β-D galactopyranosyles sulfatés en C4 (Figure I.19). Elle regroupe tous les carraghénanes qui portent une sulfatation en position 4 de leur unité G. Outre le κ-carraghénane (kappa, G4S-DA), elle contient le ι-carraghénane (iota, G4S- DA2S), ainsi que leurs précurseurs biosynthétiques respectifs : le μ-carraghénane (mu, G4S- D6S) et le ν-carraghénane (nu, G4S-D2S,6S) [49]. Le μ-carraghénane et le ν-carraghénane peuvent être convertis respectivement en κ-carraghénane et en ι-carraghénane lors de la biosynthèse par l'action d'enzymes, les galactose-6-sulfurylases. Cette conversion est également réalisée par un traitement alcalin à chaud au cours du procédé industriel[50]. Ces carraghénanes se retrouvent chez de nombreuses espèces d'algues rouges, soit sous la forme de quasi homopolymères, soit sous la forme d'hétéropolymères constitués d'au moins deux des quatre motifs présentés.

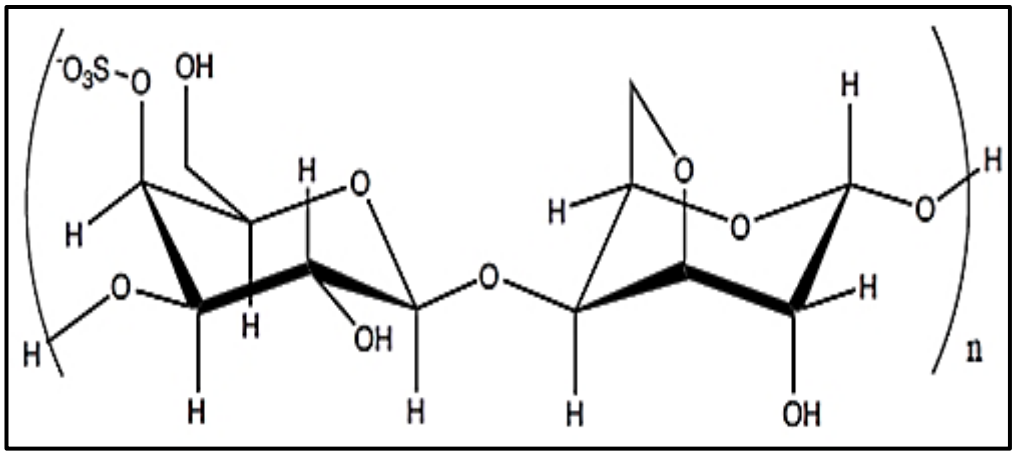



**Figure I.19.** Structure de kappa carraghénane [51].

#### I.7.4.1. Propriétés du κ-carraghénane

- ***La solubilité :*** Toutes les fractions de carraghénane sont peu solubles dans l'eau, étant insolubles dans solvants organiques, huiles ou graisses. Cependant, leur solubilité dans l'eau dépend essentiellement au niveau des groupements sulfate (très hydrophile) et sur leurs cations associés. Le principal ionisable les cations trouvés dans les carraghénanes sont le sodium, le potassium, le calcium et

le magnésium [52].Le kappa carraghénane est moins hydrophile, sa solubilisation totale ne pourra être assurée que par élévation de la température. Cette température de solubilisation dépendra en outre du cation associé, la forme sodique étant plus facilement soluble que la forme potassique [53].

- ***La viscosité :*** La viscosité des carraghénanes dépend de la concentration, de la température, de la présence d'autres solutés, le type de carraghénane et son poids moléculaire, et augmente de façon exponentielle avec l'augmentation de leur concentration. Cependant, l'augmentation de la viscosité peut se produire par deux mécanismes différents: (i) interaction entre le linéaire chaînes, avec une diminution de l'espace libre ou une augmentation des exclus le volume; (ii) la formation d'un gel physique causé par la «réticulation» entre les chaînes[52] .
- ***La gélification :*** La gélification de kappa carraghénane, en particulier, en deux étapes distinctes et successives, à bobine hélicoïdale de transition lors du refroidissement ultérieur et l'agrégation des cations entre les hélices (Figure I.20). La présence de cations approprié, typiquement de potassium ou de calcium, est une exigence absolue pour la procéder de gélification. À la fois pour i et k carraghénanes, les ions de métaux alcalins (Li +, Na +, K +, Rb +, Cs +) sont tous capable d'induire la gélification, mais K+ et Rb+ sont considérablement plus efficaces que d'autres ions dans la gélification induisant à des concentrations beaucoup plus faibles à la fois le cation et le carraghénane[54] ,[55].

La viscosité de carraghénane dépend de la concentration, de la température, la présence d'autres solutés, le type de carraghénane et de son poids moléculaire, et augmente de façon exponentielle avec l'augmentation de leur concentration, étant un comportement typique des polymères linéaires avec charge, ou polyélectrolytes. Toutefois, l'augmentation de la viscosité peut se produire par deux mécanismes différents:

- L'interaction entre les chaînes linéaires, avec une diminution de l'espace libre ou de l'augmentation du volume exclue.
- La formation d'un gel physique provoquée par réticulation entre les chaînes.
- La viscosité des carraghénanes en solution diminue de façon réversible avec l'augmentation de la température [56].

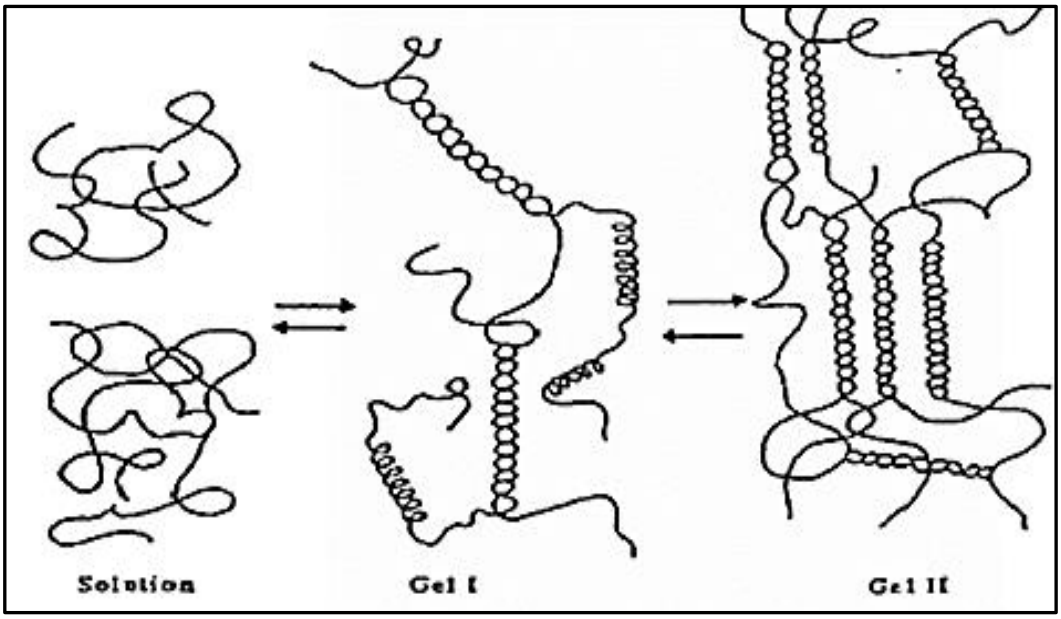



**Figure I.20.** Gélification des carraghénanes[57].

### I.7.4.2. Modification chimique du κ-carraghénane

Plusieurs modifications chimiques ont été proposées pour moduler les propriétés physicochimiques du carraghénane (Figure I.21). Les fonctions hydroxyle primaires des unités G et secondaire des unités DA peuvent être modifiées par polymérisation, phosphorylation, acétylation, sulfatation, acylation pour des applications dans le domaine de la pharmacologie, et de la biotechnologie (Figure.I.21). En 2005,H,Yuan , W.Zhang et al.[58]ont modifié le κ-carraghénane par des réactions d'acétylation ($AC_2O$/Pyridine/DMF), sulfatation ($HClSO_3$/DMF), et de phosphorylation ($POCl_3$/formamide/ DMF) pour améliorer le pouvoir antioxydant du carraghénane. Ces réactions d'addition sont peu sélectives bien que dans le cas de la sulfatation la réaction se réalise d'abord sur l'hydroxyle primaire puis secondaire de l'unité G4S et dans un troisième temps sur l'hydroxyle secondaire de l'unité DA.

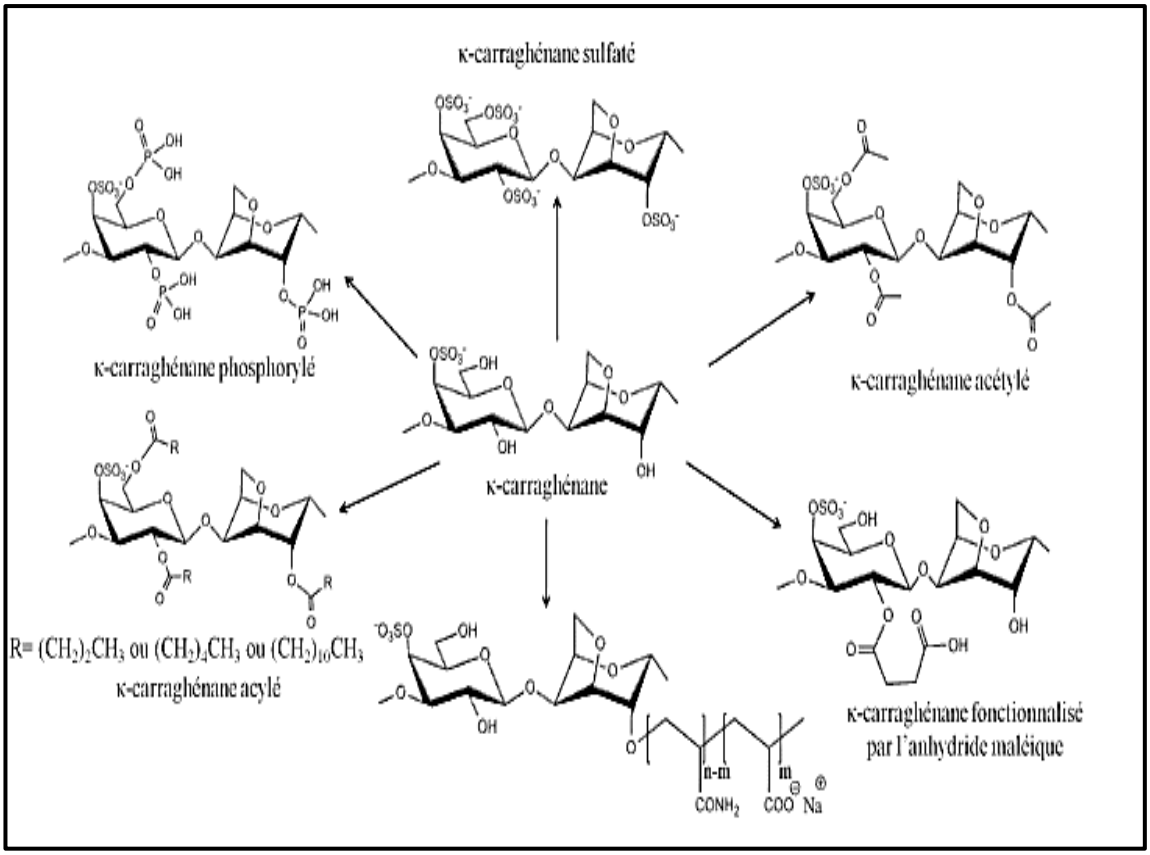



**Figure 1.21.** Modifications chimiques du κ-carraghénane[47].

En 2006, K. Prasad, R. Meena, et A. K. Siddhanta[59]ont greffé du polyméthacrylate de méthyle sur du κ-carraghénane par irradiation microonde en présence de persulfate de potassium. La fonction acide carboxylique aux deux extrémités du polyméthacrylate de méthyle se condense sur l'alcool primaire de l'unité D4S du disaccharide. Ces copolymères permettent de former des hydrogels biodégradables ayant un potentiel intéressant pour la vectorisation de principe actif[60]et pour l'immobilisation des enzymes[61].

