République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université de Médéa

Faculté des Sciences et de la Technologie

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En chimie

Spécialité :

Normes et contrôle de qualité

Par :

KECHOUT Houria
RAHICHE Nassima

Thème :

Formulation et caractérisation physico-chimique d'une émulsion multiple préparée par le procédé de deux étapes

Soutenue publiquement le : 06/06 /2016 , Devant le jury composé de :

KREA Mohamed	*Professeur*	*Université de MEDEA*	*Président*
YAHOUM Madina	*MAA*	*Université de MEDEA*	*Examinateur*
GASMI Sara Nawel	*MAB*	*Université de MEDEA*	*Encadreur*
KERRACHE-LEFNAOUI Sonia	*MCA*	*Université de MEDEA*	*Encadreur*

Année universitaire *2015/2016*

ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تطوير و توصيف المستحلبات المتعددة ماء/زيت/ماء لأغراض صيدلانية، مستقرة بمزيج من البوليميرات الحيوية و هي الهيدروكسي إيثيل السليلوز و الجيلاتين كمجمدات. و كان التحقيق في تأثير نسبة المستحب الأساسي على اللزوجة و الإستقرار و تحرير الدواء. و قد تبين انه بزيادة المستحلب الأساسي نتمكن من إطالة زمن تحرير الدواء حيث أن 50٪ من الدواء استغرقت 180 دقيقة لتتحرر.

و قد أجريت دراسة ثبات المستحلب لمدة 50 يوما. تم تحديد العديد من الآليات لتحقيق إستقرار المستحلبات المتعددة من خلال دراسة الخصائص الفيزيوكميائية والريولوجية (اللزوجة) بعد الصياغة و بعد 30 و 50 يوما. وأظهرت النتائج أنه من الممكن صياغة مستحلبات متعددة مستقرة لمدة 50 يوما و ذلك يعتمد على نسبة المستحلب الأساسي.

الكلمات الأساسية: المستحلبات المتعددة، ديكلوفناك، الهيدروكسي إيثيل السليلوز، الجيلاتين، الاستقرار، اللزوجة.

Résumé:

L'objectif de cette étude était de formuler et de caractériser des émulsions multiples E/H/E à base de Diclofinac à usage pharmaceutique stabilisées par un mélange de biopolymère à savoir l' hydroxyéthylcellulose (HEC) et la gélatine comme des agents gélifiants. L'influence de la proportion de la phase intèrne par rapport à la phase extèrne (émulsion primaire) sur la viscosité, la stabilité et la libération du principe actif à partir des émulsions multiples préparées a été étudiée. L'augmentation de la phase intérieure a permet d'avoir une libération prolongée qui a atteint 50% de taux du PA libéré en 180 minutes de dissolution.

Une étude de stabilité des émulsions a été menée sur 50jours. Plusieurs mécanismes de stabilisation ont été mis en évidence grâce à l'étude des propriétés physicochimiques et des propriétés rhéologiques (viscosité) des émulsions après formulation et après 30 ,50 jours. Les résultats obtenus ont montré qu'il est possible de formuler des émulsions multiples stables pendant 50jours. La stabilité des émulsions formulées dépend de la proportion de phase intérieure.

Mots clés: émulsion multiple, Diclofinac, HEC ,gélatine , stabilités, viscosité.

Abstract:

The aim of this project was the formulation and characterisation of the diclofenac compound multiple emulsion W/OW type for pharmaceutical use. This one was stabilized through biopolymeres mixture (HEC and gelatin as a gelling agent). the effect amount effect of the inner phase, relative to the outer phase on the viscosity, the stability and the drug release. The inner phase's amount increase allows a sustained release with 50% drug release at 180 minutes. Stability tests were performed at different conditions for emulsions for a total of 50 days. Several stabilisation mechanisms have been highlighted through the study of both physicochemical and rheological properties of freshly prepared emulsions and after 30 and 50 days. These studies provided the stability of the multiple emulsions for 50 days.it was depend on the inner phase amount.

Keywords: multiple emulsion, HEC, gelatin, Diclofenac, stability, viscosity.

Dédicace

A mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir,

à toi ***mon père****.*

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.*

Aux personnes dont j'ai bien aimé à

tous mes frères : MOHAMED, SALEH et ILYAS.
et mes soeurs : SOUMIA, AMEL, FATIHA et son marie AYACHE, HADJIRA et son marie MNAOUAR.

Sans oublier les petits de la famille : AYA, SIRINE, DOAA, RIMASSE, MOHAMED AMINE.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études, mes amis, collègues d'étude, surtout SAMIA, RBIHA, NADIA et IMANE.

A ma chère binôme, mon accompagnante durant cinq ans ma chère NASSIMA.

A toute la famille KECHOUT et la famille CHERGUI.

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer …

HOURIA

Dédicace

*A **mon père**, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie, à m'encourager, à me donner l'aide et à une protéger.*

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à

***ma mère**…*

A mes adorables frère, ADEL, MEHAMED et sa fiancée.

Ames sœurs : ZAHIA, RAZIKA, ZAHRA, NABILA.

A ma chère binôme HOURIA.

A toutes mes amies de primaire jusqu'à l'université, sourtout, ZAHIA, ROBI, SAMIA, IMANE, NIHAD, ASSIA, DODI.

A tous ceux qui me sont chères.

NASSIMA

Remerciement

Dieu merci pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre promotrice Mme GASMI Sara Nawel, d'avoir accepté de nous encadrer, ainsi que pour son soutien, ses remarques pertinentes et son encouragement.

Nous souhaitons remercier chaleureusement notre Co-promotrice Dr KARRACHE LEFNAOUI .S, pour le temps et l'attention qu'elle a consacré pour le bon déroulement de ce travail.

Nous exprimons nos remerciements à toutes personnes ayant contribué de prés où de loin à la réalisation du travail.

Espérant à la fin que notre travail va satisfaire les membres du jury tout en acceptant leur évaluation qui nous fait plaisir.

HOURIA

NASSIMA

E

EP : émulsion primaire

E/H : émulsion Eau dans Huile

E/H/E : émulsion Huile dans Eau dans Huile

F

F1 : 40%EP+60% Φ_{ext}

F2 : 50%EP+50% Φ_{ext}

F3 : 60%EP+40% Φ_{ext}

H

h : heure

HEC : hydroxyéthylcellulose

HLB : balance Hydrophile Lipophile

H/E : émulsion Huile dans Eau

H/E /H : émulsion Eau dans Huile dans Eau

P

PA : principe Actif

pH : potentiel d'hydrogène

R

Rpm : tours par minute

T

T : température

TA : tensioactif.

Autres symboles

Φ_{ext} : phase extèrne

Sommaire

Chapitre I La peau 17

I.1 Introduction 18

I.2 Avantages et inconvénients de la voie cutanée 20

I.2.1 Avantage de la voie cutanée : 20

I.2.2 Inconvénients de la voie cutanée : 20

I.3 Les formulations utilisées dans l'application topique: 20

I.4 Les facteurs influençant l'absorption 21

I.4.1 Épaisseur et renouvellement du stratum corneum 21

I.4.2 Hydratation du stratum corneum 21

I.4.3 Température cutanée 21

I.4.4 Flux sanguin 22

I.4.5 Âge 22

I.4.6 Site anatomique 22

Chapitre II Généralités sur les émulsions 23

II.1 LES EMULSIONS 24

II.1.1 Définition 24

II.1.2 Les différents types d'émulsions : 24

II.2 Les tensioactifs 25

II.2.1 Définition 25

II.2.2 Classification 26

II.2.3 Propriétés des tensioactifs 27

II.2.4 Critère de Choix des tensioactifs 27

II.2.5 Rôle de TA 30

II.3 Caractérisation d'une émulsion 30

II.3.1 Nature de la phase continue 31

II.3.2 Taille et distribution de la taille des gouttes 31

II.3.3 Rhéologie des émulsions 32

II.4 Formulation des émulsions 33

II.4.1 Choix du type d'émulsion le mieux adapté 33

II.4.2 Choix de l'agent émulsionnant 34

II.5 Instabilités des émulsions 35

II.5.1 Crémage et sédimentation 35

II.5.2 Floculation 35

II.5.3 Coalescence 36

II.5.4 La coalescence partielle 36

II.6 La stabilisation des émulsions 37

II.6.1 Stabilisation stérique 37

II.6.2 Stabilisation électrostatique 37

II.6.3 Stabilisation électrostérique 37

II.6.4 Stabilisation rhéologique 38

II.7 Les émulsions multiples 38

II.7.1 Généralités et définitions 38

II.7.2 Structure des émulsions multiples 38

II.7.3 Composition des émulsions multiples 39

II.7.4 Méthodes de préparation des émulsions multiples 40

II.7.5 Instabilité des émulsions multiples 42

II.7.6 Caractérisation des émulsions multiples 42

II.7.7 Applications des émulsions multiples: 44

II.7.8 Stabilisation des émulsions multiple par biopolymère 46

Chapitre III Les polymères 47

III.1 Les polymères 48

III.1.1 Définition des polymères 48

III.2 Les hydrogels : 48

III.2.1 Les polysaccharides 49

III.2.2 La gélatine 53

Sommaire

Chapitre IV Partie expérimentale 56

IV.1 Introduction: 57

IV.2 Matériels et produits 58

IV.2.1 Matériels 58

IV.2.2 Produits 58

IV.3 Formulation et caractérisation physico-chimique des émulsions multiples 68

IV.3.1 Protocole de formulation 68

IV.3.2 Caractérisation physico-chimique 69

IV.4 Test de dissolution in vitro 78

Liste des figures:

Figure I-1 Différentes parties de la peau humaine 18

Figure II-1: Les différents types d'émulsions 25

Figure II-2: la molécule de tensioactif 26

Figure II-3: (a) émulsion huile dans eau (H/E), émulsion eau dans huile (E/H)..... 28

Figure II-4: Différents types des émulsions multiples 39

Figure III-1: Représentation moléculaire des organismes végétaux 51

Figure IV-1: Formule développée du HEC 59

Figure IV-2: polysorbate 20 (tween 20) 61

Figure IV-3: sorbitan monolaurate (span 20) 62

Figure IV-4: Structure chimique du Diclofenac de sodium (DS) 63

Figure IV-5: Spectre FTIR du Diclofenac de sodium (DS) 64

Figure IV-6: Spectres d'absorption UV des solutions de DS dans un milieu tampon pH6 67

Figure IV-7: Courbe d'étalonnage de Declofénac de sodium dans l'UV à une longueur d'onde λ =276 nm dans un milieu tampon pH6 67

Figure IV-8: Aspect macroscopique de l'émulsion primaire E/H (A) et l'émulsion multiple E/H/E (B)..... 69

Figure IV-9: Viscosimètre utilisé, (SNB-1) Digital Display Viscometer 71

Figure IV-10: Courbe de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations (F1, F2 et F3) au premier jour de préparation..... 72

Liste des figures

Figure IV-11: Courbes de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations (F1, F2 et F3) (figure A, B et C respectivement) au premier(♦), 30eme (■) et 50eme (▲) jour de préparation 74

Figure IV-12: Test de dissolution SOTAX 81

Figure IV-13: profile de dissolution du PA (DS) en fonction du temps des émulsions multiples pour les formules (F1, F2 et F3)..... 82

Figure IV-14: Vitesse de dissolution du PA (DS) en fonction du temps pour les formules (F1, F2 et F3) 83

Liste des tableaux:

Tableau IV-1: Matériels utilisé..... 58

Tableau IV-2: Les différentes préparations des émulsions 69

Tableau IV-3: pH des émulsions formulées (EP, F1, F2 et F3) 70

Tableau IV-4: Résultats de l'effet la température sur les émulsions multiples (F1, F2 et F3):76

Tableau IV-5: Résultats de centrifugation appliqué sur les émulsions multiples (F1, F2 et F3) à température ambiante 77

Introduction générale

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

Les émulsions sont des systèmes formés par la dispersion de fines gouttelettes d'un liquide dans un autre, elles contiennent ainsi une phase dispersée et une phase continue. Il existe plusieurs types d'émulsions dont les émulsions multiples. Ces dernières requièrent usuellement au moins deux tensio-actifs différents pour concilier les interfaces formées par les gouttelettes d'eau dans l'huile, et celles formées par les gouttelettes d'huile dans l'eau. Elles nécessitent aussi au moins deux étapes de préparation par agitation et sont le plus souvent très instables. Également appelée « émulsion du second ordre ». Ces émulsions sont dures à maitriser et à stabiliser car on a forcément deux phases aqueuses ou deux phases huileuses. Pour améliorer la stabilité et le contrôle de la libération de principe active, en utilisent des molécules de tensioactifs, et des polymères de nature protéines et polysaccharides.

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

Les polysaccharides sont utilisés comme épaississants, stabilisants, agents de suspension, agents gélifiants, agents filmogènes, agents d'aération, floculants, liants, émulsifiants, lubrifiants, agents texturants et de structuration.

L'objectif de ce travail est l'étude de la stabilité des émulsions multiples formulées à bases de mélanges de deux polymères (hydroxyéthylcellulose (HEC), gélatine), tensioactifs (Span 20 ,Tween 20) . L'originalité apportée par cette étude est la formulation des émulsions multiple de type E/H/E à base de deux molécules colloïdales.

Ce manuscrit se décompose en quatre chapitres. Le premier, le deuxième et le troisième chapitres sont consacrés à une synthèse bibliographique décrit les notions principales suivantes :

-Généralités sur la peau.

- Généralités sur les émulsions multiples.

- Les polymères notamment la gélatine et les polysaccharides.

Dans le quatrième chapitre, nous décrivons le matériau mis au point, ses composants ainsi que son processus de fabrication et les méthodes de caractérisation et d'études, finalement les résultats expérimentaux et leurs discussions.

Ce travail est achevé par une conclusion générale.

Chapitre I

La peau

La peau

I.1 Introduction

La peau est considérée comme la seule zone de contact direct avec le milieu externe, ceci dit, elle est confrontée à chaque moment à de différents risques, sous différentes formes, ce qui peut causer le disfonctionnement de la peau et ainsi du corps.

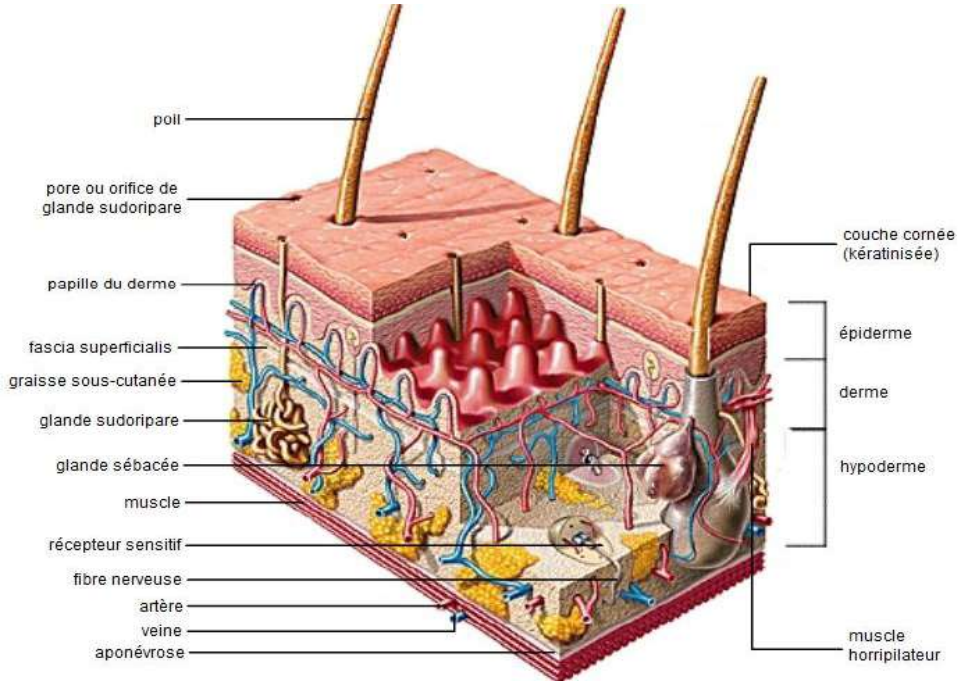


Figure I-1 Différentes parties de la peau humaine

Donc pour assurer la stabilisation du corps elle procède de nombreuses fonctionnalités qui peuvent être divisées en 3 catégories majeures :

- Fonction barrière entre le milieu intérieur (les organes) et l'environnement extérieur: Elle prévient la perte en eau, empêche la pénétration des substances toxiques et pathogènes et protège contre les forces mécaniques (la fonction d'élasticité).
- Contrôle de la température: par la transpiration et par le flux sanguin.

- Fonction de la réparation: En effet, la peau est un organe vivant en continuelle régénération et réparation. Son renouvellement dure 28 jours. Il est continu et peut être accéléré en cas de blessures **[1]**.

Les buts de l'application topique :

L'application d'un produit sur la peau est appelée "application topique". Cette voie d'administration concerne des formulations pharmaceutiques et cosmétiques. La peau peut être la cible des principes actifs en elle-même ou bien elle peut être considérée comme une voie d'administration systémique des médicaments.

L'usage pharmaceutique consiste à appliquer des formulations sur la peau dans plusieurs buts:

- Pour obtenir une action locale en traitement des maladies dermatologiques de type eczémateux (par exemple des corticostéroïdes dans le cas de dermatite) .
- Pour obtenir des effets systémiques en utilisant le passage transdermique (par exemple des patches de nicotine pour cesser de fumer, des patches contenant des dérivés oestrogèniques).
- Pour protéger la surface cutanée (par exemple antisolaires, désinfectants).
- Pour obtenir une action des principes actifs dans les couches profondes de la peau (par exemple des anti-inflammatoires non-stéroïdiens pour le traitement des états inflammatoires musculaires).

I.2 Avantages et inconvénients de la voie cutanée [2]

I.2.1 Avantage de la voie cutanée :

- Facilité d'utilisation.
- Action locale : principe actif (PA) au site d'action.
- Action à différent niveau de profondeur et de structure.
- Action systémique possible

I.2.2 Inconvénients de la voie cutanée :

- N'est pas adapté à tout les PA.
- Temps de latence.
- Fonction de l'état de la peau (pathologie…).

I.3 Les formulations utilisées dans l'application topique:

Il existe une grande variété de formulations qui peuvent être utilisées sur la peau. On peut distinguer différentes formes : des émulsions, des mousses, des gels, des suspensions, de poudres et des solutions aqueuses et huileuses [3-4].

Dans les formulations pour application topique on peut incorporer des vecteurs de substances actives. Cela peut considérablement modifier la biodisponibilité d'un actif. On peut accélérer son passage à travers la peau, cibler une couche particulière ou favoriser un effet réservoir avec une libération modifiée, comme les émulsions multiples [5, 6] qui est le but de notre étude présente. Le développement de formulations permettant d'obtenir l'absorption contrôlée et ciblée de substances actives est toujours d'un grand intérêt [7].

I.4 Les facteurs influençant l'absorption

Les facteurs qui vont influencer l'absorption cutanée sont liés dans une relation triangulaire entre l'état de la peau, les caractéristiques physicochimiques du principe actif ou l'ingrédient actif mais également du type de formulation appliquée et en particulier des excipients qui la compose.

Les principaux facteurs liés à l'état de la peau humaine sont:

I.4.1 Épaisseur et renouvellement du stratum corneum

Il est aisé de concevoir que plus le *stratum corneum* est épais, moins l'absorption sera importante. Les régions palmo-plantaires, caractérisées par un *stratum corneum* épais, sont ainsi de mauvaises voies de pénétration des médicaments.

Le renouvellement du *stratum corneum* auquel succède son élimination progressive participe au ralentissement de l'absorption cutanée. En revanche, tout ralentissement du renouvellement favorisera le maintien d'une concentration importante de principes actifs au sein du *stratum corneum* et facilitera sa pénétration.

I.4.2 Hydratation du stratum corneum

Caractère hydraté ou non du *stratum corneum* est un facteur influençant de façon conséquente l'absorption percutanée.

I.4.3 Température cutanée

Normalement la température cutanée superficielle est d'environ 32°C, et l'augmentation de la température de la peau, notamment au cours des phénomènes inflammatoires, peut favoriser la pénétration de molécules qui y sont appliquées.

I.4.4 Flux sanguin

L'accélération du flux sanguin cutané participe à l'absorption dans le sens où, en éliminant progressivement les molécules du tissu cutané, elle augmente le gradient de concentration (concentration à la surface de la peau et concentration cutanée). Certaines zones sont physiologiquement plus vascularisées, comme le visage, le cou, la paume et les pulpes des doigts et orteils.

I.4.5 Âge

L'absorption percutanée diffère en fonction de l'âge. Le phénomène est d'autant plus important dans le cas d'enfants prématurés (<30 semaines de gestation) [8]. Chez le nourrisson et l'enfant : la barrière cutanée est normale, mais le risque est maintenu en raison du rapport surface/poids, trois fois plus élevé que chez l'adulte [9]. La peau âgée présente également des variations physiologiques importantes vis-à-vis de la peau normale, elle semble être moins perméable à certaines molécules [10], mais le sujet pourrait être plus complexe [11] un amincissement cutané associé à une xérose et le manque d'études récentes doit conduire à la prudence dans ce domaine.

I.4.6 Site anatomique

Des différences existent au niveau cutané en fonction du site anatomique, en particulier sur la densité plus ou moins importante en annexes cutanées mais aussi en épaisseur des couches cutanées.

Chapitre II
Généralités sur les émulsions

II.1 LES EMULSIONS

II.1.1 Définition

Une émulsion est un système comprenant au moins deux liquides non miscibles, dont l'un est dispersé dans l'autre, sous une forme plus ou moins stable. Une émulsion est souvent décrite comme une dispersion de gouttelettes de l'une des phases dans l'autre. On distingue donc une phase dispersée et une phase continue.

Pour que l'émulsion soit durable (c'est-à-dire que l'état dispersé demeure lorsque l'agitation mécanique cesse), il est nécessaire d'utiliser un agent émulsionnant ou émulsifiant, son rôle est de stabiliser le système dispersé en inhibant les phénomènes de dégradation. Les tensioactifs, les polymères et les solides divisés sont des agents émulsionnants. Ceux les plus largement utilisés sont les tensioactifs [12].

II.1.2 Les différents types d'émulsions :

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

II.1.2.1 Les émulsions simples :

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

II.1.2.2 Les émulsions multiples (Figure III-1):

Elles sont symbolisées par h/E/H ou e/H/E; h (respectivement e) indique la phase la plus interne et H (respectivement E) indique la plus externe. Les phases h et H ou "e" et E peuvent être identiques ou différentes.

II.1.2.3 Les biémulsions :

Elles sont des émulsions contenant deux différentes phases internes de gouttelettes, soit de même nature (mais de taille différente), soit de nature différente (quelque soit la taille) [12].

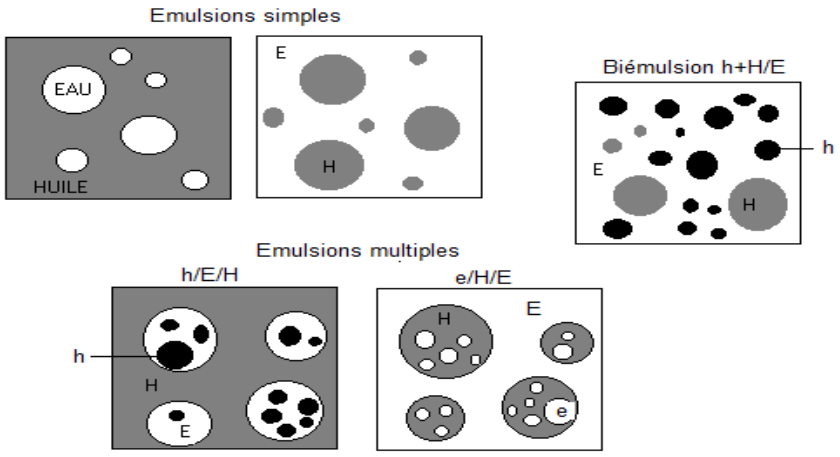


Figure III-1: Les différents types d'émulsions [12]

II.2 Les tensioactifs

II.2.1 Définition

Un tensioactif ou agent de surface encore appelé surfactant, est un composé chimique synthétique ou naturel qui peut modifier la tension superficielle ou interfaciale entre deux surfaces. Les molécules tensioactives comportent deux parties de polarités différentes: Une partie hydrophobe, présentant une affinité pour les solvants non aqueux et une partie polaire, hydrophile, présentant une affinité pour l'eau.

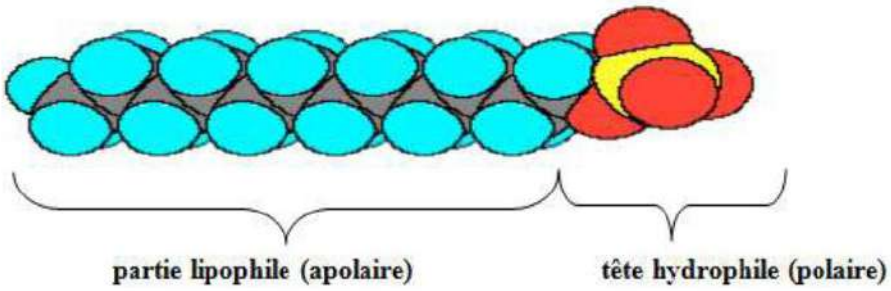


Figure II-2: la molécule de tensioactif [13].

II.2.2 Classification

En fonction de la nature de leur tête polaire, on distingue quatre classes de tensioactifs:

a. Les surfactifs Anioniques: ce sont des surfactifs qui s'ionisent dans l'eau, et dont de plus grande dimension qui est la partie active, est constituée par l'anion, se sont**:** les solvants, les dérivés sulfatés et les dérivés sulfonés.

b. Les surfacifs cationiques: ce sont des surfactifs qui s'ionisent dans l'eau, et dont d'ion de plus grand dimension qui est la partie active, est constituée par le cation, se sont :

- Amines primaires, acétates et chlorhydrates d'amines grasses.
- Sels d'ammonium quaternaires.
- Amides de diamines substituées, cationisés par le sulfate d'éthyle.

c. Les surfactifs non ioniques: ce sont des surfactifs qui ne s'ionisent pas dans l'eau, ils sont généralement classés d'après la nature de la liaison qui unit la partie hydrophile a la partie lipophile, on distingue: les surfactifs a liaison ester, les surfactifs à liaison amide et les surfactifs à liaison éther.

d. Les surfactifs amphotères: les surfactifs amphotères (appelés ampholytes) sont des produits qui renferment, à la fois des groupements acides et des groupements basiques, et qui suivant le pH du milieu dans laquelle ils se trouvent, se comportent: soit comme des surfactifs anioniques (en milieu alcalin), soit comme des surfactifs cationiques (en milieu acide) [14].