### I.8. Domaine d'utilisation du kappa carraghénane

Les carraghénanes sont connus sous le code « E407 » en industrie. Les utilisations n'ont cessé de s'accroître et ses principales applications sont dans l'industrie agroalimentaire, en cosmétologie et en pharmacie [62],[46] .

- **Utilisation dans l'industrie agroalimentaire**

Les applications des carraghénanes dans l'industrie laitière sont très vastes : crèmes, glaces, gâteaux, flans… Les carraghénanes forment des gels avec le lait après chauffage et refroidissement. Cette gélification s'explique par la création d'une liaison carraghénane-

caséine (protéine majoritaire du lait) renforcée par la présence du calcium. On obtient donc un complexe carraghénane-calcium-caséine qui a lieu quel que soit le pH.

Les carraghénanes sont aussi employés pour la production de « bâtons » de glace, comme agent de couverture ou encore dans la préparation de boissons en poudre qu'il faut ensuite hydrater. Dans les jus de fruits, ils permettent de stabiliser la pulpe.

- **Utilisation en pharmacie et en cosmétologie**

✓ Les carraghénanes se combinent aux protéines par la formation d'une liaison entre les ions $OSO_3^{2-}$ du polymère et les groupes $NH_3^+$ de la protéine mais le pH doit être en dessous du pH isoélectrique de cette protéine. Les variations de pH permettent la formation ou la rupture du complexe carraghénane-protéine. C'est ce mécanisme qui explique le fonctionnement du traitement pour les ulcères gastriques. Ces derniers sont difficiles à cicatriser, à cause de l'absence de gaine mucilagineuse qui protège contre l'acidité gastrique (pH de 1 à 2) et des enzymes digestives dont la pepsine. De ce fait, la blessure ne cicatrise pas mais elle s'étend. L'absorption de carraghénanes de sodium entraine : (i) la formation du complexe carraghénane-pepsine, ce qui neutralise les effets de l'enzyme ; (ii) une diminution de l'acidité gastrique par le sodium ; (iii) le carraghénane de sodium crée un pansement sur la blessure.

✓ Les carraghénanes jouent un rôle d'agent texturant en conférant au dentifrice une stabilité pendant le stockage. De plus, il évite la synérèse, notamment sous les climats chauds.

✓Concernant les gels désodorisants, la méthode consiste à gélifier une solution aqueuse de forte teneur en parfum à l'aide de kappa carraghénane de potassium. Ce gel, de par sa propriété de synérèse, libère progressivement l'eau qu'elle contient, vaporisant dans l'atmosphère le parfum.

✓ Les carraghénanes sont habituellement utilisés comme agents pour induire des inflammations expérimentales et des douleurs inflammatoires. Ils ont aussi montré plusieurs propriétés pharmaceutiques potentielles incluant des activités anti-tumorales, immun-modulatrices, antihyperlipidemiantes et anticoagulantes.

✓ Les carraghénanes apportent une douceur et une finesse aux crèmes de beauté.

**I.9. Conclusion**

A l'issue de cette recherche bibliographique, nous pouvons retenir qu'il est possible d'utiliser des biopolymères pour améliorer la stabilité des émulsions telles que les polysaccharides natifs et/ou modifiés qui ont un caractère émulsionnant naturel pour éviter l'usage des tensioactifs synthétiques et s'orienter vers l'obtention des émulsions stables avec de faible quantité en matière grasse, pour protéger la santé humaine.

# *CHAPITRE II*

# *MATERIEL ET METHODES EXPERIMENTALES*

## II.1. Introduction

Dans cette étude expérimentale, nous avons tenté d'atteindre un objectif, qui consiste a modifié un polysaccharide, le kappa carraghénane (KC) afin de lui conférer des propriétés émulsifiantes. Une fois la modification confirmée, les propriétés émulsifiantes des dérivés obtenus (KCRs) seront évaluées par la formulation d'émulsion stabilisées par ces dérivés.

Pour atteindre ces objectifs, cette partie expérimentale a été répartie en plusieurs parties organisées comme suivant :

- Modification chimique de kappa carraghénane (KC) par une réaction d'éthérification par deux méthodes (chauffage ordinaire et par micro-ondes).
- Caractérisation physico-chimiques et microbiologique des dérivés de KC obtenus à savoir KCR VN (Dérivé de KC par voie normale) et KCR µonde (Dérive de KC par voie micro-ondes).
- Formulation des émulsions stabilisées par le KC et les dérivés KCRs.
- Evaluation des propriétés émulsifiantes des KCRs et étude de stabilité des émulsions obtenues.

Ce travail a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie de la faculté des sciences de l'université de Médéa.

## II 2. Matériel et produits

### II 2.1. Matériel

Le matériel utilisé lors des travaux de synthèse et des caractérisations physicochimiques est résumé dans le tableau ci-dessous (Tableau II.1).

**Tableau II.1.** Appareillage utilisé dans la synthèse.

| Appareillage | Marques |
|---|---|
| • Balance analytique<br>• Agitateur magnétique<br>• Agitateur mécanique<br>• Etuve<br>• Homogénéiseur<br>• Four à µ-ondes<br>• Spectrophotomètre infrarouge (FTIR)<br>• Microscope optique<br>• Conductimètre<br>• pH-mètre<br>• Centrifugeuse<br>• Viscosimètre | • Mettler Toledo MS2204S<br>• (Kmo2 electronic)<br>• (Kmo2 electronic)<br>• Memmert<br>• Ultraturrax IKA Instruments.<br>• SAMSUNG<br>• Bruker, Allemagne<br>• Olympus<br>• Mettler Toledo<br>• Methrom 827 pH Lab<br>• HettichZentrifugen.<br>• HAAKE, Visco-Tester VT5 |

### II.2.2.Produits chimiques

L'ensemble des produits chimiques utilisés sont résumés dans le tableau suivant (Tableau II.2).

**Tableau II. 2.** Produitschimiques utilisés.

| Réactifs | Fournisseurs |
|---|---|
| • Acétone | • Sigma Aldrich, Allemagne |
| • Acide acétique | • Sigma Aldrich, Allemagne |
| • Huile de Nigelle | • Abu El Kassim, Algérie |
| • Hydroxyde de sodium | • Sigma Aldrich, Allemagne |
| • Réactif d'éthérification | • Sigma Aldrich, Allemagne |

### II.2.3.Biopolymère: kappa carraghénane

Les caractéristiques du polysaccharide utilisé dans cette étude sont résumées dans sur le tableau II.3.

**Tableau II.3.**Propriétés physico-chimiques de kappa carraghénane**.**[63]

| | |
|---|---|
| Aspect | Poudre blanche ou blanc-jaune. |
| Solubilité | Soluble dans l'eau à température élevé en donnant un gel en revenant a T°C ambiante et cela pour une concentration au delà de 1%, pratiquement insoluble dans les solvants organiques. |
| pH | 6,0 à 8,0 |
| Synonymes | E407 |

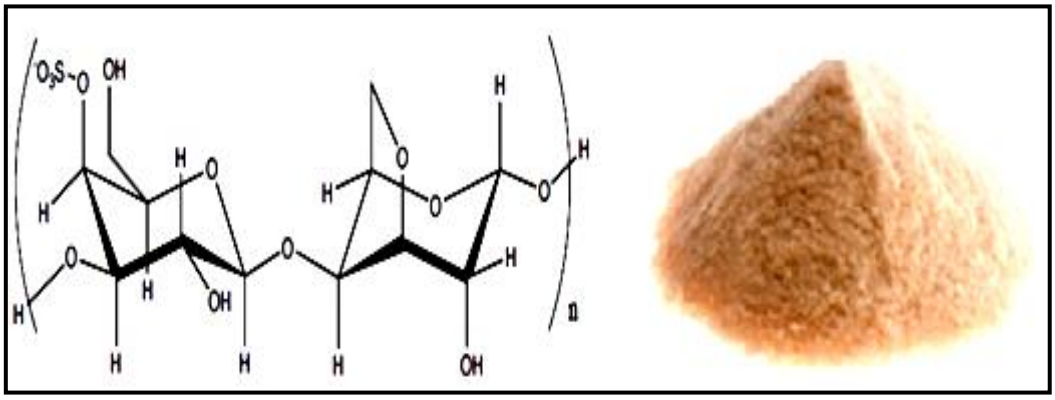


**Figure II.1.** Aspect et structure du kappa carraghénane (KC).

### II.3.Méthodes

#### II.3.1. Modification chimique du Kappa carraghénane

La modification chimique du kappa carraghénane (KC) se déroule selon un mécanisme de substitution nucléophile. En effet, une réaction d'éthérification par la méthode de Williamson entre les fonctions hydroxyles du KC et le réactif d'éthérification (R) a été réalisé.

La synthèse organique se fait en deux étapes consécutives :

- **Etape 1 :** Dans un premier temps, un traitement basique avec de l'hydroxyde de sodium pour la préparation de l'ion alcoolate (Eq.II.1) est effectué.
- **Etape 2 :** Dans un second temps, la substitution des groupe menthydroxyl du KC par le groupement hydrophobe (R) composé par une chaine carbonique de 8 carbone est réalisé (Eq. II.2).