II.2.3 Propriétés des tensioactifs

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

- L'adsorption aux interfaces qui provoque une diminution des tensions interfaciales. Cette propriété est responsable des phénomènes de mouillage, de dispersion, de détergence et d'émulsification.
- L'autoagrégation en solution ou micellisation qui gouverne les propriétés de solubilisation et d'émulsification [15].

II.2.4 Critère de Choix des tensioactifs

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

II.2.4.1 Règle de Bancroft

La règle de Bancroft (1913) relie la solubilité du tensioactif au sens de l'émulsion. Ainsi, l'émulsion formée a pour milieu continu la phase dans laquelle le tensioactif est le plus soluble. Par exemple, si le tensioactif est hydrophile, l'émulsion est de type huile dans- eau et inversement une émulsion eau-dans-huile fera appel à un tensioactif à caractère lipophile [16].

II.2.4.2 Balance Hydrophile-Lipophile (HLB)

Le concept HLB, introduit par Griffin, permet de formules des émulsions stables .Cette méthode est basée sur une classification des tensioactifs par hydrophile croissante (elle correspond au rapport entre la proportion des groupements hydrophiles ayant une affinité pour l'eau, et la longueur de la chaine lipophile ayant une affinité pour l'huile) et sur l'utilisation de règles simples de calcul des propriétés de mélanges de tensioactifs.

Le HLB d'une valeur de 9, l'émulsifiant est de caractère lipophile (formation d'une émulions E/H) tendis qu'entre 11et 20, il a un caractère hydrophile (formation d'une émulsion H/E).

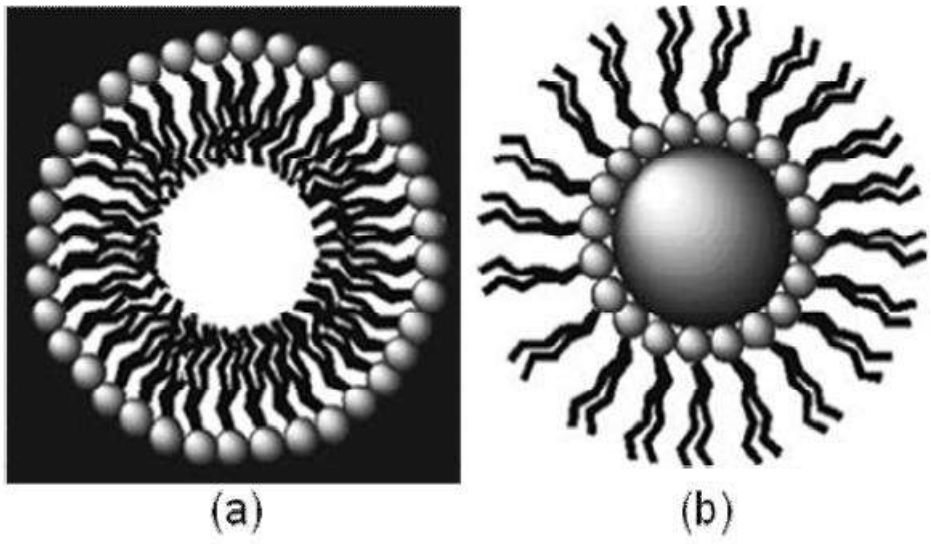


Figure II-3: (a) émulsion huile dans eau (H/E), émulsion eau dans huile (E/H)

Le HLB peut être déterminé selon plusieurs méthodes :

- A partir de la structure chimique à l'aide de formules simples ; par exemple pour un tensioactif non-ionique polyéthoxylé à partir de la relation(Griffin) (1949):

$$HLB = \frac{100}{5}\left(\frac{masse\ de\ la\ chaine\ polyéthoxylée}{masse\ molaire}\right)$$

- Par une méthode de contribution de groupes lipophiles et hydrophiles par la formule(Davies) :

$$HLB = 7 + \sum(HLB\ groupes\ hydrophiles) - \sum(HLB\ groupes\ lipophiles)$$

Tout fois, les deux échelles ne sont pas compatibles et demeurent plus ou moins précises.

Aujourd'hui, il est possible de trouver le HLB de tensioactifs reporté dans la littérature ou dans les catalogues de produit chimiques.

Les émulsions sont avantageusement utilisées en mélange : la valeur HLB d'un mélange binaire se calcule en première approximation par la relation linéaire (Brochette 1999).

$$\boldsymbol{HLB_{mélange} = X_1 HLB_1 + X_2 HLB_2}$$

Où:

X_1: la fraction massique du tensioactif 1 dans la formulation.

X_2: la fraction massique du tensioactif 2 dans la formulation, HLB_1 valeur HLB du tensioactif 1 et HLB_2 du tensioactif 2.

- **Principe**

La méthode de Griffin repose sur deux principes forts : la notion de valeur HLB optimale et la notion de type chimique.

Admettons que, pour une formule donnée (phase polaire+phase grasse+nature des émulsifiant), la variation de composition du mélange d'émulsifiants permette de passer par un optimum de stabilité après émulsification. Cet optimum est donc caractérisé par la valeur HLB du mélange le plus efficace.

Le principe de la valeur HLB optimale impose alors qu'un maximum de stabilité existe encore, même si la nature des émulsifiant est changée : la composition optimale du nouveau mélange est fixée par la valeur HLB déterminée lors de la première expérience.

Il devient donc inutile de réaliser une série complète d'émulsions pour obtenir la meilleure composition d'un mélange d'émulsifiants.

Seuls sont à comparer les optimums obtenus pour différents couples d'émulsifiants pour déterminer lequel donne la meilleure stabilité pour l'émulsion recherchée.

II.2.5 Rôle de TA

Le rôle du tensioactif dans la préparation d'une émulsion est de diminuer la tension interfaciale, donc la différence de pression entre les deux liquides, et par conséquent de diminuer l'énergie nécessaire pour rompre les gouttes .L'adsorption du tensioactif à l'interface des gouttes permet d'augmenter la « stabilité » du système. Rappelons qu'une émulsion est un système thermodynamique instable, qui tend à terme, vers la séparation de phase. Le tensioactif ralentit les mécanismes physiques qui conduisent à la séparation de phase et permet une « stabilité » cinétique du système [17].

II.3 Caractérisation d'une émulsion

Trois critères principaux permettent de caractériser une émulsion :

- la nature des deux phases, continue et dispersée,
- la taille et la distribution de taille des gouttes (granulométrie),
- la rhéologie

II.3.1 Nature de la phase continue

La détermination de la nature de la phase continue d'une émulsion H/E ou E/H est un test très important car, pour une formulation donnée, le type d'émulsion peut changer en fonction du protocole de préparation (température, ordre d'addition des phases,...).

Les trois tests cités par AFNOR (1986) sont fondés respectivement sur :

- La coloration de l'une des phases (par exemple, addition d'un colorant hydrosoluble qui permet d'identifier la phase aqueuse).
- La dilution par addition d'eau qui montre si ce liquide est compatible ou non avec la phase continue.
- La conductimétrie qui est la méthode la plus fiable [17] et celle conseillée par l'AFNOR. La conductivité des émulsions H/E est nettement au moins 1000 fois plus élevée que celle des émulsions E/H. Des expressions théoriques et empiriques ont été proposées pour décrire, la conductivité en fonction du pourcentage de la phase interne**.**

II.3.2 Taille et distribution de la taille des gouttes

La taille de gouttes est généralement déterminée par granulométrie laser. L'histogramme de répartition des diamètres de gouttes donne la distribution de la taille des gouttes qui est une information importante dans la caractérisation d'une dispersion. Deux émulsions identiques peuvent avoir des comportements différents à cause des différences dans la distribution des diamètres. L'analyse granulométrique peut expliquer le comportement rhéologique et la stabilité d'une émulsion. Le gros inconvénient de cette technique d'analyse est la nécessité d'une dilution par la phase continue, excepté avec la granulométrie à ultrasons. Supposer que la taille des gouttes et la distribution de taille reste inchangées après dilution, constitue une hypothèse parfois hardie**.**

II.3.3 Rhéologie des émulsions

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

- La fraction volumique de la phase dispersée.
- La nature et la concentration de l'agent émulsifiant.
- La taille moyenne des particules et leur distribution granulométrique.
- La viscosité de la phase continue et, à un degré moindre, celle de la phase dispersée,
- La tension interfaciale eau/huile [18].

II.3.3.1 Principales grandeurs de la rhéologie

Les principales grandeurs physiques sont les suivantes **:**

- La contrainte de cisaillement: La contrainte de cisaillement est la grandeur dynamique fondamentale de la rhéologie. Elle est définie comme une force par unité de surface, notée τ.
- La déformation et la vitesse de cisaillement: Elle a les démentions de l'inverse d'un temps, notée par **D**.
- La viscosité: La viscosité est par définition la propriété que possède un matériau à résister à un mouvement relatif interne.

Selon la nature du fluide, on définit les différents types de viscosité**:**

- **Viscosité dynamique :** Elle est définie par la relation :

$$\mu = {}^{\tau}/_{D}$$

[D]: s^{-1}.

[τ] : Pa.

[$\boldsymbol{\mu}$] : Pa.s.

Elle est appelée également viscosité apparente. C'est une fonction de la température **T** et de la pression extérieure **P**, mais aussi en générale de la contrainte de cisaillement ou encore selon un de vue toute fait équivalent, de la vitesse cisaillement.

- **Viscosité plastique :** Cette grandeur caractérise les fluides qui possèdent une contrainte seuil d'écoulement, elle est définie par la relation suivante [19]:

$$\mu_p = \tau - \tau_c$$

$\boldsymbol{\tau_c}$**:** Contrainte seuil d'écoulement (Pa).

$\boldsymbol{\mu_p}$**:** viscosité plastique de bingham (Pa.s).

II.4 Formulation des émulsions

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

II.4.1 Choix du type d'émulsion le mieux adapté

Le choix du type d'émulsion et la teneur en phase dispersée se décident cas par cas en fonction des contraintes techniques, économiques, toxicologiques, et autres, imposés par l'industrie utilisatrice. C'est le système H/E qui est choisi dans le plus grand nombre de cas**.**

De point de vue pratique on distingue trois groupes d'émulsions :

II.4.1.1 Les émulsions à faible teneur en phase interne

Elles contiennent jusqu'à 20% de phase dispersée. Ce sont des émulsions fluides, de faible viscosité et leurs comportement rhéologique est le plus souvent newtonien.

II.4.1.2 Les émulsions à teneur moyenne en phase interne

Elles contiennent de 20 à 60% de phase dispersée. Elles sont beaucoup plus visqueuses que les précédentes et ne sont généralement pas newtoniennes.

II.4.1.3 Les émulsions à teneur élevée en phase interne

Elles contiennent plus de 60% de phase dispersée. Ces émulsions correspondent à des cas très particuliers, relativement peu fréquents.

II.4.2 Choix de l'agent émulsionnant

Pour les émulsions à très faible teneur en phase dispersée, on a recours à des agents tensioactifs ioniques qui stabilisent le système par la charge électrostatique qu'ils apportent à l'interface gouttelettes émulsionnées – phase continue.

Dans ce cas, on doit obtenir une émulsion dont les gouttelettes ont des dimensions très petites. Lorsque la teneur en phase dispersée augmente, la formation d'un film protecteur à l'interface particule – phase continue par adsorption de l'agent émulsionnant devient le facteur prépondérant de stabilisation. Se sont les émulsionnants non ioniques qui sont les plus aptes à former ce film protecteur aux interfaces. En règle générale, un mélange d'agents émulsionnants, (soit deux non ioniques. soit un non ionique plus un ionique), est plus efficace qu'un seul produit pour stabiliser une émulsion.

La répartition des agents émulsionnants dans chaque phase, en fonction des solubilités, semble jouer un rôle important dans la stabilisation de l'émulsion [20].

II.5 Instabilités des émulsions

Les émulsions sont des systèmes thermodynamiquement instables. La stabilité des émulsions est donc d'ordre cinétique et est liée à la physico-chimie du système qui peut ralentir voire inhiber les mécanismes physiques qui conduisent à la démixtion des phases. Il existe plusieurs mécanismes de déstabilisation.

II.5.1 Crémage et sédimentation

Ces phénomènes résultent de la différence de densité entre les phases. Sous l'influence de la pesanteur, la phase la plus dense se dirige vers le bas et la plus légère vers le haut.

Ces processus sont réversibles, une simple agitation permet de redistribuer les gouttelettes dans la phase continue [16].

Pour limiter ce phénomène, on a plusieurs possibilités :

- Réduire la taille des gouttes de phase dispersée.
- ajouter un agent qui augmente la viscosité.
- diminuer la différence de densité entre les deux phases.
- éviter l'agrégation des gouttes [18].

II.5.2 Floculation

C'est un phénomène de formation d'agglomérats, généré par les forces d'attraction entre les gouttes. En fonction de la distance entre les gouttes et de la profondeur du puits de potentiel, la floculation peut être réversible ou irréversible [21].