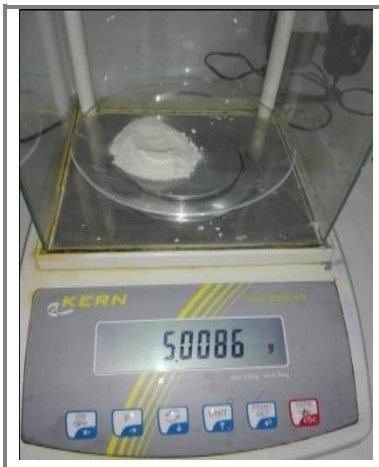
$$KC\text{-}OH + NaOH \rightarrow KC\text{-}O^{-}, Na^{+} + H_2O \qquad (II.1)$$

$$KC\text{-}O^{-}, Na^{+} + Cl\text{-}(CH_2)_7\text{-}CH_3 \rightarrow KC\text{-}O\text{-}CH_7\text{-}CH_3 + NaCl \qquad (II.2)$$

- **Mode opératoire**

La modification du kappa carraghénane (KC) s'est déroulée en suivant les étapes :

- Préparer la solution de KC à 5 % dans l'eau distillée.
- Maintenir la solution de KC (5 %) sous agitation magnétique (1300 $tr.mn^{-1}$) pendant 40 min à température ambiante.
- Introduire 5ml d'une solution de NaOH à 2 N dans la dispersion précédente à raison de 1ml toutes les 15 min.
- Ajouter la quantité nécessaire de réactif graduellement au mélange réactionnel.
- Deux modes de chauffage sont utilisées pour cette modification :
  - Chauffer le mélange réactionnel à 60°C pendant 3h sous l'agitation magnétique
  - Chauffer le mélange réactionnel dans le four à micro-ondes pendant 3min à 180Hz.
- Neutraliser la solution avec de l'acide acétique.
- Précipiter le KC modifié avec 100 ml d'éthanol puis filtrer et laver les produits dérivés obtenus (KCRs).
- Sécher à 70°C pendant 24h dans une étuve.




**Peser du KC natif**



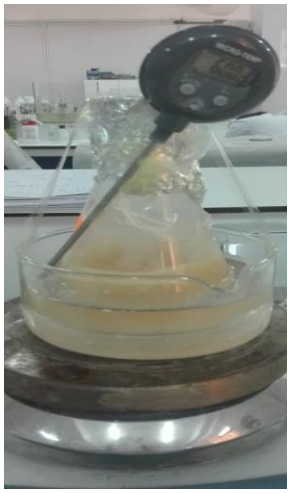
**Preparation du kc 5%**




**L'ajout du NaOH**




**L'ajout du réactif**



**Chauffage du mélange**



**Neutralisation**



**KC+ éthanol, Filtration**



**Séchage**



**broyage**

**Figure II.2.** Etapes de la modification chimique du Kappa carraghénane.

### II.3.2.Caractérisation physico-chimique des dérivés de kappa carraghénane

Après la synthèse organique des dérivés de KC, les produits dérivés (KCRs) ont été caractérisés par plusieurs méthodes physicochimiques.

### II.3.3.1. Identification par FTIR

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infra Redspectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans un échantillon et d'en caractériser les groupements moléculaires afin d'obtenir de nombreuses informations sur la conformation et les éventuelles interactions.

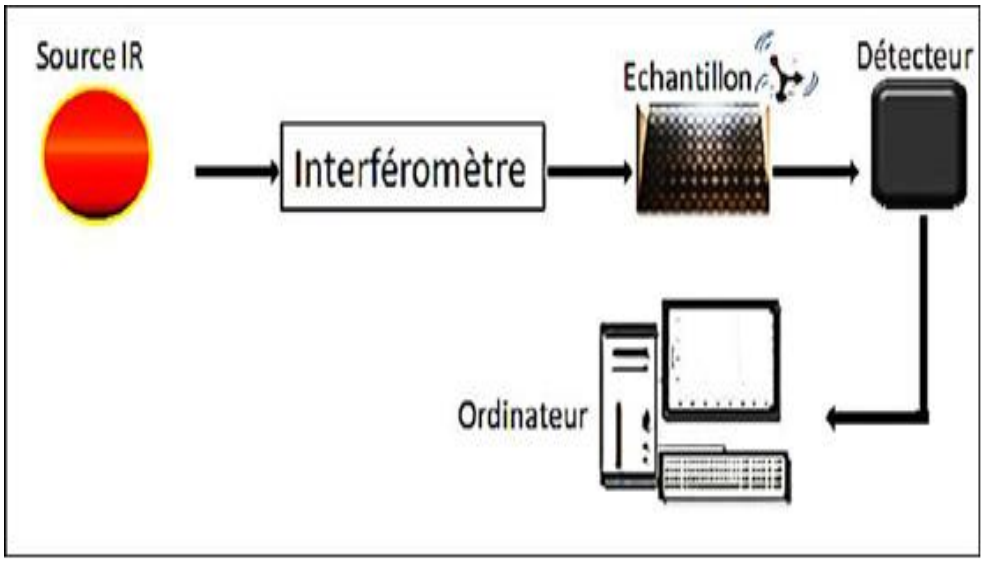



**Figure II.3**. Schéma représentant les principaux éléments d'un spectromètre IR.

- **Mode opératoire**

Un échantillon de poudre à analyser est disposé sur le carré en diamant et les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 $cm^{-1}$, avec une résolution de 4 $cm^{-1}$ et un nombre de scans égale à 10.

### II.3.3.2. Analyse conductimétrique

La conductivité d'une solution exprime la capacité des ions à transporter le courant électrique. Ce passage du courant électrique s'effectue par la migration des ions dans un champ électrique produit par un courant alternatif [64]. Cette grandeur est caractéristique de la solution. Elle dépend de :

- La concentration des ions
- La nature de la solution ionique
- La température de la solution

- **Mode opératoire**

Des solutions à différentes concentrations de KC, de KC modifié par voie normale (KCR VN) et de KC modifié par microonde (KCR µonde) ont été préparées. Les concentrations des différents échantillons varient entre 0.01% et 0.2 %. La conductivité des solutions a été mesurée à l'aide d'un conductimètre. Chaque mesure est répétée trois fois, et une moyenne est à chaque fois calculée.

### II.3.3.3. Point de fusion

La température de fusion est définie comme étant la température à laquelle se produit la transition de phase de l'état solide à l'état liquide, à la pression atmosphérique (Figure II.3). La température de fusion est une propriété caractéristique de la matière, elle peut ainsi aider à identifier une substance. Elle n'est toutefois pas suffisante pour permettre une identification formelle, plusieurs molécules pouvant avoir une température de fusion très proche. Elle permet malgré tout d'écarter des molécules ayant une température de fusion éloignée. Généralement, lorsque l'on reste dans la même famille de composés chimiques, le point de fusion augmente avec la masse molaire. Le point de fusion est donc un moyen de vérifier la pureté d'une substance et toute impureté fera varier le point de fusion de la substance testée.

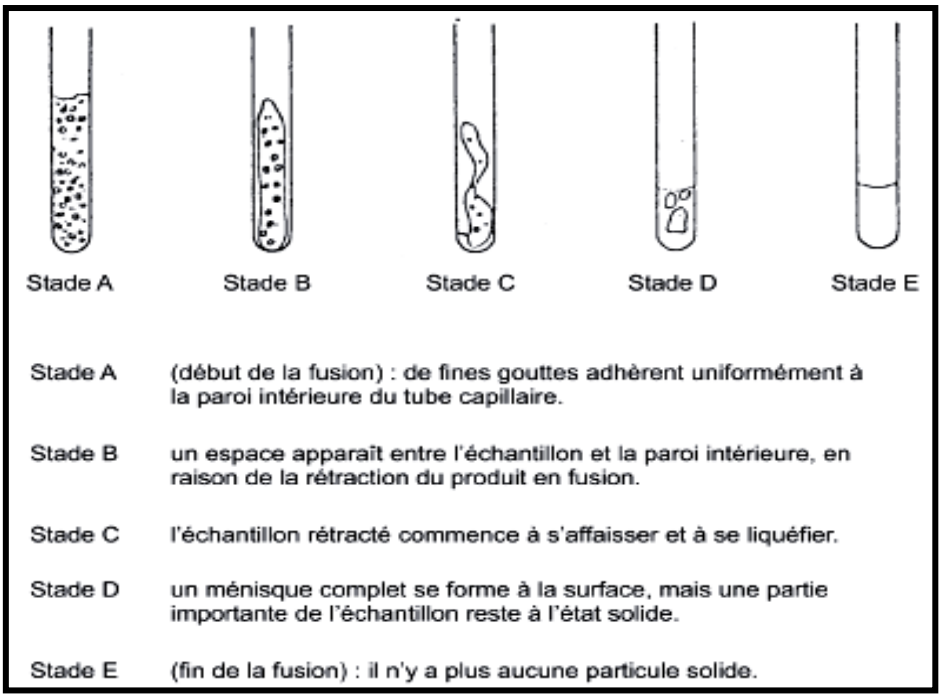



**Figure II.4.** Stades de fusion des substances[65]

- **Mode opératoire**
  - Introduire la poudre de KC et les dérivés KCRs par voie normale et par microonde dans le tube capillaire de l'appareil de mesure un par un.
  - Placer le tube capillaire dans l'appareil de mesure du point de fusion.
  - Laisser la température s'élever jusqu'à la fusion de la poudre ou jusqu'à la transformation de la poudre en gouttelettes liquide.
  - Identifier à cette température le point de fusion correspondant à chaque biopolymère analysé.

### II.3.3.4. Analyse viscosimétrique

Un liquide est le siège de frottements internes. Si l'on met en mouvement une région d'un liquide, on constate que :

- Ce mouvement se communique de proche en proche aux régions voisines ;
- Ce mouvement s'affaiblit progressivement si l'on cesse de l'entretenir.

Ces frottements liquidiens sont dus aux forces d'attraction de Van Der Waals qui s'opposent aux mouvements relatifs des molécules voisines. On donne le nom de viscosité à ces frottements internes des fluides. Autrement dit, la viscosité est l'expression mécanique des liaisons intermoléculaires qu'il faut rompre pour mobiliser les molécules d'un liquide en écoulement les unes par rapport aux autres.

On peut définir la viscosité d'une solution polymérique comme une mesure de son aptitude à résister à l'écoulement. C'est la propriété de résistance à l'écoulement uniforme et sans turbulence se produisant dans la masse d'une matière. Elle est exprimée par un coefficient représentant la contrainte de cisaillement nécessaire pour produire un gradient de vitesse d'écoulement d'une unité dans la matière.

Pour la détermination de la viscosité, des solutions à 1% (p/v) de KC ainsi que les deux dérivés KCRs sont préparées et laissée au repos pendant 24h. Par la suite, l'évaluation de la viscosité des échantillons s'effectue en utilisant un viscosimètre à mobile tournant (Figure II.4) qui permet de mesurer la viscosité des liquides newtoniens et non newtoniens. Le mobile utilisé est le mobile « Sp 4 » et les mesures de viscosités ont été prises à 50 tr/mn à température ambiante.




**Figure II.5**. Viscosimètre (HAAKE, Visco-Tester VT5)

### II.3.4. Etude des propriétés antibactériennes des dérivés de KC

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections**.** Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peut-être :

- Soit bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries
- Soit bactéricides lorsque la substance détruit totalement les bactéries.

Les biopolymères (KC et KCRs) ont été testées sur deux souches bactériennes : les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*). Le tableau II.4 montre les souches bactériennes testées.

**Tableau II.4.** Classification de souches bactériennes testées[66], [67]

| | **Souches bactériennes** | |
|---|---|---|
| **Classification** | ***Staphylococcus aureus*** | ***E- coli*** |
| **Gram** | positif | Négatif |
| **Culture** | aérobie-anaérobie facultatif | Aérobie |
| **Forme** | Cocci | Bacille |
| **Nom courant** | staphylocoque doré | Colibacille |
| **Famille** | Staphylococcaceae | Enterobacteriaceae |
| **Genre** | Staphylococcus | Escherichia |
| **Espèce** | aureus | Coli |

- **Mode opératoire**

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu solide (milieu Muller- Hinton) pour l'activité antibactérienne. De ce fait, chacun des disques de papier est imprégné de solutions concentrées à 1% de biopolyméres (KC, KCRVN ou KCRµonde) et placé à la surface du milieu de la boite de pétri contenant le milieu de culture et une souche bactérienne spécifique (*Staphylococus aureus* ou *Escherichia Coli*). Le milieu Mueller Hinton est le milieu de culture utilisé à température d'incubation de 35°C pendant un temps d'incubation de 24h.[68]

**Tableau II.5.** Composition du milieu Mueller Hinton. [69]

| **Ingrédients** | **Composition (g/L)** |
|---|---|
| Peptone | 17,50 |
| Extrait de viande | 2,00 |
| Amidon | 1,50 |
| Agar | 17,00 |
| pH final à 25°C | 7,3 ± 0,1 |
| Eau distillée | QSP |

### II.3.5. Evaluation du pouvoir émulsifiant

Un émulsifiant facilite la formation d'une émulsion entre deux liquides non miscibles. L'évaluation du pouvoir émulsifiant permettra d'évaluer la capacité des dérivés de KC synthétisés à stabiliser une émulsion huile dans l'eau (H/E). Afin d'évaluer le pouvoir émulsifiant du KC et des dérivés KCRs, la formulation d'émulsion à base de ces derniers puis une évaluation de leurs propriétés a été effectuée.

#### II.3.5.1. Préparation des émulsions

Pour préparer 100g d'émulsion, les étapes suivantes sont suivies :

- *Préparation de la phase aqueuse :* Dissoudre une masse de 0.8 g de polymère dans 80 ml d'eau et laisser reposer la solution pendant 24h.
- *Préparation la phase huileuse :* Peser 20 gr d'huile de nigelle dans un Becher.
- Porter les deux phases à la température de 60°C au un bain marie.
- Verser la phase huileuse sur la phase aqueuse sous agitation jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.
- Homogénéiser avec un ultra turrax à 22000 tr/mn pendant 5mn.
- Laisser l'émulsion obtenue reposer pendant 24h.
- Ce mode opératoire est répété pour KC, KC VN et KC µonde.

#### II.3.5.2. Caractérisation des émulsions

**a. Aspect macroscopique**

La vérification de la couleur, l'homogénéité et la consistance des différentes émulsions a été réalisée par une simple analyse visuelle de la solution.

**b. Aspect microscopique**

La microscopie optique est une technique très performante pour la caractérisation des systèmes colloïdaux dont la taille est supérieure à 200 nm. Elle permet d'obtenir des informations, certes qualitatives, mais souvent essentielles à la compréhension générale des systèmes. Cette technique permet d'évaluer la taille des gouttes, d'observer leur forme, d'estimer les dispersions de tailles, de déterminer l'état d'agrégation, et d'identifier certaines instabilités comme la coalescence ou l'inversion de phase.

- Une goutte d'émulsion est déposée sur une lame en verre et recouverte d'une lamelle, puis soumise au contrôle microscopique.

**c. Mesure de la viscosité**

C'est la mesure de la résistance d'un fluide à l'écoulement [15]. La viscosité apparente d'un fluide est la contrainte de cisaillement divisée par la déformation de cisaillement [70]. L'évaluation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de rotation pour les émulsions préparées a été effectuée à différentes vitesses de cisaillement (5,10, 12, 20, 30, 50, 60, 100 et 200 tr/mn).

**d. Etude de Stabilité**

Pour être apte à son utilisation, tout produit formulé doit pouvoir être stable quelles que soient les conditions auxquelles il peut être exposé. Afin de vérifier la stabilité des émulsions formulées, elles ont été soumises à plusieurs tests :

- ✓ **Test de centrifugation :** La centrifugation est basé sur le principe de l'utilisation de la force centrifuge qui permet de séparer des constituants de taille et de masse très variables contenus dans un liquide, depuis des molécules jusqu'à des cellules entières [71]. un volume de environ 5 ml de chaque émulsion est introduit dans un tube à centrifuger, équilibrer les pots à centrifuger 2 à 2 centrifuger pendant 5 minutes à une vitesse de 3000tr/mn.

Observer l'aspect des émulsions, noter les instabilités éventuelles :

- crémage = remontée des globules de la phase dispersée vers la surface : Phénomène réversible
- sédimentation = précipitation des globules vers le fond du tube : Phénomène réversible
- séparation de phases (stade plus avancé) : Phénomène réversible
- coalescence = fusion des globules = rupture de l'émulsion : Phénomène irréversible

La réversibilité des phénomènes observés est appréciée en retournant brutalement l'émulsion 3 fois. Le phénomène est considéré comme réversible si l'émulsion reprend alors un aspect uniforme. [72]

- ✓ **Détermination de la Transmittance (Analyse UV) :** En spectroscopie UV-visible, une molécule est susceptible d'absorber une radiation lumineuse d'énergie correspondante au domaine UV-visible (200 à 800 nm) Elle permet une analyse qualitative et quantitative d'une substance en solution**.** Ce test est utiliser pour étudier la stabilité de l'émulsion où, un volume d'émulsion est introduit dans une cellule en quartz puis soumis à une mesure de transmittance dans un spectrophotomètre UV-Vis. Les mesures sont effectuées toutes les 5mn pendant 30mn, puis toutes les 24h pendant 7 jours [73][74].

## II.6. CONCLUSION

Dans ce chapitre, on a présenté le matériel et les produits utilisés pour la modification du kappa-carraghénane (KC), ainsi que le procédé de préparation des émulsions et les tests de caractérisation physico-chimique et microbiologique des dérivés (KCRs) obtenus. Les résultats obtenus seront présentés et discutés dans le chapitre suivant.

# *CHAPITRE III*

# *RESULTATS ET DISCUSSIONS*

### III.1. Introduction

Dans le chapitre précèdent, on a décrit toutes les méthodes appliquées lors de l'étude expérimentale. Ce présent chapitre est consacré aux résultats obtenus ainsi que toutes les interprétations des résultats obtenus. A cet effet, une fois la réaction de modification du Kappa carraghénane (KC) par éthérification réalisée, cette derniére a conduit à l'obtention de plusieurs dérivés à savoir KCR VN (Dérivé de KC par voie normale) et KCR µondes (Dérivé de KC par voie micro-ondes). Les dérivés obtenus ont été identifiés par la spectroscopie FTIR, confirmant ainsi la modification du KC. Par la suite, des émulsions ont été préparés à l'aide de KC et ses dérivés (KCR VN et KCR µondes) et des examens microscopiques et des essais de stabilité ont été réalisé afin d'évaluer la capacité de KC et des dérivés à stabiliser les systèmes dispersés (émulsions H/E).

### III.2. Résultats et discussions

#### III.2.1. Analyse infrarouge (FTIR)

L'analyse FTIR a été menée sur le kappa carraghénane (KC), et les dérivés de KC modifiés par chauffage ordinaire (KCR VN), et par micro-ondes (KCR µondes).

L'analyse du spectre FTIR de KC (Figure III.1) montre :

- Une large bande autour de 3387 $cm^{-1}$ caractéristique des liaisons O-H.
- Les bandes 1240 $cm^{-1}$ sont affectées à la vibration symétrique de la fonction O=S= O.
- Les bandes 845 $cm^{-1}$ sont affectées à l'élongation de la fonction $C_4$-O-S (causée par la présence du groupement sulfate en position 4).
- Les bandes 930 $cm^{-1}$ prouvent l'existence de C-O-C du 3,6 anhydro-D galactose.

- Les bandes d'absorbance à 1150 $cm^{-1}$ sont dues à l'élongation des ponts -O et les bandes autour de 1068.91 $cm^{-1}$, 2933.55 $cm^{-1}$ et 3387.65$cm^{-1}$ sont liées à l'élongation des groupements C-O, CH et OH respectivement.

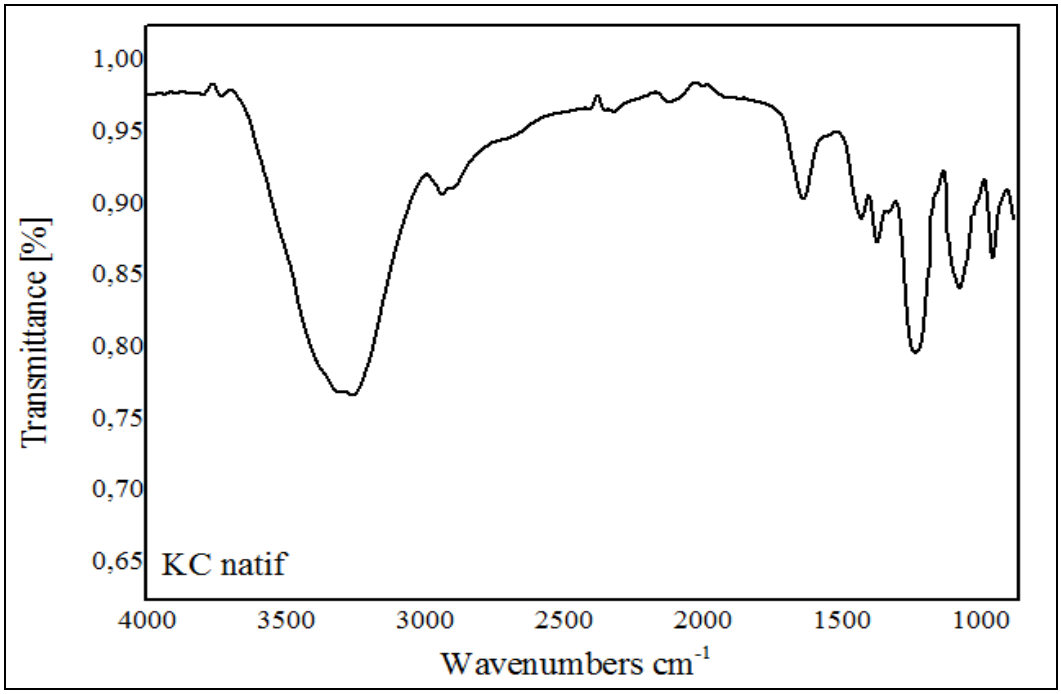



**Figure III.1**. Spectre FTIR représentant la transmittance en fonction du nombre d'ondes du Kappa Carraghénane (KC)

L'analyse des spectres FTIR de KC VN et KC µondes (Figure III.2) et (Figure III.3) montre que l'intensité de chaque bande d'absorption des groupements fonctionnels a considérablement changée.