Pour éviter ce phénomène, il faut :

- Éviter le crémage et la sédimentation (car ces phénomènes mettent les gouttes en contact),

- Augmenter les répulsions stériques et électrostatiques (en utilisant des tensioactifs ioniques par exemple).

II.5.3 Coalescence

C'est le mécanisme de dégradation ultime d'une émulsion. Au cours de ce phénomène, deux ou plusieurs gouttes vont fusionner pour former une goutte plus grosse réduisant ainsi l'aire interfaciale entre les deux phases [22].

Le processus se répétant, l'aire interfaciale devient de plus en plus petite et la phase dispersée démixte, et à terme on revient au système diphasique de départ. C'est un processus énergétiquement favorable [23].

Pour éviter ce phénomène, il faut :

- Prévenir la floculation.
- Renforcer la résistance du film par le choix du tensioactif.

II.5.4 La coalescence partielle

Dans le cas particulier des émulsions à base d'huile cristallisable, un mécanisme de destruction supplémentaire a été observé : la coalescence partielle. En présence de cristaux, les surfaces des gouttes peuvent présenter des irrégularités ou des pointes. En effet, lors de la croissance des cristaux, l'énergie du réseau cristallin (réticulaire) peut largement dépasser la tension de surface et conduire à la formation de cristaux non sphériques. La coalescence est partielle car le taux de cristaux présent dans la phase dispersée est généralement suffisant pour empêcher la relaxation de forme et préserver la forme initiale des gouttes.

II.6 La stabilisation des émulsions

Une émulsion est un système qui n'est pas à l'équilibre thermodynamique, 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**.** On peut trouver quatre types de stabilisation : stérique, électrostatique, électrostérique et rhéologique.

II.6.1 Stabilisation stérique

Cette méthode de stabilisation consiste à ajouter de macromolécules de type non ionique, qui s'adsorbent à l'interface des gouttelettes, tels que les polymères amphiphiles. Ces couches macromoléculaires agissent en créant une barrière physique qui augmente la distance entre les gouttes.

Ce type de stabilisation peut aussi se produire par l'ajout de particules solides comme le talc ou la nacre micronisée [24].

II.6.2 Stabilisation électrostatique

Des répulsions électrostatiques apparaissent lorsque, en solution aqueuse, les gouttes sont stabilisées par un tensioactif ionique. Les gouttes sont alors chargées en raison de l'ionisation partielle des fonctions polaires des agents de surface. La présence de cette charge de surface crée une organisation spatiale des ions (présents dans la phase continue) au voisinage de la surface. Les ions de même signe que la surface (Co-ions) sont écartés tandis que les ions de signe contraire (contre-ions) sont attirés [25].

II.6.3 Stabilisation électrostérique

Il s'agit d'une combinaison des deux effets expliqués antérieurement, provoquée par des macromolécules présentant des groupements ioniques distribués dans la chaîne principale ou dans les ramifications. Ces molécules apportent un effet stérique (stabilisation à courte portée) et un effet électrostatique (stabilisation à longue portée) à la particule [25].

II.6.4 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 de choc diminue.

II.7 Les émulsions multiples

II.7.1 Généralités et définitions

Une émulsion multiple est une émulsion dans une émulsion. Également appelée « émulsion du second ordre ». Ces émulsions sont dures à maitriser et à stabiliser car on a forcément deux phases aqueuses ou deux phases huileuses susceptibles de se rassembler.

Les émulsions multiples sont des systèmes complexes constituées d'au moins de deux liquides non miscibles, leurs réalisation nécessite la présence d'émulsifiant primaire et secondaire pour maintenir la stabilité des émulsions multiples [26].

II.7.2 Structure des émulsions multiples

Les émulsions multiples sont des émulsions dans laquelle une phase dispersée renferme une autre phase dispersée. Ainsi on distingue deux catégories d'émulsions comme le montre la figure I.06, selon la nature des émulsifiants mis en jeu, on peut obtenir un des deux types d'émulsion **[18].**

II.7.2.1 Emulsions multiples E/H/E

La dispersion d'une émulsion E/H dans une phase aqueuse (E) donne une émulsion H/E/H (ou E/H/E).

II.7.2.2 Emulsions multiples H/E/H

A l'inverse, la dispersion d'une émulsion E/H dans une phase huileuse (H) donne une émulsion H/E/H. Ces deux exemples correspondent au cas le plus simple d'émulsions multiples. On distingue trois phases: interne / intermédiaire/ externe [27].

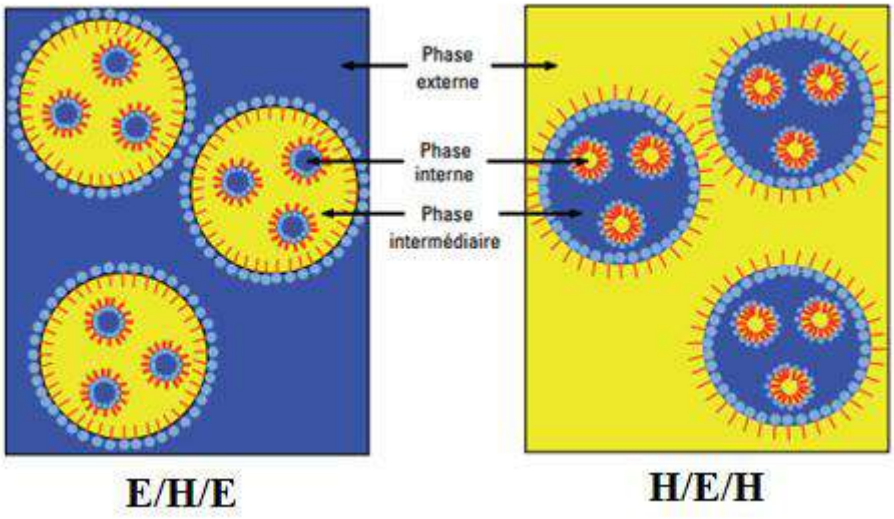


Figure II-4: Différents types des émulsions multiples [27]

II.7.3 Composition des émulsions multiples

Bien qu'il y ait des phases huileuses plus adaptées que d'autres, tous les constituants des émulsions simples permettent d'obtenir des émulsions multiples [28].

Phase huileuse: Les phases huileuses les plus rencontrées sont: les corps gras naturels (glycérides cérites), les hydrocarbures (huiles, cires minérales et oléfines), les esters et les amides [28].

Tensioactifs: Les émulsions multiples étant constituées d'au moins deux liquides non miscibles leur réalisation nécessite la présence d'émulsionnants le plus souvent synthétiques.

Mais aussi parfois d'origine naturelle. Deux émulsionnants au moins sont utilisés. Ils sont appelés émulsionnants primaire et émulsionnants secondaires [29].

Phase aqueuse: Les phases aqueuses à l'intérieur ou à l'extérieur peuvent être identiques mais elles sont, le plus souvent, différentes. La phase aqueuse interne contient les matières que l'on désire diffuser à l'aide de l'émulsion multiple (principe actif, variateur de pH, traceur...) à très faibles concentrations, ils jouent le rôle de marqueurs, permettant ainsi une quantification de la stabilité du système. Ce sont par exemple des électrolytes (NaCl), des sucres (glucose).

A concentration élevée, ils ont pour rôle d'augmenter la stabilité. Ce sont notamment des polymères hydrophiles incorporés les phases aqueuses externes [29].

Additifs de stabilisation: Pour stabiliser les émulsions multiples, il faut utiliser des additifs appropriés à chaque type d'émulsion concernée. En fait, ces additifs sont utilisés pour augmenter la viscosité des phases (polymères cellulosiques, vinyliques, siliciques) et des agents alcalins pour l'ajustage du pH, des phases aqueuses interne et externe [29].

II.7.4 Méthodes de préparation des émulsions multiples

Il existe plusieurs méthodes de préparation des émulsions multiples. Parmi ces méthodes on distingue:

II.7.4.1 Procédé en deux étapes

Ce procédé consiste à réaliser une première émulsion (de premier ordre) qui sera elle-même émulsifiée à une solution aqueuse mélangée à un tensioactif hydrophile (obtention d'une émulsion E/H/E) ou une solution huileuse mélangée à un tensioactif lipophile (obtention d'une émulsion H/E/H) voir (Figure II-4). La première émulsion doit être très stable et donc elle même déjà crée avec un tensioactif [21].

II.7.4.2 Procédé par membrane:

D'autres méthodes pour préparer les émulsions multiples qui ont été envisagées incluent la technique de membrane. Dans cette méthode L'émulsion primaire E/H ou H/E est préparée par l'énergie d'agitation qui fournit par l'appareil à ultrason, et puis rempli dans la chambre supérieure d'un appareil spécial. La phase externe de l'émulsion multiple finale est injectée dans la chambre inférieure pour assurer un écoulement continu. L'émulsion primaire est injectée sous pression afin de former l'émulsion multiple à travers une membrane dont les pores ont des tailles identiques [21].

II.7.4.3 Procédé par 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. Elle peut être induite par :

- La proportion de phase dispersée.
- La température.

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 [30].

Il a été montré qu'après un ajout d'environ 70 % d'eau (avec tensioactif hydrophile) à une émulsion de type E/H, on pouvait obtenir une émulsion multiple de type E/H/E.

Cependant, ce procédé est très sensible et la première émulsion devra être très stable dès le départ pour pouvoir réaliser l'émulsion multiple désirée. Si l'on ajoute trop d'eau, on risque d'obtenir une complète inversion de phase et par conséquent une émulsion de type H/E [21].

II.7.5 Instabilité des émulsions multiples

Les émulsions multiples étant des systèmes thermodynamiquement instables, elles évoluent inéluctablement vers leur rupture, de ce fait, la stabilité de tels systèmes nécessite un soin particulier, elle n'existe grâce à la capacité à ralentir ou inhiber les mécanismes qui conduisent normalement à la démixtion des phases non miscibles. Cette instabilité peut se présenter sous trois formes essentielles: chimique, physique, et microbiologique1 [31].

II.7.5.1 Instabilité chimique

Aucun des composants de l'émulsion ne doit participer à une réaction chimique pouvant soit modifier de manière grave la stabilité physique, soit perturber les propriétés applicatives (aspect, couleur, odeur, efficacité) [31].

II.7.5.2 Instabilité microbiologique

La formulation ne doit pas être un milieu de culture pour levures, moisissures et germes bactériens, au risque de se dégrader (modification de viscosité, de couleur, d'odeur, ou démixtion), mais surtout pour éviter tout problème applicatif [31].

II.7.5.3 Instabilité physique

Les premières sources d'instabilité des émulsions multiples E/H/E sont communes à tous les systèmes dispersés: il s'agit du crémage, de la floculation, de la coalescence des globules huileux et de l'inversion de phase [31].

II.7.6 Caractérisation des émulsions multiples

Les méthodes de caractérisation les plus éprouvées des émulsions et au cours de leurs vieillissement sont [23]:

II.7.6.1 Analyse microscopique

L'examen microscopique est le premier essai effectué pour identifier les systèmes lors du vieillissement. La microscopie optique est une méthode d'analyse usuelle pour contrôler la multiplicité des systèmes [23].

II.7.6.2 Analyse granulométrique

La distribution granulométrique permet une mesure directe de la taille des globules multiples de diamètre supérieure à 0.5µm, ainsi qu'une évaluation du pourcentage des globules multiples par rapport aux globules simples [23].

II.7.6.3 Analyse rhéologique

La puissance de description et le caractère polyvalent des analyses rhéologiques sont presque systématiquement mis à profit pour la caractérisation des émulsions multiples.

Leur très grande diversité permet en effet d'identifier l'émulsion multiple en utilisant l'analyse viscoélastique non destructive, qui fournit une signature précise de sa structure au repos, de simuler par un cisaillement oscillatoire les conditions de l'application dermique et de caractériser son effet au cours du temps et de provoquer un vieillissement accéléré par application de cisaillement intense [23].

II.7.6.4 Détermination du sens de l'émulsion

Les méthodes utilisées pour la détermination du sens des émulsions multiples sont les mêmes que pour les émulsions simples [23].

II.7.6.5 Dosage d'un traceur ou d'une substance active

Ce dosage fournit la valeur de la fraction massique du composé qui demeure en phase interne à l'instant de mesure, par rapport à la masse théoriquement encapsulée. Ce dosage permet ainsi de déterminer le rendement d'encapsulation (Yield) de la fabrication, mais aussi d'étudier la stabilité des émulsions multiples au cours du temps, de suivre la cinétique de libération du compose, par l'éclatement des globules huileux.

Le dosage du traceur se fait soit directement dans l'émulsion multiple, soit dans la phase aqueuse externe après élimination de l'émulsion primaire [23].

II.7.7 Applications des émulsions multiples:

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

Qu'elles soient du type H/E/H ou du type E/H/E, les émulsions multiples sont intéressantes dans les domaines alimentaire et domestiquent où elles sont préconisées soit pour obtenir une meilleure palpabilité des produits à tartiner pour masquer un goût, ou pour modifier des propriétés organoleptiques d'aliments, soit pour améliorer la brillance de cires et d'encaustiques [32].

Dans le domaine pharmaceutique, les émulsions multiples présentent un réel intérêt puisque, tout comme les liposomes et contrairement aux microparticules, leurs compartiments internes rendent possible le transport de principes actifs [33].

Des nouvelles études ont également montré l'intérêt des émulsions multiples E/H/E pour l'administration de médicaments par voie orale exemple l'insuline. Elles ont pour intérêt de protéger le principe actif introduit en phase interne, modifiant ainsi sa libération et favorisant son absorption [34].

Ainsi L'équipe de Higashi travaille depuis plusieurs années sur l'incorporation de principe actif anticancéreux dans les émulsions doubles E/H/E .puisque la majorité des principes actifs dans le traitement des cancers sont hydrophiles [35].

La performance des émulsions doubles a aussi été validée pour l'encapsulation et le relargage contrôlé de protéine, d'antibiotique, de vaccins ou encore pour le traitement de l'overdose [36].

Des émulsions E/H/E et E/H contenant du glucose comme molécule hydrophile modèle ont été comparées dans une étude d'absorption percutanée. Le flux maximal de glucose à travers la peau a été obtenu pour l'émulsion E/H/E, et le plus faible pour l'émulsion E/H [37].

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

en 1995. Une des applications très répandue des émulsions de type H/E/H en cosmétique concerne les crèmes de protection solaire. En effet, une phase continue huileuse résiste mieux à une exposition à l'eau et constitue une protection efficace face aux rayons UV.

L'avantage, par rapport à une émulsion simple E/H, est la diminution de la quantité d'agent épaississant nécessaire à la stabilisation de l'émulsion [32].

II.7.8 Stabilisation des émulsions multiple par biopolymère

Les polymères sont des matériaux composés de macromolécules. Celles-ci sont constituées par la répétition d'unités simples de faible masse moléculaire, liées entre elles par des liaisons covalentes Les molécules qui s'enchaînent pour former le polymère sont appelées monomères. Lorsqu'un polymère est obtenu à partir de deux ou de plusieurs monomères différents, il est appelé copolymère. Dans le cas contraire, on parle alors d 'homopolymère.

Les biopolymères sont donc des polymères issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables. Ces polymères connaissent depuis quelques années un réel essor du fait de leurs origines biologiques et surtout de leur caractère biodégradable. Leurs utilisations en substitution ou même en mélange à d'autres polymères synthétisés à partir d'hydrocarbures offrent donc des applications intéressantes. En effet, dans un monde où les matériaux recyclables ou biodégradables prennent peu à peu plus de place, les biopolymères sont de plus en plus valorisés [38].

Chapitre III

Les polymères

III.1 Les polymères

III.1.1 Définition des polymères

Les polymères sont parmi les produits chimiques ayant le plus d'applications industrielles.

Ce sont des macromolécules obtenues par la combinaison d'un grand nombre de molécules plus petites. Les polymères ont une masse molaire très importante.

Le monomère est le nom donné à la petite molécule à partir de laquelle est formée la macromolécule. La réaction est une polymérisation.

Les polymères sont divisés en deux catégories :

- Les polymères d'addition, obtenus par l'enchaînement d'un grand nombre de molécules monomères ; si ces molécules sont identiques on obtient un homopolymère, par contre si les monomères sont différents (en général deux) on obtient un copolymère.
- Les polymères de condensation, obtenus par la condensation d'un grand nombre de molécules, cette réaction s'effectue avec l'élimination d'une petite molécule, en général l'eau [39].

III.2 Les hydrogels :

Hydrogels de polymères sont une classe particulière de gels dans lesquels une certaine quantité d'eau est retenue par une quantité généralement beaucoup plus faible (0,1 a 10 %) de polymères ayant formé un réseau tridimensionnel. Ces systèmes combinent à la fois les propriétés d'un liquide et d'un solide.

On dit que ce sont des matériaux viscoélastiques.

La principale caractéristique de l'hydrogel est sa capacité a gonfler en présence d'eau et a se contracter en l'absence d'eau. Cette propriété est conditionnée par la nature des chaines du polymère et par leur densité d'enchevêtrement. Dépendant des interactions mises en jeu.

Plusieurs hydrogels réagissent aux stimulants de leur environnement tel que la température, le pH, la concentration ionique, le champ électrique et la lumière.

De nos jours les hydrogels de ce type sont d'intérêt important et forment une nouvelle classe de matériaux désignée par "biomatériaux intelligents" [40].

Ils sont a la base de nombreuses applications industrielles dans l'agro-alimentaire, le biomédical, les cosmétiques, l'industrie pharmaceutique… Ils interviennent par exemple dans l'enrobage de médicaments, comme matrice pour immobiliser des enzymes ou comme support chromatographique. De plus, ces systèmes ont des propriétés chimiques et physiques modulables [41]

Selon la structure moléculaire du polymère utilise, la concentration, l'agent gélifiant…

Le plus souvent, un hydrogel est forme par incorporation en milieu aqueux de polymères d'origine semi-synthétique (dérivés cellulosique), synthétique (alcool polyvinylique, polyvinylpyrrolidone…), ou naturelle tels que les gommes, les alginates ou les carraghénanes [42].

Les hydrogels possèdent plusieurs propriétés qui font d'eux des matrices idéales et fournissent des réseaux efficaces lors de la libération des principes actifs [43].

III.2.1 Les polysaccharides

Les polysaccharides sont des macromolécules constituées d'un très grand nombre de monosaccharides liés entre eux par des liaisons glycosidiques. 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 [44]. On distingue :

- Les homo-polysaccharides dans lesquels le même résidu de sucre est répété des centaines ou des milliers de fois, conduisant à des macromolécules de masse moléculaire importante (104 à 106) et qui portent des noms qui dérivent de leur sucre constitutif [45].
- Les hétéro-polysaccharides présentent 2 ou plusieurs types de monosaccharides.

Les polysaccharides peuvent être classés selon leurs origine (animale ou végétale) ; leur nature soit de réserve (comme l'amidon) ou structurale (comme la cellulose) ; la présence d'amidon (polysaccharides non amylacés PNA ou amylacés) ; leurs solubilités dans l'eau ou leurs digestion dans le système gastro-intestinal humain [46, 47].

Les polysaccharides sont utilisés comme épaississants, stabilisants, agents de suspension, agents gélifiants, agents filmogènes, agents d'aération, floculants, liants, émulsifiants, lubrifiants, agents texturants et de structuration [48].

Les polysaccharides sont principalement utilisés pour épaissir de l'eau en gel et sont souvent classés en deux groupes : épaississants et gélifiants [49].

III.2.1.1 La cellulose

Les macromolécules de cellulose associées forment des micro-fibrilles, qui elles-mêmes associées en couches, forment les parois des fibres végétales. Cela est renforcé par l'établissement de liaisons hydrogènes entre les molécules de glucose des différentes chaînes

[50].

La cellulose est le principal constituant du bois, elle se situe dans la membrane cytoplasmique des cellules comme représentée dans la Figure **III-1**.

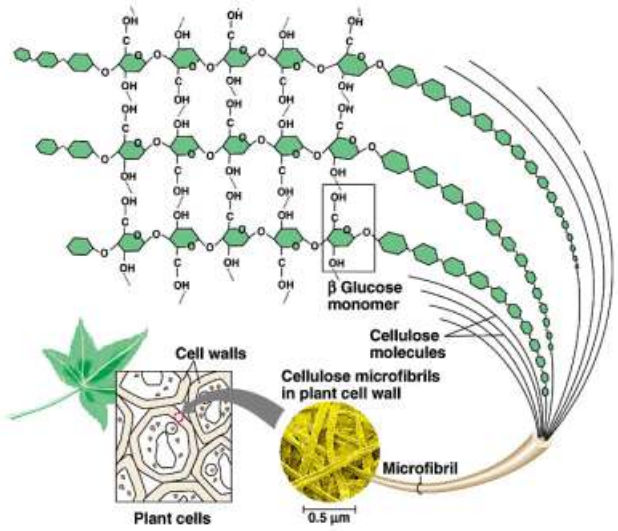


Figure III-1: Représentation moléculaire des organismes végétaux

Organisation des molécules de la cellulose [51]

La cellulose est un polymère correspondant à la combinaison de plusieurs molécules de glucose, liées entre elles. Les différents monomères de glucose sont liés entre eux par des liaisons bêta 1-4, conduisant à une structure linéaire.

Les polymères de celluloses s'associent entre eux par des liaisons intermoléculaires de type liaison hydrogène (pont hydrogène), lui conférant ainsi une structure fibrillaire. A l'état natif, les chaines de la cellulose s'organisent sous forme de micro-fibrilles qui s'agglomèrent à leur tour dans les macro-fibrilles pour donner enfin la fibre de cellulose.

Les différents types de cellulose utilisés sont obtenus par traitement mécanique ou chimique de la cellulose native (cellulose I). Le traitement mécanique et chimique à l'acide chlorhydrique aboutit à la cellulose en poudre et à la cellulose microcristalline [52].

En raison de la présence des groupements hydroxyle sur chaque motif constituant le polymère de la cellulose et par leur facile accessibilité, il y a possibilité de création de liaisons hydrogènes intra- et inter- moléculaires donnant ainsi aux celluloses une tendance a s'agréger pour former des arrangements cristallins très ordonnés [52].

Par traitement chimique de la cellulose native (I), on aboutit à trois autres structures cristallines, la cellulose II, la cellulose III et la cellulose IV [52].

III.2.1.2 Les dérivés de la cellulose

La cellulose est un homopolymère composé d'unités de D-glucose liées entre elles par des liaisons β-1,4. Les polymères de la cellulose ont une forte tendance à s'agréger et a s'associent entre eux par de fortes liaisons intermoléculaires de type hydrogène entre les groupements hydroxyles (-OH). Ce qui pousse les chaînes à se regrouper en formant des structures cristallines donnant ainsi aux fibres de celluloses la bonne ténacité et l'insolubilité dans l'eau et dans la plupart des solvants.

Une solution pour améliorer la solubilité de ces polymères est de substituer les atomes d'hydrogènes des groupements hydroxyls par des radicaux (–R) qui vont interférer avec les liaisons hydrogènes. Ces radicaux dans le cas l'éthérification peuvent être des groupements

methoxy ($-CH_3$) et/ou hydroxypropoxy ($-CH_2CH(CH_3)-OH$).

Donc, on peut amplifier et changer les propriétés de ces polymères par modification chimiques, les groupements hydroxyles vont réagir avec différents composés pour donner les dérivés de cellulose aux propriétés propres [53].

Les principales familles de dérivés cellulosiques sont les esters et les éthers. Les esters de celluloses sont obtenus par estérification de la cellulose ; on peut noter comme exemple l'acétate de cellulose.

Les éthers de cellulose quand à eux sont obtenus par éthérification. En fonction du groupement éther, on distingue les éthers de celluloses insolubles dans l'eau comme

l'éthylcellulose et les éthers de cellulose solubles dans l'eau, comme exemple l'acétate de cellulose.

Les éthers de cellulose quand à eux sont obtenus par éthérification. En fonction du groupement éther, on distingue les éthers de celluloses insolubles dans l'eau comme l'éthylcellulose et les éthers de cellulose solubles dans l'eau, comme :

- CMC (Carboxyméthylcellulose, carboxyméthylcellulose sodique),

- MC (Méthylcellulose),

- HPC (Hydroxypropylcellulose),

- MEC (Méthylméthylcellulose),

- HPMC (Hydroxypropylmethylcellulose),

- HEC (Hydroxyéthyl Cellulose)

Les dérivés de cellulose sont généralement produits en différentes qualités qui se distinguent par leur degré de substitution et de polymérisation [54].

III.2.2 La gélatine

Est une macromolécule obtenue par dégradation du collagène. Le collagène est une protéine contenue dans les tissus conjonctifs et interstitiels de la plupart des animaux, elle est formée de trois chaînes d'acides aminés enroulés en hélice. Tous les organes contiennent du collagène mais ce sont la peau, les tendons et les os qui en sont les plus riches.

Les gélatines issues d'un traitement alcalin sont couramment désignées sous l'appellation «gélatine type B» tandis que les gélatines issues d'un traitement acide sont appelées «gélatine type A».

III.2.2.1 Structure et composition

La structure primaire est semblable à celle du collagène. L'analyse de la variation de la composition en acides aminés des gélatines en fonction du prétraitement, montre d'une manière générale, que le prétraitement acide modifie peu la composition en acides aminés de la gélatine par rapport au collagène dont elle dérive et que le prétraitement alcalin transforme les résidus asparagine et glutamine en acides aspartique et glutamique.

On peut constater que la gélatine est composée d'un certain nombre d'acides aminés hydrophobes (proline, leucine) et hydrophiles (sérine, arginine, etc), qui lui confèrent un caractère amphiphile.

La structure secondaire : selon l'origine de la matière première et le type de traitement qui lui est appliqué, la dénaturation du tropocollagène en gélatine peut fournir trois types de molécules. Les chaînes α_1 et α_2, les chaînes β qui sont issues de l'association entre une chaîne α_1 et une chaîne α_2 (β_{11} ; β_{12}) ; et des chaînes γ, oligomères de 3 chaînes α (γ_{112}). Les chaînes α, β et γ se différencient par leurs masses moléculaires moyennes respectives de 100 000, 200 000 et 300 000 $g.mol^{-1}$ (Figure 8*)*. Ceci donne lieu à un mélange de fragments de différents poids moléculaires.