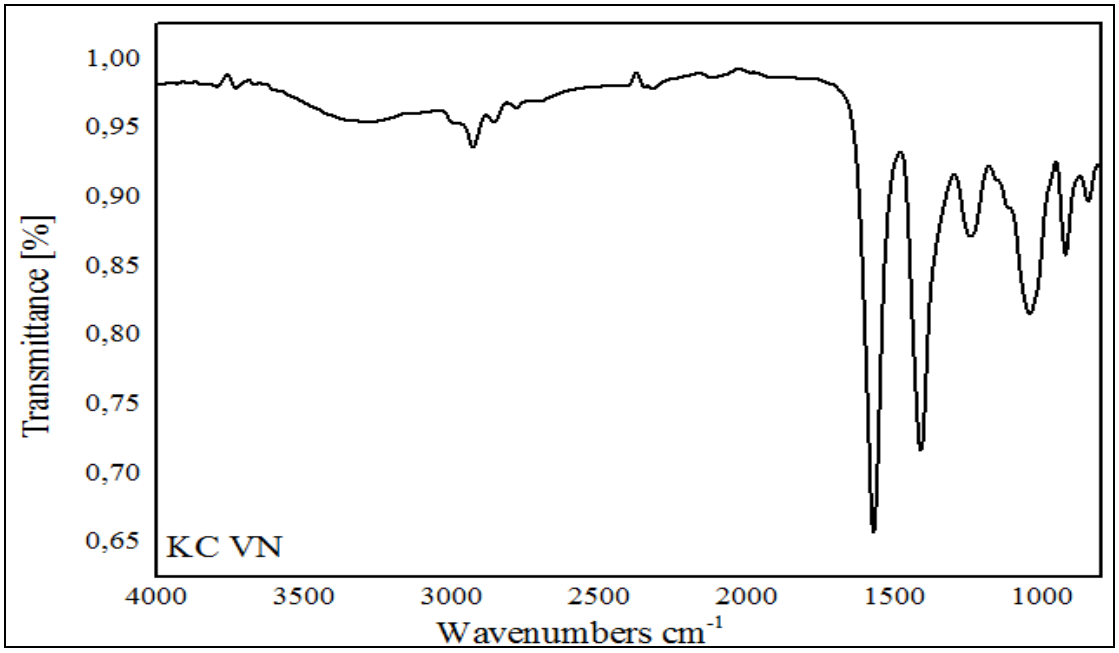



**Figure III.2**. Spectre FTIR représentant la transmittance en fonction du nombre d'ondes

Du dérivé KC VN.

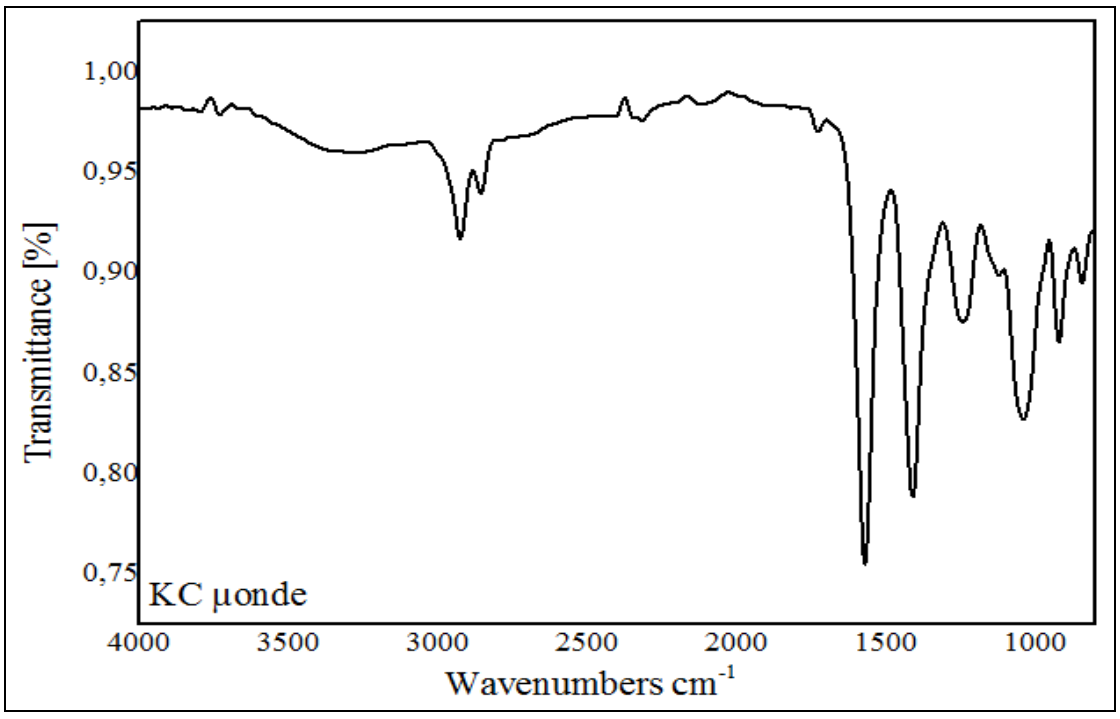



**Figure III.3**. Spectre FTIR représentant la transmittance en fonction du nombre d'ondes

Du dérivé KC µondes.

En comparant les spectres de KC et ses dérivés (Figure III.4), on constate :

- La disparition des bandes OH à 3387 $cm^{-1}$,
- L'intensité du pic autour de 1415 $cm^{-1}$ augmente d'une façon considérable ce qui prouve que l'élongation du groupement C-O du galactose augmente,
- La bande typique d'absorption autour de 1615 $cm^{-1}$ correspond à la vibration asymétrique de -COO.

Il est important également de remarquer que :

- Les bandes d'absorbance du KC µondes sont plus intenses que les bandes de KC VN
- Le rétrécissement du pic de la fonction O=S=O à 1240 $cm^{-1}$ , causé par le traitement basique.

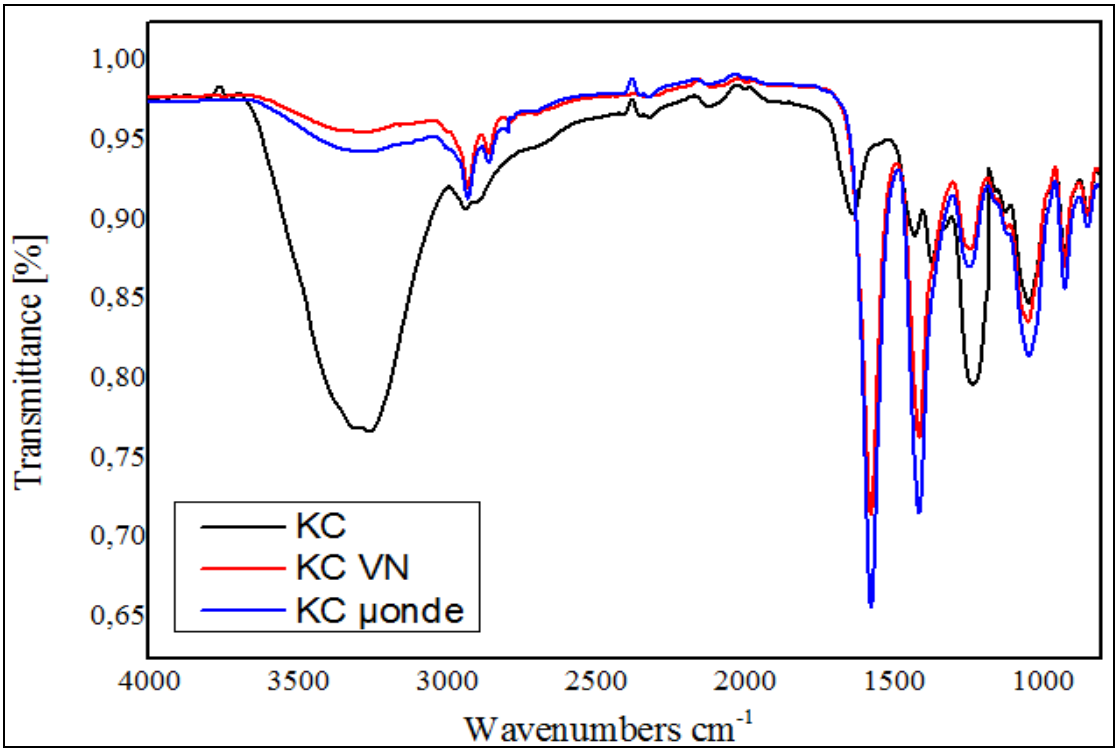



**Figure III.4**. Spectre FTIR représentant la transmittance en fonction du nombre d'ondes de KC et ses dérivés.

### III.2.2. Préparation des émulsions

La préparation d'une émulsion requiert l'utilisation de méthodes d'homogénéisation permettant de fournir l'énergie nécessaire au système pour créer de nouvelles interfaces phase dispersée / phase continue. La stabilisation de ses nouvelles interfaces créées lors de l'homogénéisation devra être assuré par les dérivés de kappa carraghénane. Ainsi, les émulsions formées sont soumises à de fortes contraintes mécaniques pour diminuer la taille et la distribution en taille des goulettes jusqu'à atteindre une taille d'équilibre : cette étape est l'étape d'émulsification (Figure III.5).