III.2.2.2 La gélatine en solution

La gélatine se présente sous forme de grains, qui une fois mis dans l'eau se mettent à gonfler. Pour que la gélatine soit solubilisée, il est nécessaire de la chauffer à des températures supérieures à 40°C.

- Pour des températures supérieures à 40°C, la gélatine présente une structure dite désordonnée, dans laquelle on retrouve en solution, un mélange de différentes fractions α, β, γ en conformation de pelotes statiques. Le système ainsi obtenu est une solution de gélatine, on dira également que la gélatine est à l'état sol [55].
- Si l'on refroidit une solution de gélatine, un phénomène de gélification se met alors en place. Il s'agit là d'une des principales raison de l'utilisation de la gélatine par les industriels.

La gélification traduit une transition conformationnelle, c'est-à-dire le passage de l'état désordonné (pelote statistique) à l'état ordonné (hélice gauche).

Chapitre IV

Partie expérimentale

IV.1 Introduction:

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

Le but de ce travail consiste à formuler et caractériser de émulsions multiples de type E/H/E, stabilisées par deux types polymères de natures différents: le hydroxyéthylcellulose (HEC) qui est un polysaccharide et la gélatine qui est de nature protéique. Le principe actif modèle utilisé dans ce travail, pour étudier les propriétés de libération, est le diclofenac de sodium (DS).

Enfin, trois parties seront envisagées:

1. La formulation et la caractérisation physico-chimique des émulsions: cette partie va donc être réalisée afin de mettre au point le protocole de formulation des différentes émulsions et déterminer leurs différents caractéristiques physicochimiques.
2. Etude de la stabilité des émulsions multiples en fonction du temps.
3. Etude du profil de libération du principe actif modèle in vitro en terme de dissolution.

IV.2 Matériels et produits

IV.2.1 Matériels

Le tableau suivant (Tableau IV-1) résume tous les équipements utilisés dans ce travail:

Tableau IV-1: Matériels utilisé

Matériels	**Définition**
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	Heidolph (MR Hei-Standard)
Homogénéiseur	Ultra-Turax T25
pH-mètre	Mark Metrhom AGCH-9100 Hrisan (E632).
Viscosimètre	(SNB-1) Digital Display Viscometer
Centrifugeuse	Hettich (ZENTRIFUGEN)
Microscope optique	OPTECH (optical technology)
Balance analytique et plaque chauffante	DENVER INSTRUMENT
Dissolutest	Sotax AT 7 ID-Nr: 16887
pH-mètre	Sartorius
Spectrophotomètre UV visible	Perkin Elmer
Etuve	Memmert
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	FTRIR-8400 SHUMADZU

IV.2.2 Produits

IV.2.2.1 Les polymères stabilisants

a) Hydroxyéthylcellulose

L'Hydroxyéthylcellulose est disponible dans une large gamme de viscosité ; selon le degré de substitution, elle est soluble dans l'eau froide, l'eau chaude ou des mélanges d'eau et de solvants organiques miscibles avec l'eau. La structure non ionique et sa solubilité dans l'eau froide et dans l'eau chaude sont les avantages principaux pour l'utilisation du HEC, qui est largement utilisé dans les formulations pharmaceutiques, Il est principalement utilisé comme un agent épaississant dans les préparations ophtalmique, il est également utilisé comme liant et agent de pelliculage pour les comprimés. Il est

présent dans les préparatifs de lubrifiant à sec, d'entretien des lentilles de contact, et la bouche sèche [53,54].

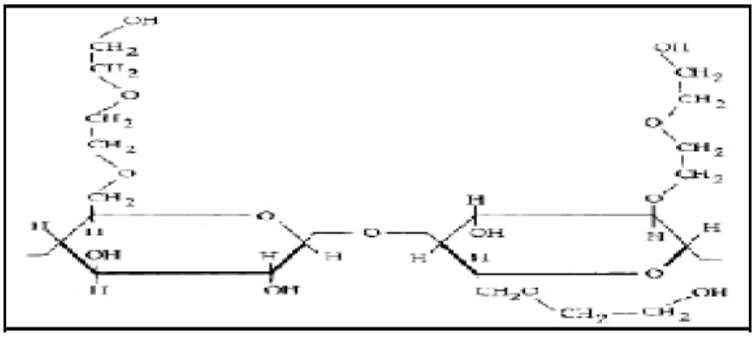


Figure IV-1: Formule développée du HEC [54]

IV.2.2.2 Gélatine

La gélatine est soluble dans l'eau chaude, le glycérol, l'acide acétique; insoluble dans les solvants organiques, l'éthanol , chloroforme ,l'éther:

a) Masse volumique de gélatine : 0,68 g·cm^{-3} (20 °C)
b) Viscosité de gélatine : 2-7(m Pa.s)
c) 18900-23500 g.mol^{-1}
d) Type B

IV.2.2.3 Vaseline

a) Définition:

La vaseline est un mélange d'hydrocarbures obtenus par purification des fractions lourdes de certains pétroles. La vaseline utilisée pour ce travail offre le plus haut degré de pureté conforme aux exigences des pharmacopées.

b) Aspect:

Substance onctueuse et pâteuse, de consistance variable suivant les emplois auxquels on la destine, de couleur blanchâtre, translucide en couches minces, légèrement fluorescente à la lumière du jour à l'état fondu. [55]

c) Solubilité:

Non miscible à l'eau, la vaseline fondue est miscible en toutes proportions au chlorure de méthylène. Les solutions de vaseline, par refroidissement, peuvent laisser apparaître un léger dépôt. F : 36 °C à 60 °C. La vaseline présente un caractère filant plus ou moins marqué. Elle est pratiquement anhydre.

d) Caractéristiques:

Densité relative: 0.827-0.890 (15°C)

Viscosité dynamique: 110-230 mPa.s (20°C)

IV.2.2.4 Tween 20 [56]:

Le polysorbate 20 est un mélange d'esters d'acide laurique partiels de sorbitol et de ses anhydrides co-polymérisés avec 20 moles environ d'oxyde d'éthylène pour chaque mole de sorbitol et d'anhydrides de sorbitol. L'acide laurique utilisé pour l'estérification peut contenir d'autres acides gras.

C’est un liquide huileux jaunâtre ou jaune brunâtre, limpide ou faiblement opalescent, miscible à l'eau, à l'acétate d'éthyle, à l'éthanol et au méthanol, pratiquement insoluble dans les huiles grasses et dans la paraffine liquide.

Formule :$C_{58}H_{114}O_{26}$

a) densité : 1,1 $g.cm^{-3}$
b) masse molaire : 1227,54 $g.mol^{-1}$
c) HLB: 16,7
d) structure :

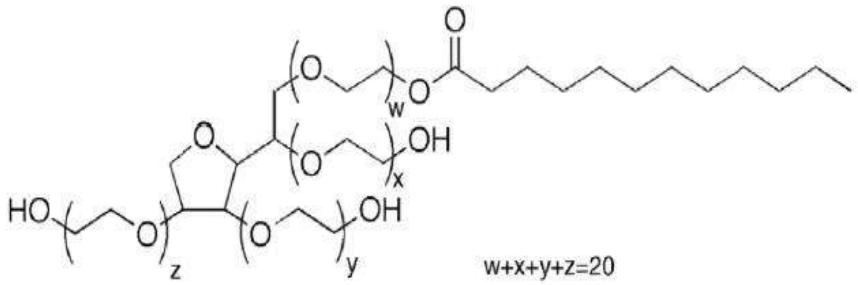


Figure IV-2: polysorbate 20 (tween 20)

IV.2.2.5 Span 20 (sorbitan monolaurate)

Produit non-toxique inodore huileux ; légèrement soluble en isopropanol, tetracarp, xylène, huile de coton et huile minérale, légèrement soluble en paraffine liquide, vaseline , et insoluble dans l'eau. Le Span 20 est principalement employée dans la médecine, les produits de beauté, les textiles etc. en tant qu'émulsifiant de type d'eau/huile.

formule :$C_{24}H_{46}O_6$

a) densité :1.032 $g.ml^{-1}$ (25 C°)
b) HLB= 8,6
c) Masse molaire : 346,47 $g.mol^{-1}$
d) structure :

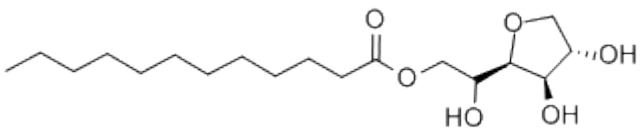


Figure IV-3: sorbitan monolaurate (span 20)

IV.2.2.6 Diclofenac de sodium (DS) (le principe actif)

Le diclofenac de sodium est une substance active anti-inflammatoire appartenant à la classe chimique des acides aryl-carboxyliques. Il est utilisé pour ces propriétés antalgiques et anti-inflammatoires non stéroïdiennes (AINS) dans le traitement symptomatique de certaines douleurs notamment les infections douloureuses, les douleurs dentaires et les arthroses. La demi-vie du DS est de 1-2 heures, et donc requis la prise de multiple dose afin de maintenir des taux sanguins nécessaire au traitement.

Les effets secondaires d'administration du DS à long terme se résument essentiellement à des perturbations gastro-intestinales, des ulcérations peptiques et des perforations gastriques.

a) Formule chimique : $C_{14}H_{19}Cl_2NNaO_2$, M=318.13

- **Dénomination commune internationale (DCI) :** Sodium 2-[(2,6-dichlorophenyl)aminophényl] acétate.
- **Point de fusion :** 280°C avec décomposition

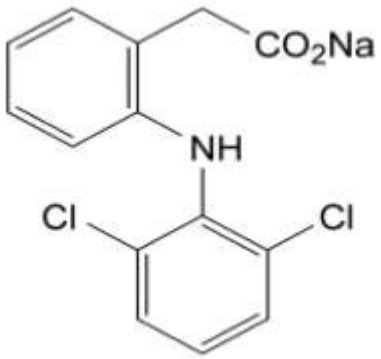


Figure IV-4: Structure chimique du Diclofenac de sodium (DS) [57]

b) Solubilité : C'est une poudre cristalline blanche à légèrement jaunâtre, peu hygroscopique, peu soluble dans l'eau, très soluble dans le méthanol, soluble dans l'éthanol, légèrement soluble dans l'acétone. Le DS est peu soluble en milieu acide mais il est très soluble en milieu basique.

c) Identification par FTIR : La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infra Red spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé.

Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

- ***Principe :*** Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise. Le domaine infrarouge entre 4000 cm-1 et 400 cm-1 (2.5 – 25 μm) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée on peut déterminer les modes de vibration actifs en infrarouge grâce à la Théorie des Groupes.

La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau.

L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe les intensités de l'absorption.

- ***Mode opératoire :*** Les spectres FTIR ont été obtenus pour des pastilles de DS / KBr, la proportion de DS étant de 1 %. Pour produire les pastilles, le principe actif est broyée en présence du KBr, le mélange est ensuite comprimé sous une pusse (presse) Perkin-Elmer. Des pastilles translucides ont été obtenues. 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 8 cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 128. Les résultats sont donnés par la Figure **IV-5**:

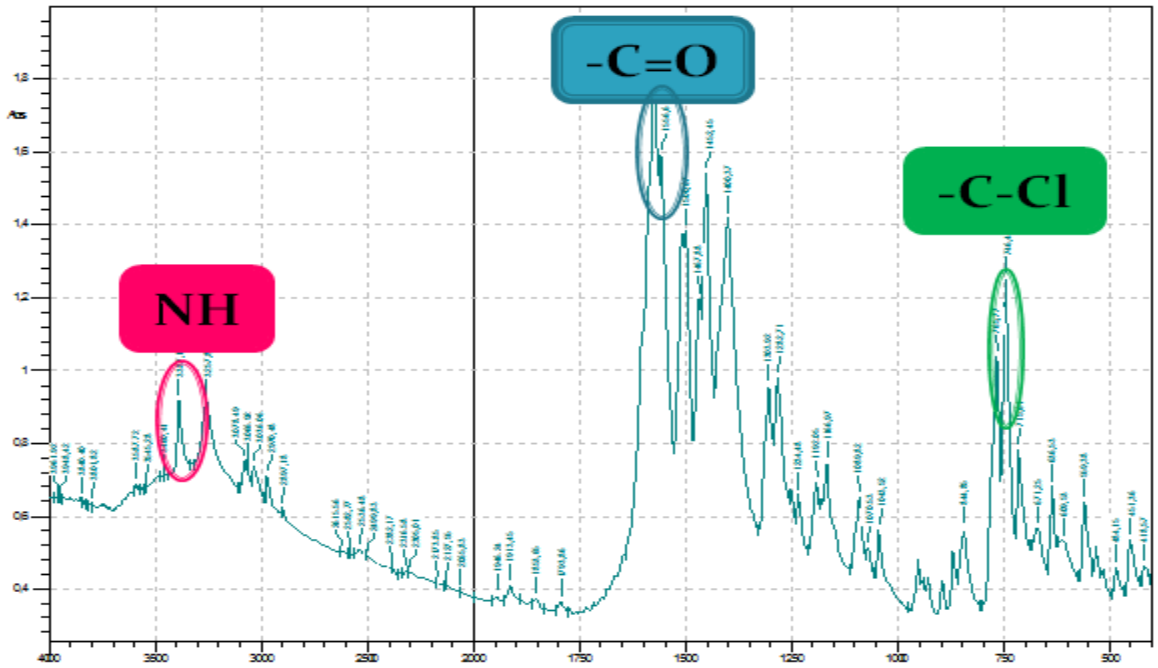


Figure IV-5: Spectre FTIR du Diclofenac de sodium (DS)

d) Dosage du principe actif par spectroscopie UV-VIS : La spectroscopie UV-visible est basée sur la capacité des molécules d'absorber une radiation électromagnétique. En pratique, la spectroscopie UV-visible est largement utilisée pour diverses applications dont la détermination des concentrations par utilisation d'une courbe d'étalonnage est la plus connue.

- **Principe de la spectroscopie UV-VIS :**

La spectrométrie d'absorption moléculaire dans le domaine ultraviolet (UV), de 185 à 380 nm environ, et visible (VIS), de 380 à 800 nm environ, est une technique courante de contrôle et d'analyse de composés chimiques. Elle s'applique à des groupements d'atomes (ex : molécules, ions, polymères) qui absorbent le rayonnement électromagnétique dans le domaine UV-VIS.

L'absorption de la lumière UV-VIS par les molécules se produit, comme pour les atomes, du fait de transitions électroniques entre différents niveaux d'énergie. Un électron à l'état fondamental absorbe des radiations d'une énergie E suffisante pour l'élever à un niveau d'énergie supérieur, l'état excité.

Les longueurs d'onde d'absorption d'une molécule organique dépendent de l'énergie de liaison de ses différents électrons [58].

La substance à analyser est exposée à une radiation lumineuse de longueur d'onde «λ» déterminée ou variable. Une partie de cette lumière (I_0) est absorbée par cette substance, provoquant de ce fait des changements dans la molécule ; l'autre partie de la lumière est transmise (I). L'absorption de cette radiation est déterminée par la loi de Beer-Lambert donnée par la relation suivante :

$$\mathbf{T} = \frac{\boldsymbol{I}}{\boldsymbol{I_0}} = \boldsymbol{e^{\varepsilon.c.l}}$$

L'absorbance (ou densité optique) est donnée par la relation suivante :

$$\boldsymbol{A}\ (\boldsymbol{DO}) = -\log \boldsymbol{T}$$

Avec :

I_0 : intensité de la lumière incidente.

I : intensité transmise.

ε : coefficient d'extinction dépendant de la nature de la substance et de la longueur d'onde de la radiation.

c : concentration de la substance analysée (en $mol.L^{-1}$).

l : épaisseur traversée (en cm).

T : transmittance.

A : absorbance (ou densité optique).

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

Un balayage dans le domaine UV-Vis a été effectué afin de déterminer la longueur d'onde optimale λmax, correspondant à l'absorption de la molécule DS dans le milieu de dissolution. Pour la détermination de λmax, Les solution de DS sont préparées dans une solution tampon à pH6, à une concentration de 0,1 mg/ml. Les résultats montrent des pic d'absorptions maximums définis à une longueur d'onde λmax= 276 nm.

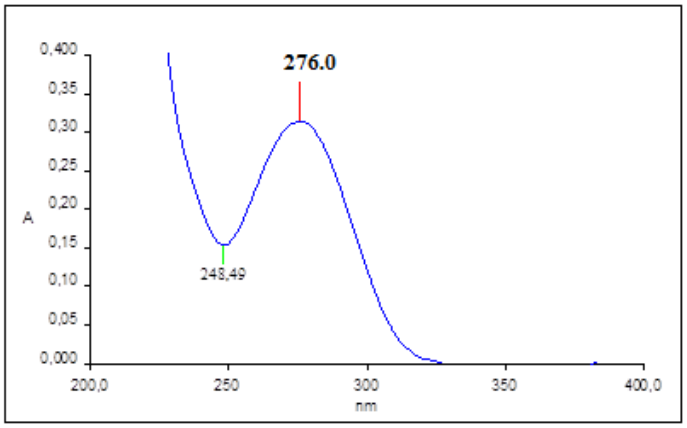


Figure IV-6: Spectres d'absorption UV des solutions de DS dans un milieu tampon pH6

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

Pour déterminer la courbe d'étalonnage, nous avons préparés des solutions Diclofenac par dilution de la solution mère dont les concentrations obtenues varient entre 0.006 ,0.01,0.02 et 0.03 mg/ml. La densité optique (DO) a été mesurée pour chaque concentration à une longueur d'onde λ=276nm.

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

- **Préparation des solutions tampons**

150 mL d'une solution de K_2HPO_4 à 1M a été ajoutée à 500 mL de solution de KH_2PO_4 à 1M. On ajuste le pH à 6 avec une solution de KOH à 45%.

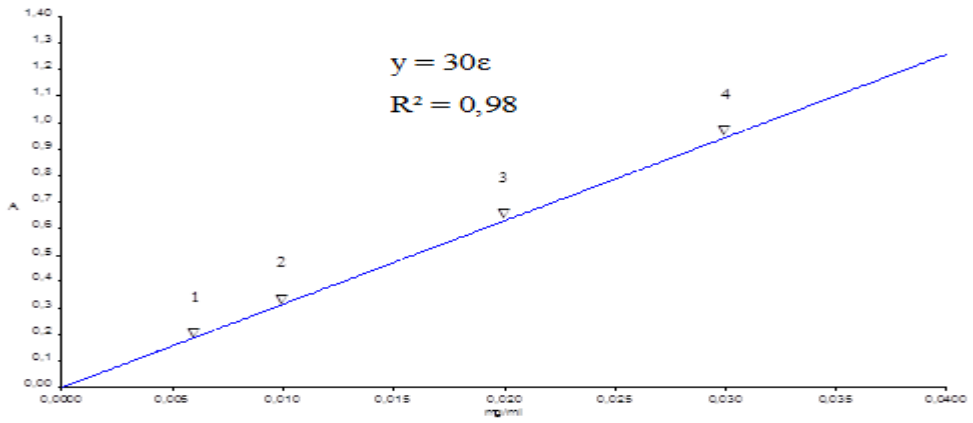


Figure IV-7: Courbe d'étalonnage de Declofénac de sodium dans l'UV à une longueur d'onde λ =276 nm dans un milieu tampon pH6

D'après les résultats obtenus, la méthode de dosage du DS par UV offre une bonne détection présentée par la bonne linéarité suivant la loi de Lamber-Beer se traduisant par un coefficients de corrélation de 0,98 dans le milieu étudié.

IV.3 Formulation et caractérisation physico-chimique des émulsions multiples

IV.3.1 Protocole de formulation

La préparation des émulsions a été réalisée par la méthode à deux étapes:

IV.3.1.1 Préparation de l'émulsion primaire (EP)

100 mL de la phase aqueuse contenant 2% et 10% de HEC et de gélatine, respectivement, a été introduite progressivement à 100 g de vaseline liquide contenant 10 g de span20. L'émulsion a été obtenue par homogénéisation avec un homogénéiseur Ultra-Turrax T25 à une vitesse de 5000 rpm pendant 5 minutes à 60°C.

IV.3.1.2 Préparation de la phase extèrne (Φ_{ext})

100 mL de solution de HEC à 2% contenant 5% de Tween 20 a été préparée pour la phase extérieure de l'émulsion multiple.

IV.3.1.3 Emulsification secondaire

Pour réaliser notre étude, trois formulations d'émulsions multiples ont été préparées en changeant les proportions de l'émulsion primaire et la phase extérieure (

Tableau IV-2).

Tableau IV-2: Les différentes préparations des émulsions

Formulation	F1	F2	F3
Proportion	40%EP+60% Φ_{ext}	50%EP+50% Φ_{ext}	60%EP+40% Φ_{ext}

L'émulsification secondaire à été obtenue par homogénéisation avec le même homogénéiseur à une vitesse de 2500 rpm pendant 10 minutes à 50°C.

IV.3.2 Caractérisation physico-chimique

IV.3.2.1 Aspect macroscopique

Une analyse macroscopique basée sur une visualisation à l'œil nue a été réalisée, elle consiste à observer l'aspect des émulsions formulées. Les émulsions formulées (EP, F1, F2 et F3) ont montrées un aspect crémeux blanc homogène épais et onctueux (Figure IV-8).



Figure IV-8: Aspect macroscopique de l'émulsion primaire E/H (A) et l'émulsion multiple E/H/E (B)

Les émulsions ne présentaient pas de changements d'apparence, d'homogénéité au cours de la période d'analyse à température ambiante ou à 4°C (température de stockage).

IV.3.2.2 Etude du pH

La mesure du pH est nécessaire, car il peut avoir des conséquences, sur l'aspect thérapeutique d'une préparation dermique.
En effet, il peut avoir une influence sur la stabilité physique d'une crème ou d'un gel, ou sur celle d'un principe actif, ou modifier les caractéristiques rhéologiques ou l'activité des conservateurs, ou être responsable d'une incompatibilité entre excipients et substances médicamenteuses.

Enfin, le pH des formes topiques peut modifier celui de la peau, compris entre 4,2 et 5,8 [60]. La mesure directe du pH des émulsions E/H n'est pas possible a cause de leur structure colloïdale. Avant de le mesurer, il faut séparer les différentes phases. pour cela nous avons effectuer une dilutions des différentes formulations (EP, F1, F2 et F3), 1g d'émulsions dans 100mL d'eau distillée. Les résultats obtenues sont présentées dans le tableau suivant:

Tableau IV-3: pH des émulsions formulées (EP, F1, F2 et F3)

Formulation	EP	F1	F2	F3
pH mesuré après dilution	7,4	6,2	6,25	6,3

On remarque que les valeurs du pH des formules préparées varient de 6,2 à 6,3, ce qui est très proche du pH de la peau et considéré comme acceptable pour éviter le risque d'irritation après l'application du produit sur la peau.

IV.3.2.3 Viscosité apparente

Les propriétés rhéologiques d'une émulsion constituent l'un des meilleurs moyens d'étude de l'influence des paramètres de formulation et des procédés de fabrication sur les qualités d'un produit. C'est la raison pour laquelle, une étude de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement à était réalisée.

Etude expérimentale

Les mesures de la viscosité ont été réalisées par un viscosimètre à température ambiante directement après formulation (Figure IV-9).

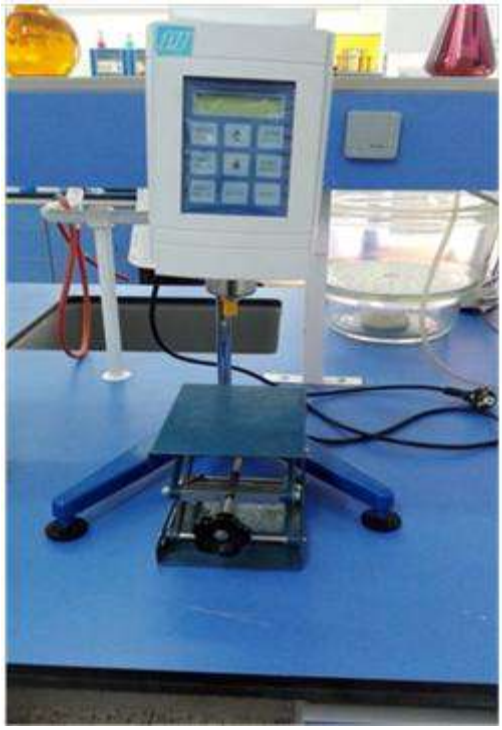


Figure IV-9: Viscosimètre utilisé, (SNB-1) Digital Display Viscometer

Les mesures ont été effectuées à différentes vitesses de rotation. La courbe d'écoulement représentant la variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement est illustrée sur (Figure IV-10) :

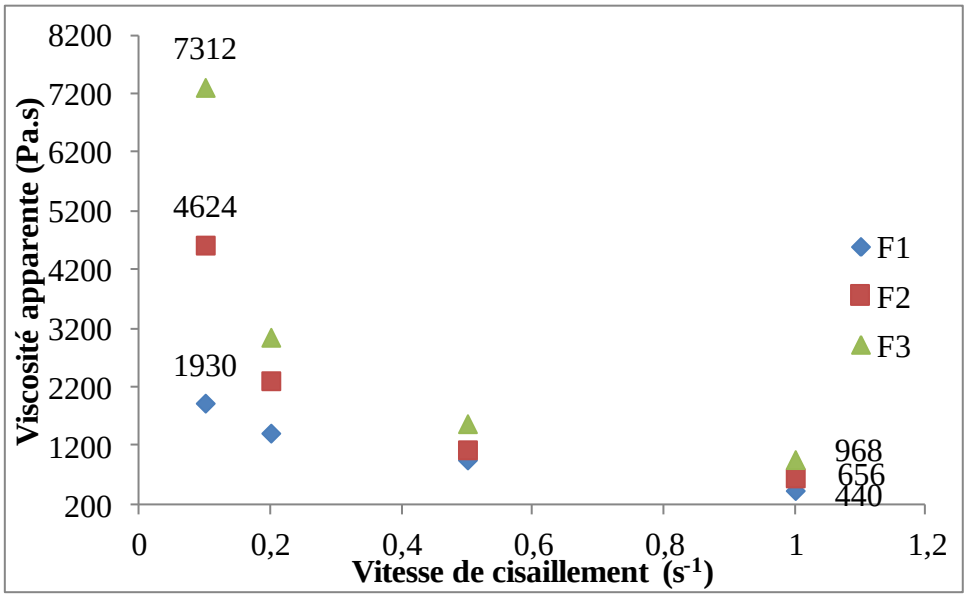


Figure IV-10: Courbe de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations (F1, F2 et F3) au premier jour de préparation