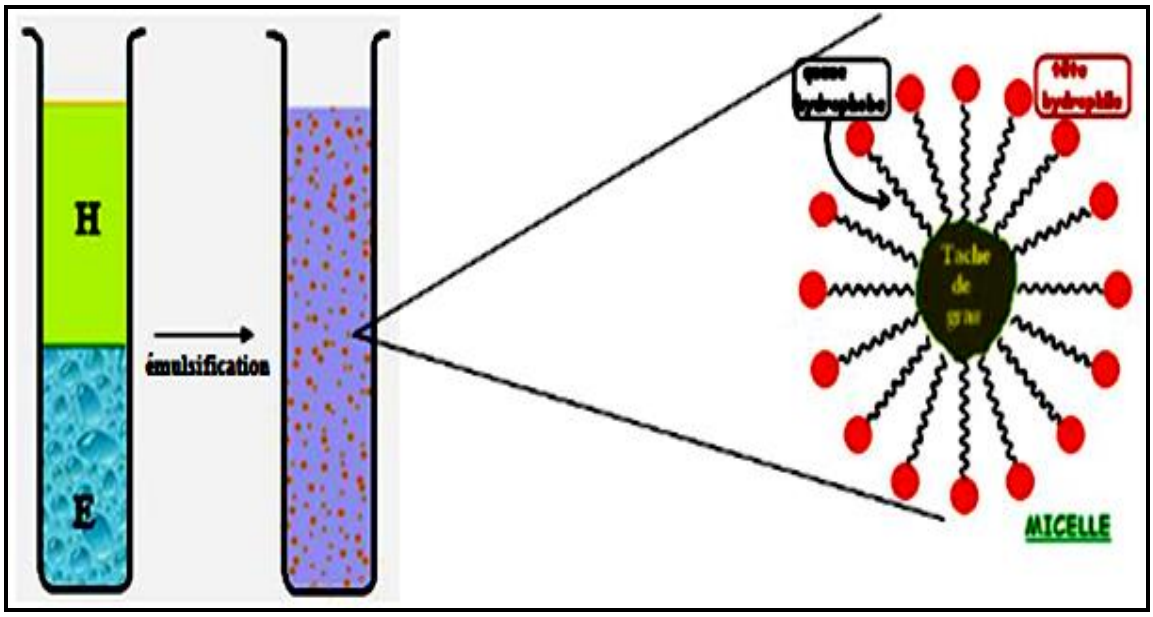



**Figure III.5.** Dispersion de la phase huileuse dans la phase aqueuse en présence de KC et ses dérivés

Les émulsions ont été préparées selon les compositions présentées dans le tableau III.1. Six formules ont été préparées (E1-E6) et évaluées par la suite.

**Tableau III.1.** Composition des émulsions H/E.

| Emulsions | Phase huileuse % | Phase aqueuse % | Biopolymères/ Emulsionnant (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | KC | KCVN | KC µondes |
| **E1** | 20 | 80 | 0.75 | - | - |
| **E2** | 20 | 80 | 1 | - | - |
| **E3** | 20 | 80 | - | 0.75 | - |
| **E4** | 20 | 80 | - | 1 | - |
| **E5** | 20 | 80 | - | - | 0.75 |
| **E6** | 20 | 80 | - | - | 1 |

### III.2.3. Contrôle qualité des émulsions

#### III.2.3.1. Examen microscopique des émulsions

Les résultats obtenus par l'analyse microscopique indiquent :

- **Pour les émulsions à base de KC (E1 et E2):** les résultats de l'analyse microscopique sont montrés dans la figure III.6 et indiquent que :

- L'émulsion préparée avec une concentration de 0.75% en KC **(E1)** présente des gouttelettes de différentes tailles (polydispersité), très concentrées formant de grands amas de globules. Ce phénomène indique une floculation de l'émulsion.
- L'émulsion préparée avec une concentration de 1% en KC **(E2)** montre des tailles de gouttelettes d'huile avec différentes tailles (polydispersité). Les gouttelettes sont très concentrées et s'empilent les unes sur les autres. La taille des différents globules est relativement grande à cause de la consistance de l'émulsion.

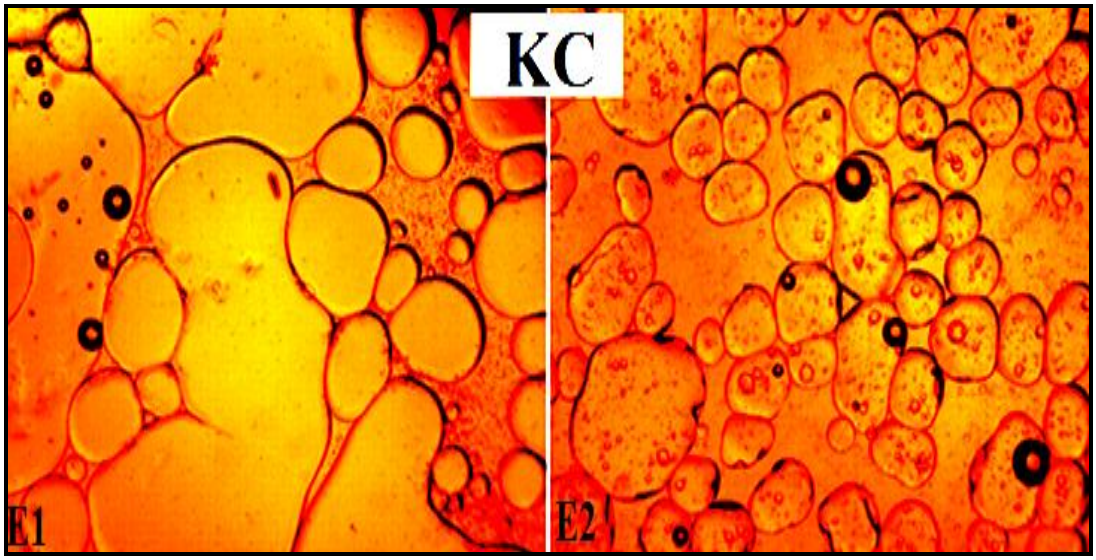



**Figure III.6.** Micrographes des émulsions : **E1** stabilisée par KC à 0.75 %, **E2** stabilisée par KC à 1 %.

- **Pour les émulsions à base de KCR VN (E3 et E4):** les résultats de l'analyse microscopique sont montrés dans la figure III.7 et indiquent que :

- L'émulsion préparée avec une concentration de 0.75 % de KCR VN **(E3)** présente des gouttelettes de tailles différentes (polydispersité) formants des petits amas les uns avec les autres (floculation).
- À 1% de KCR VN **(E4)**, l'émulsion est caractérisée par l'existence des deux populations de gouttelettes et une distribution de tailles caractérisée par de grosses et de petites gouttelettes. Cette polydispersité provoque des instabilités dans les systèmes à long terme à savoir l'apparition de phénomène de coalescence.

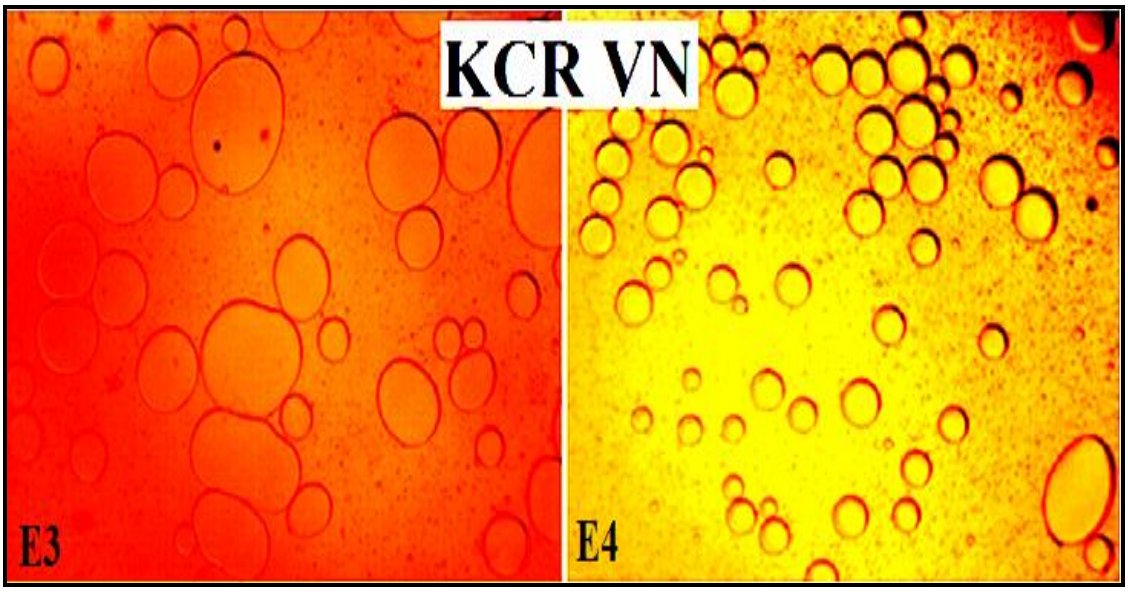



**Figure III.7.** Micrographes des émulsions : **E3** stabilisée par KCR VN à 0.75 % , **E4** stabilisée par KCR VN à 1 %.

- **Pour les émulsions à base de KCR µondes (E5 et E6):** les résultats de l'analyse microscopique sont montrés dans la figure III.8 et indiquent que :

- L'émulsion préparée avec une concentration de 0.75 % de KCR µondes **(E5)** a montré que les globules d'huile présentent une structure sphérique régulière et sont dispersés de manière homogène. Il est remarqué une bonne dispersion des particules dans la phase continue. Ceci indique que le système est mono dispersé. On observe également une diminution de la taille des gouttelettes par rapport aux autres formules avec une dispersion totalement défloculée.
- L'émulsion contenant 1% de KC µondes **(E6)** montre une diminution de la taille des gouttelettes, de manière très homogène, et complètement défloculée. L'absence de coalescence et de polydispersité de la taille des gouttelettes peut expliquer la plus grande stabilité de cette émulsion (E6), comparativement aux autres émulsions étudiées.

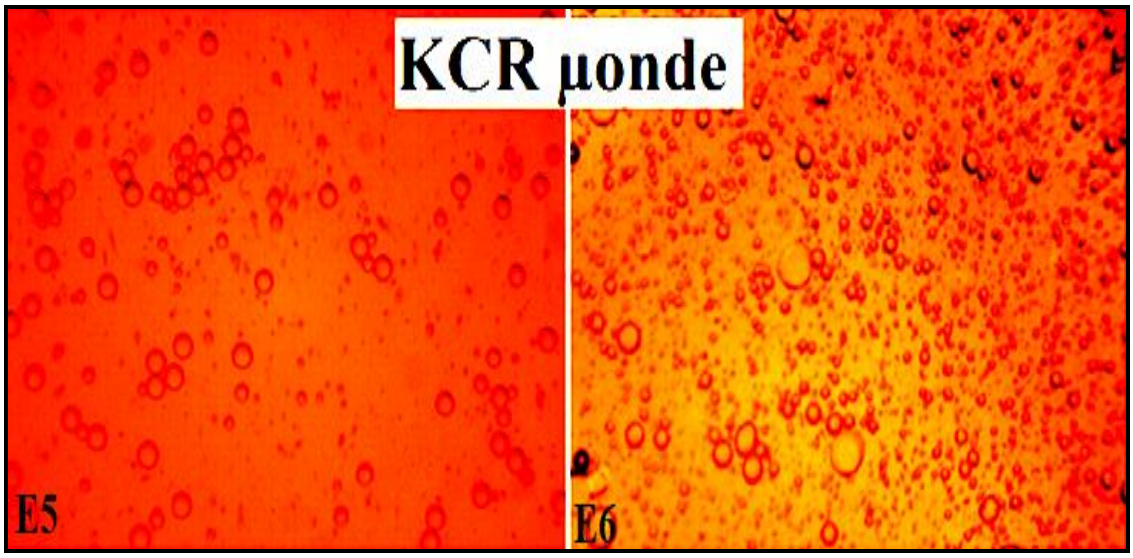



**Figure III.8.** Micrographes des émulsions : **E5** stabilisée par KCR µondes à 0.75 %, **E6** stabilisée par KCR µondes à 1 %.

L'examen de ces figures nous a permis de faire les constatations suivantes :

- La polydispersité des globules constatés peut être à l'origine d'instabilité des émulsions étudiées.
- La taille des globules varie d'une émulsion à l'autre en fonction du type et de la concentration du biopolymère utilisé.
- L'augmentation de la concentration en biopolymère entraine une diminution de taille des gouttelettes d'huile.
- Les émulsions étudiées tendent vers une monodispersité avec l'augmentation de la concentration en biopolymères.
- Les dérivés de KC offrent un pouvoir stabilisant des émulsions meilleur que le KC natif.
- Le pouvoir stabilisant du dérivé KCR µondes est nettement meilleure que le dérivé KCR VN.

### III.2.3.2. Etude de la stabilité des émulsions

#### a. Stabilité à la centrifugation

Afin d'apprécier l'effet stabilisant des biopolymères étudiés, la méthode de centrifugation a été utilisée. Le tableau III.2 résume les résultats obtenus après centrifugation des émulsions étudiées (E1-E6) à différents temps de centrifugation.

Il apparait clairement que les émulsions à base de KC µondes (E5 et E6) présentent une meilleure stabilité que celles des émulsions stabilisées par KC VN (E3 et E4). Les résultats de cette étude montrent également l'instabilité des émulsions à base de KC natif (E1 et E2).

Il apparait également clair que la stabilité des émulsions étudiées est proportionnelle à la concentration en biopolymères stabilisants.

**Tableau III.2.** Résultats du test de stabilité par centrifugation des émulsions étudiées.

| Emulsions | Stabilisant | | Temps de centrifugation (min) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Biopolymère | % | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
| **E1** | KC | 0.75 | - | -- | -- | -- | -- | -- |
| **E2** | KC | 1.0 | - | - | - | - | - | - |
| **E3** | KCVN | 0.75 | + | + | - | - | - | - |
| **E4** | KCVN | 1.0 | + | + | + | + | - | - |
| **E5** | KC µondes | 0.75 | + | + | + | + | + | + |
| **E6** | KC µondes | 1.0 | + | + | + | + | + | + |

***Légende :*** (+) : Stables, (-) : Instable, (--) : Séparation de phase.

**b. Stabilité en temps réel**

La stabilité en temps réel a été effectué uniquement sur les émulsions préparées avec les dérivés de KC. En effet, après les résultats du test de centrifugation, les émulsions stabilisées par le dérivé KCR VN (E3 et E4) et les émulsions stabilisées par le dérivé KCR µondes (E5 et E6) ont été retenues pour le reste de l'étude de stabilité en temps réel vue que les émulsions stabilisées par le KC natif ont présenté une séparation de phase apparente 24 h après leur préparation.

A ce jour, les résultats obtenus n'ont montré aucune instabilité sur le plan macroscopique. Il est donc visible que les nouveaux dérivés ont un effet stabilisant appréciable en comparaison au KC natif.

## III.3. CONCLUSION

Lors de cette étude, il a été montré que le KC ne peut en aucun cas être utilisé comme agent de stabilisation des émulsions H/E mais les dérivés obtenus par modification chimique du KC présentent un pouvoir stabilisant appréciable.

Le dérivé KCR µondes, obtenu par voie de micro-ondes permet de formuler des émulsions stables dès la concentration de 1%. La modification sous microondes est une technique non seulement simple et efficace mais aussi extrêmement rapide.

# *CONCLUSION GENERALE*

# *Conclusion générale*

Au cours de ce travail, l'objectif était de formuler et stabiliser des émulsions simples pharmaceutique huile/eau par le kappa carraghénane natif (KC) et modifié par deux méthodes : par chauffage ordinaire à60°C pendant 3h (KCR VN) et par micro-ondes pendant une minute (KCR µondes), afin d'obtenir des émulsions s'inscrivant dans la tendance actuelle des produits naturels et du développement durable.

La fonctionnalisation du kappa-carraghénane a été réalisée avec succès via le procédé d'éthérification de Williamson en milieu basique en plusieurs étapes pour produire un biopolymère modifié. Les dérives obtenues ont été caractérisés par différentes méthodes physico-chimiques.

L'analyse FTIR a confirmé le greffage du groupement hydrophobe (chaine d'alkyl) lié au squelette du kappa-carraghénane par une fonction éther. Par ailleurs, il a été observé que les pics du KCR µondes sont plus intenses que les pics de KCR VN ce qui prouve une meilleure modification par microondes.

Lors de la caractérisation microscopique, l'évaluation de l'influence de la concentration des biopolymères (natif et modifiés) sur la stabilité des émulsions. Ainsi, il a été constaté que :

- Les différentes formulations élaborées ont montré que plus la concentration en biopolymère modifié augmente, les émulsions obtenues ont une bonne stabilité.
- La modification sous microondes est une technique qui permet l'obtention d'un dérivé ayant un effet émulsifiant ou stabilisant nettement plus important que les dérivés obtenus par le chauffage traditionnel.

Malheureusement, nous n'avons pas pu poursuivre ce travail expérimental à cause de l'épidémie du COVID 19. A cet effet, il serait souhaitable de poursuivre cette étude en effectuant plus de tests physicochimiques pour évaluer le degré de substitution des dérivés, la rhéologie des émulsions ainsi que l'activité antimicrobienne des dérivés et des émulsions afin d'assurer une meilleure évaluation du rôle des dérivés dans la stabilisation des émulsions.

# *REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

[1] **P.Brochette.**(2004) , "Principes de formulation",(2éme édition) .pp.53-101.

[2] **T.Tadros**. (2009). "Emulsion science and technology".weinheim.

[3] **G. Secchi**. (2008). "Role of protein in cosmetics," Clin. Dermatol., vol. 26, no. 4, pp. 321–325.

[4] **P.Gennes , C. Taupin**. (1982). "Microemulsions and the flexibility of oil/water interfaces," J. Phys. Chem., vol. 86, no. 13, pp. 2294–2304.

[5] **O**.**Doumeix .** (2011). " Operations unitaires en génie biologique" : tome 1, les Emulsion. biologie technique.

[6] **A. Khalil**, **C. Bernard**. (2013). "Étude expérimentale d ' un procédé de cristallisation en émulsion huile dans eau : application au distéarate d ' éthylène glycol To cite this version : HAL Id : tel-00862852 Etude expérimentale d ' un procédé de cristallisation en émulsion huile dans eau .

[7] "Emulsions, micro émulsions, émulsions multiples PORE J." [Online]. Available: https://www.lavoisier.fr/livre/industries-chimiques/emulsions-micro-emulsions-emulsions-multiples/pore/descriptif_2269276. [Accessed: 01-Mar-2020].

[8] **M. Seiller , F. Puisieux**.(1983). " Les systèmes dispersés. I, Agents de surface et émulsions". Paris: Technique et documentation Lavoisier.

[9] **P. Suttiprasit, K. Al-Malah,** and **J. McGuire**.(1993). "On evaluating the emulsifying properties of protein using conductivity measurements," Top. Catal., vol. 7, no. 3, pp. 241–253.

[10] **A. Gharsallaoui, R. Saurel, O. Chambin, E. Cases, A. Voilley,** and **P. Cayot** (2010)."Utilisation of pectin coating to enhance spray-dry stability of pea protein-stabilised oil-in-water emulsions," Food Chem., vol. 122, no. 2, pp. 447–454.

[11] **Y. Li, M. Hu, H. Xiao, Y. Du, E.Decker**, and **D.McClements** .(2010)."Controlling the functional performance of emulsion-based delivery systems using multi-component biopolymer coatings," Eur. J. Pharm. Biopharm., vol. 76, no. 1, pp. 38–47.

[12] **D. Güzey, D.McClements.** (2006)**.**"Influence of environmental stresses on O/W emulsions stabilized by β-lactoglobulin-pectin and β-lactoglobulin-pectin-chitosan membranes produced by the electrostatic layer-by-layer deposition technique," Food

Biophys., vol. 1, no. 1, pp. 30–40.

[13] **S. Gawa, E. Ecker,** and **D. Lements**. (2004) .“Production and Characterization of O / W Emulsions Containing Droplets Stabilized by Lecithin − Chitosan − Pectin Mutilayered Membranes,” pp. 3595–3600.

[14] **J. Aha , S. Svrjala**. (2008).“Evaluation of different methods for determining the entrance pressure drop in capillary rheometry,” Appl. Rheol., vol. 18, no. 6, pp. 2–6.

[15] **R. Brummer.**(2006). “Rheology Essentials of cosmetics and food emulsions.

[16] **P. Becher** “American Pharmaceutical Association,” Anal. Chem., vol. 29, no. 8, pp. 1235–1236, 1957.

[17] **M. Patricia, R. Rojas,** and **M.Letellier**, “Emulsification en Cuve Agitée :,” 2007.

[18] **M.Abert vian.**(2016).“Cosmétiques : procédés de formulation.”(2eme édition ).

[19] **L.Caullet,A.dos santos, G.knipper,M.Rusalen** and **M.Seigneu**r. (2018). Les émulsion alimentaire et cosmétique.

[20] **S. Tcholakova, N. Denkov, D. Sidzhakova, I. Ivanov,** and **B. Campbell**, (2005).“Effects of Electrolyte Concentration and pH on the Coalescence Stability of -Lactoglobulin Emulsions : Experiment and Interpretation,” vol. 3, no. 18, pp. 4842–4855.

[21] **J. Kopecek**. (1982).“Biodegradation of biomedical polymers (58 pp. ; 320 references), p. 320.

[22] **S. Damodaran**.(2006). “Protein Stabilization of Emulsions and Foams,” J. Food Sci., vol. 70, no. 3, pp. R54–R66, 2006.

[23] **J. Hibbert**.(1983).” Clin. Otolaryngol. Allied Sci., vol. 8, no. 1, pp. 1–1.

[24] **E. Jouanny-bouyer**. (2014). “Stabilisation d ’ émulsions d ’ intérêt pharmaceutique par des protéines et des polysaccharides : exemples de la β -lactoglobuline , de la gomme arabique et de la gomme xanthane To cite this version : HAL Id : tel-01056468 STABILISATION D ’ ÉMULSIONS .

[25] **A. Paraskevopoulou, D. Boskou,** and **V. Kiosseoglou**.(2005). “Stabilization of olive

oil - Lemon juice emulsion with polysaccharides," Food Chem., vol. 90, no. 4, pp. 627–634.

[26] **E. Dickinson**.(2003). "Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems," Food Hydrocoll., vol. 17, no. 1, pp. 25–39, 2003.

[27] **S. Colin**.(2015)."Développement d ' enzymes recombinants issus des bactéries marines P . carrageenovora et SW5 pour la HAL Id : tel-01115060 Thèse présentée pour l ' obtention du grade de Docteur de l ' UTC .,".

[28] **P.Phillips , G.Williams**. (2004), "Biochimie", (2eme édition).

[29] **D. Sahoo, S. Sahoo,** and **P. Mohanty**.(2012)."Designed Monomers and Polymers Chitosan : a New Versatile Bio- polymer for Various Applications," no. February 2013, pp. 37–41.

[30] **M.Auzely-velty**. (2012). "Synthesis and characterization of hydrophobically modified derivatives of polysaccharides To cite this version : HAL Id : tel-00666983 Hydrophobically modified derivatives of polysaccharides," .

[31] **R. Bhosale, R. Osmani,** and **A. Moin**. (2015)."Review on natural polysaccharide based particulate drug delivery systems: An inimitable tactic in novel drug delivery systems," Int. J. Curr. Pharm. Rev. Res., vol. 5, no. 4, pp. 138–155.

[32] **M. Kouassi**.(2018). "Polysaccharides fonctionnalisés par des composés d ' origine naturelle aux propriétés antioxydantes et antibactériennes.,".

[33] **M. Milas , M. Rinaudo**.(1979)."Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan," Carbohydr. Res., vol. 76, no. 1, pp. 189–196.

[34] **P.Andr**.(2013).formulation d'un adjuvant phytosanitaire sous forme d'émulsion et optimisation de la pulvérisation. "Thèse de Doctorat de l ' UTC".

[35] **S. Lefnaoui , N. Moulai-mostefa**. (2014). " polyelectrolyte complex based on carboxymethyl-kappa-carrageenan and eudragit Chemical Engineerin Research and Design ".

[36] **M.Yahoum**. (2017). " Formulation et caracterisation de fluides a structure complexe:application aux dispersions". Thèse de Doctorat. Université YAHIA FARES

. MEDEA.

[37] **S. Cresswell , S.Haswell**.(2001).“Microwave ovens-out of the kitchen,” J. Chem. Educ., vol. 78, no. 7, pp. 900–904.

[38] **R. Gedye, F.Smith, K.westaway,K.Ali ,H.Baldisera, L.Laberge** and **L.Rousell.**(1986).“The use of microwave ovens for rapid organic synthesis,” Tetrahedron Lett., vol. 27, no. 3, pp. 279–282.

[39] **A. Hoz, A. Díaz-Ortiz,** and **P. Prieto**.(2016).“Microwave-assisted green organic synthesis,” RSC Green Chem., vol. 2016-Janua, no. 47, pp. 1–33.

[40] **L. Perreux , A. Loupy**.(2001).“A tentative rationalization of microwave effects in organic synthesis according to the reaction medium, and mechanistic considerations,” Tetrahedron, vol. 57, no. 45, pp. 9199–9223.

[41] **C. Gabriel, S. Gabriel, E. Grant, B. Halstead,** and **D. Michael .**(1998).“Dielectric parameters relevant to microwave dielectric heating”. vol. 27, no. 3, pp. 213–223.

[42] **B.Erné , P. Snetsinger**.(2000). “Thermodynamics of Water Superheated in the Microwave Oven,” J. Chem. Educ., vol. 77, no. 10, pp. 1309–1310.

[43] **J. Desbrières, C. Petit,** and **S. Reynaud**. (2014)**.**“Microwave-assisted modifications of polysaccharides,” Pure Appl. Chem., vol. 86, no. 11, pp. 1695–1706.

[44] **A. Bashir, R. Malviya,** and **P. Kumar Sharma**.(2015). “Microwave Assisted Grafting of Natural Polysaccharides,” J Chronother Drug Deliv, no. 3, pp. 79–92,

[45] **G. Verhaeghe**.(2002).“CHEZ DES RATS A FLORE HUMAINE MECANISMES D ’ ACTION par,” pp. 1–66.

[46] **J.Boudrant,J.Guezennec,** and **P.Monsan.**(2019).“Ressources marines et biotechnologies bleues.”

[47] **H. Tsotetzo**.(2017).“Valorisation des polysaccharides marins : élaboration de nanocomposites et synthèse de graphène dopé” .

[48] **A. Usov**.(2011). “Polysaccharides of the red algae”, 1st ed., vol. 65. Elsevier Inc.,

[49] **B.Anderson, C.Dolan, D. Rees,** and **W. Road.** (1973) .

"carrageenans.VII.polysaccharides from Eucheuma spinosum and Eucheuma cottoni.the covalent structure of L-carrageenan" pp. 1968–1971.

[50] **S. Bellion, C. Brigand, G. Prome,**and **J. Welti.**(1983) ."Identification et caractérisation des précurseurs biologiques des carraghénanes par spectroscopie de RMN 13C," vol. 119, pp. 31-48.

[51] L. Carraghénanes, "Les carraghénanes." [Online]. Available: http://tpegelification.e-monsite.com/pages/les-carraghenanes.html. [Accessed: 07-Mar-2020].

[52] **V. Campo, D.Kawano,** and **D. Silva,** (2009) Carvalho, "Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis - A review," Carbohydr. Polym., vol. 77, no. 2, pp. 167–180.

[53] **J.Multon.**(2002). " Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaires-" .(3ème édition).

[54] **M. Darmawan, B. Utomo,** and **R.Mulia**.(2013). "The Quality of Alkali Treated Cottonii (ATC) Made from Eucheuma cottonii Collected from Different Regions In Indonesia," Squalen Bull. Mar. Fish. Postharvest Biotechnol., vol. 8, no. 3, p. 117.

[55] **S. Ramakrishnan , K. Robert.** (2000) .Prud'homme, "Effect of solvent quality and ions on the rheology and gelation of κ-carrageenan," J. Rheol.)., vol. 44, no. 4, pp. 885–896.

[56] **M. Dauchez, E.Une,** and **B.Parametres.**(1987)**.** Fonction, "L'universite des sciences et techniques de lille flandres artois," .

[57] **D. Rees**.(1969). "Structure, Conformation, and Mechanism in the Formation of Polysaccharide Gels and Networks," Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., vol. 24, no. C, pp. 267–332.

[58] **H. Yuan , W.Zhang, X.Li , X.lu , N.li, X.gao ,**and **J.Song**.(2005)."Preparation and in vitro antioxidant activity of κ-carrageenan oligosaccharides and their oversulfated, acetylated, and phosphorylated derivatives," Carbohydr. Res., vol. 340, no. 4, pp. 685–692.

[59] **K. Prasad, R. Meena,** and **A.Siddhanta**.(2006)."Microwave-induced rapid one-pot synthesis of κ-carrageenan-g-PMMA copolymer by potassium persulphate initiating

system," J. Appl. Polym. vol. 101, no. 1, pp. 161–166.

[60] **A. Pourjavadi, S. Barzegar,** and **F. Zeidabadi**.(2007)."Synthesis and properties of biodegradable hydrogels of κ-carrageenan grafted acrylic acid-co-2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid as candidates for drug delivery systems," React. Funct. Polym., vol. 67, no. 7, pp. 644–654.

[61] **H. Tümtürk, N. Karaca, G. Demirel,** and **F. Şahin**.(2007). "Preparation and application of poly(N,N-dimethylacrylamide-co-acrylamide) and poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylamide)/κ-Carrageenan hydrogels for immobilization of lipase," Int. J. Biol. Macromol., vol. 40, no. 3, pp. 281–285.

[62] **J,Yves** ."Les secrets des Algues Véronique LECLERC,." [Online]. Available: https://www.unitheque.com/les-secrets-des-Algues/carnet-sciences/quae/Livre/35447. [Accessed: 20-Mar-2020].

[63] **J. Zamorano , F. Canivet**.(2018). "Carraghénanes : agents gélifiants, épaississants et stabilisants," Ref TIP140WEB - "Bioprocédés," .

[64] **M. Toledo.** "Détermination de la conductivité : méthode électrométrique," Ministère du Développement durable, l'Environnement la Lutte contre les Chang. Clim., vol. 08, no. révision 1, pp. 1–9, 2015.

[65] **L. Bretherick**.(1990). "Bretherick's handbook of reactive chemical hazards". Butterworths.

[66] "Escherichia coli (Colibacille)." [Online]. Available: https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/colibacille. [Accessed: 11-Jun-2020].

[67] "Staphylococcus aureus (staphylocoque doré)." [Online]. Available: https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/staphylocoque-dore. [Accessed: 11-Jun-2020].

[68] **R. Abdallah, D. Frikha,** and **S. Sassi**, "Evaluation in vitro de l'a ctivite antibacterienne et antifongique de quatre especes algales marines in vitro," pp. 38–44.

[69] **V. Jaillon-Riviere**.(2010)."Fiche Technique," La Lett. du Neurol., vol. 14, no. 3, pp. 86–87.

[70] **F. Steffe**.(1992).“Rheological Methods in Food Process Engineering - James Freeman Steffe - Google Livres,” .

[71] **G. Camus**. “La centrifugation | Planet-Vie.” [Online]. Available: https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-laboratoire/la-centrifugation. [Accessed: 11-Jun-2020].

[72] “Travaux Pratiques Pharmacie Galénique - Préparation des émulsions.” [Online]. Available: http://unt-ori2.crihan.fr/unspf/2010_Lille_Barthelemy_Decaudin_Odou_TP_pharmacie/co/Emulsion.html. [Accessed: 11-Jun-2020].

[73] **M. Guillaume ,M.Sylvie,C.Manciet,B.Antoine ,**and **A.Caroline**.(2017).“Faculté de Médecine et de Pharmacie ANNÉE 2017 Thèse n ° THÈSE POUR LE DIPLÔME D ’ ÉTAT MÉMOIRE DU DIPLÔME D ’ ÉTUDES SPÉCIALISÉES Validation d ’ une méthode de dosage de préparations buvables pédiatriques à l ’ aide de la spe ctrométrie UV / Raman directe Université de Poitiers ANNÉE 2017 THÈSE POUR LE DIPLÔME D ’ ÉTAT MÉMOIRE DU DIPLÔME D ’ ÉTUDES SPÉCIALISÉES Validation d ’ une méthode de dosage de préparations buvables pédiatriques à l ’ aide de la spectrométrie UV / Raman directe,” .

[74] **M. Yacouba, I. Ramatou,** and **L. Chabraoui**.(2015). “PAR Pour l ’ Obtention du Doctorat en Pharmacie PRESIDENT,” .