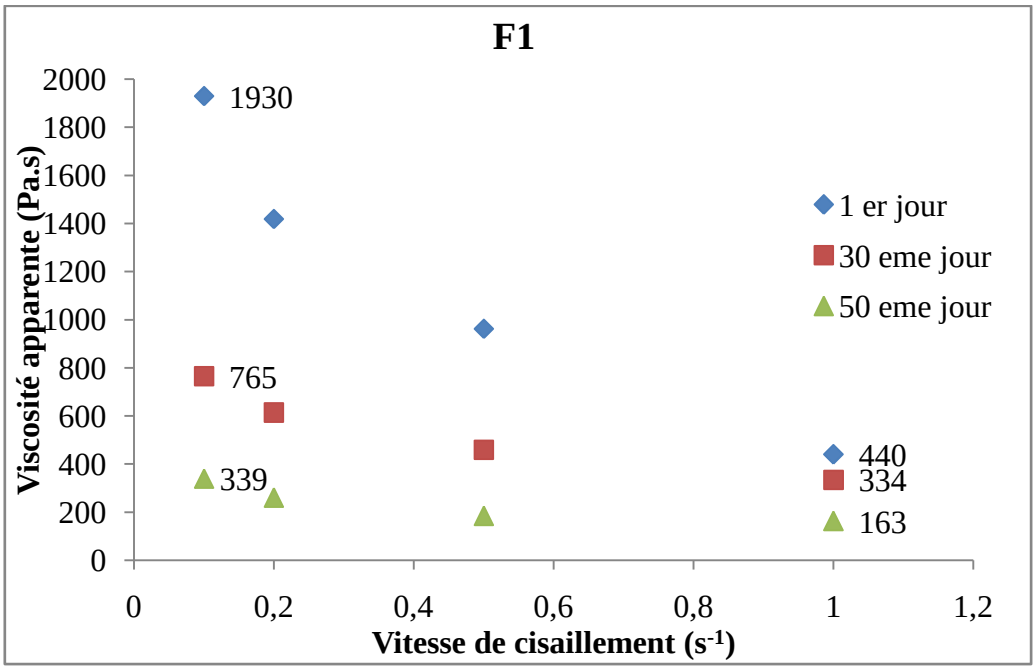
Selon les résultats, les trois courbes (Figure IV-10), la viscosité diminue avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement. Quand la vitesse de cisaillement est de l'ordre de 0.1 (s^{-1}), la viscosité atteint une valeur maximale 7312, 4624 et 1930 (Pa.s) pour les formulations F1, F2 et F3 respectivement qui décroît jusqu'à 968, 656 et 440 (Pa.s) pour une vitesse de cisaillement de 1 (s^{-1}). Ces résultats montrent un comportement non newtonien rhéofluidifiant (ou pseudo-plastique), où la viscosité diminue quand le gradient de vitesse augmente. L'écoulement est donc plus facile avec l'augmentation du cisaillement. Le comportement rhéofluidifiant est le plus fréquent dans le domaine des émulsions.

Soit, quand la phase continue est en excès, la viscosité de l'émulsion se rapproche de la viscosité de cette phase. Quand la proportion de la phase interne croît, la viscosité augmente progressivement jusqu'à consistance d'une crème épaisse. En effet, la viscosité apparente augmente de 1930 Pa.s pour la formulation F1 à 7312 Pa.s pour la formulation F3. Donc, pour modifier la viscosité d'une émulsion, on peut agir soit sur la proportion de phase interne.

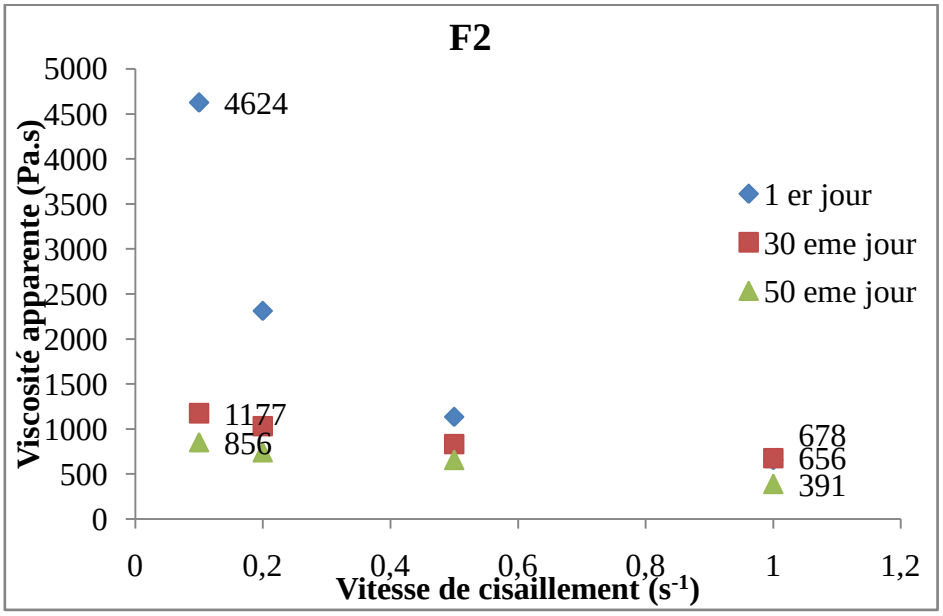
IV.3.2.4 Etude de stabilité

a) Effet du temps

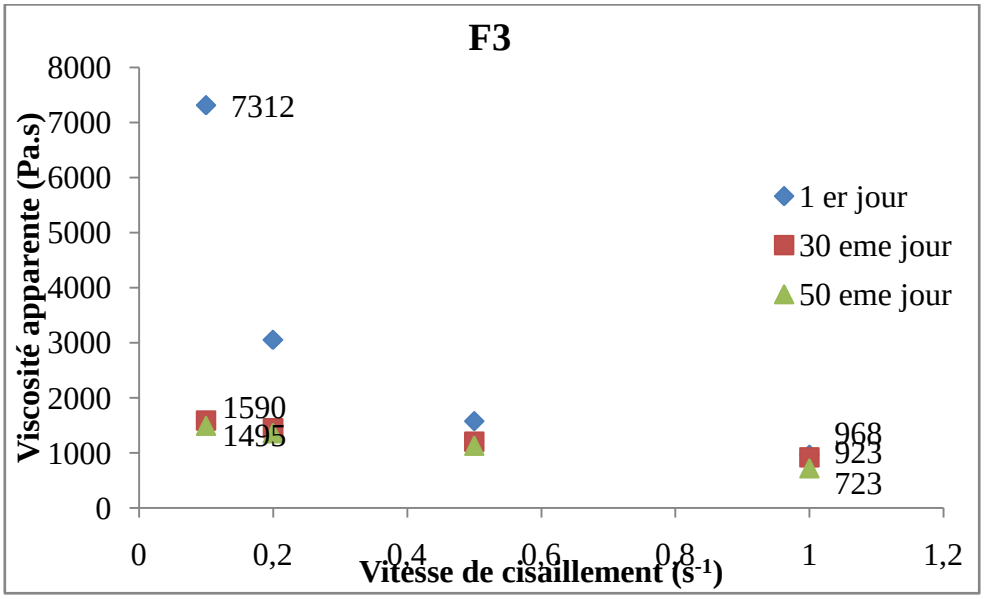
Les émulsions préparées ont été stockées à 4°C pendant toute la période de l'observation (50 jours). Leur viscosité apparente a été mesurée le premier, le trentième et le cinquantième jour afin d'étudier leur stabilité en fonction du temps. Les résultats obtenus sont illustrés sur la (Figure IV-11):



(A)



(B)



(C)

Figure IV-11: Courbes de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations (F1, F2 et F3) (figure A, B et C respectivement) au premier(♦), 30eme (■) et 50eme (▲) jour de préparation

Les courbes (A), (B) et (C) présente la diminution de la viscosité apparente des formules F1, F2 et F3 en fonction du temps. En effet, quand la vitesse de cisaillement est de l'ordre de 0.1 (s^{-1}), la viscosité apparente descend de 1930 Pa.s le premier jour à 339 Pa.s le cinquantième jour, de 4624 à 856 et de 7312 à 1495 Pa.s pour les formules F1, F2 et F3 respectivement.

Ce phénomène montre que les émulsions se liquéfient en fonction du temps. Ce phénomène est un signe d'instabilité et qui peut être attribué au passage de l'eau de la phase intérieure à la phase extérieure.

Pour pousser mieux notre étude, nous avons donc étudié la stabilité de nos formules en fonction de la température.

b) Test de température

Pour cette étude, 3 grammes de chaque formule ont été soumis à différentes températures de stockage 25°C, 30°C et 40°C pendant un 1h. Les résultats de l'observation de la stabilité des formules (F1, F2 et F3) sont présentés dans le tableau suivant (Tableau IV-4):

Tableau IV-4: Résultats de l'effet la température sur les émulsions multiples (F1, F2 et F3):

T (°C)		25	30	40
F1	1 jour	-	-	++
	30 jours	-	-	+++
	50 jours	-	+	++
F2	1 jour	-	-	-
	30 jours	-	-	-
	50 jours	-	-	++
F3	1 jour	-	-	-
	30 jours	-	-	-
	50 jours	-	-	-

- : pas de séparation + : légère séparation ++: séparation des phases

Les résultats montre que toutes les émulsions formulées (F1, F2,F3) sont stables à 25 et 30°C pendant toute la période de l'observation sauf pour la formule F1 qui a commencée à perdre son stabilité au cinquantième jour à 30°C.

A 40C° , la formule F3 n'a montrée aucune séparation de phase contrairement à la formule F1 qui n'a montré aucune stabilité à cette température et le la formule F2 qui, quant à elle, a commencé à perdre sa stabilité à cette température dès le cinquantième jour.

En effet, l'augmentation de la température augmente le mouvement des gouttelettes, donc augmente leur rapprochement et leur coagulation/floculation. Nous pouvons aussi remarqué que l'augmentation de la phase intérieure favorisé la stabilisation des émulsions.

c) Test de centrifugation

Le test de centrifugation est basée sur le principe de l'utilisation de la force centrifuge pour séparer deux ou plusieurs substances de densités variées par exemple, deux liquides différents, ou un liquide et un solide, et est un outil utile pour évaluer et prévoir la durée de conservation des émulsions.

La stabilité des émulsions formées, en fonction du temps, a été étudiée par l'application de la centrifugation d'abord sur les émulsions fraiches à 1500, 2000, 2500 et 3500 rpm pendant 15 et 30 minutes à température ambiante et par la suite sur des émulsions déjà préparées avant 30 et 50 jours. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant (Tableau **IV-5**):

Tableau IV-5: Résultats de centrifugation appliqué sur les émulsions multiples (F1, F2 et F3) à température ambiante

Agitation (rpm)		1500		2000		2500		3500	
Temps d'agitation (min)		15	30	15	30	15	30	15	30
F1	1jour	-	-	-	-	-	++	+	++
	30 jours	-	-	-	+	++	++	++	++
	50 jours	++	++	++	++	++	++	++	++
F2	1jour	-	-	-	-	-	-	-	++
	30 jours	-	-	-	-	-	++	++	++
	50 jours	-	-	-	++	++	++	++	++
F3	1jour	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 jours	-	-	-	-	-	++	-	++
	50 jours	-	-	-	-	-	++	++	++

- : pas de séparation + : légère séparation ++: séparation des phases

Les résultats ont montré que la formule la plus stable est la formule F3. En effet, la formule F3 n'a montré aucune déstabilisation le premier jour de préparation contrairement à F2 qui a montré une séparation de phase après 30 minutes de centrifugation à 3000 rpm. F1, quant à elle, a montré une déstabilisation dès 30 minutes de centrifugation à 2500 rpm et 15 inutes à 3000rpm.

Après 30 jours, F1 a montré une déstabilisation après 30 minutes de centrifugation à 2000 rpm et après 15 minutes de centrifugation à 2500 rpm. F2 a montré une séparation de phases après 30 minutes de centrifugation à 2500 rpm et 15 minutes à 3000 rpm. F3, quant à elle, a montré une séparation de phases après 30 minutes de centrifugation à 2500 et 3000 rpm.

Après 30 jours, F1 n'a montré aucune stabilisation. F2 a montré une séparation de phases après 30 minutes de centrifugation à 2000 rpm et 15 minutes à 2500 rpm. F3, quant à elle, a montré une séparation de phases après 30 minutes de centrifugation à 2500 et après 15 minutes à 3000 rpm.

Ces résultats montrent que la stabilité des émulsions multiples a une relation proportionnelle avec le pourcentage de la phase intérieure (le pourcentage de EP). En effet, la centrifugation augmente le mouvement des gouttelettes au sein de l'émulsion et mène au phénomène de coagulation/floculation, mais l'augmentation de la concentration du HEC et la gélatine dans le milieu augmente l'enchevêtrement dans le milieu, donc il empêche le mouvement libre des gouttelettes. La séparation des phases est donc due à la différence de densité entre eux.

IV.4 Test de dissolution in vitro

L’essai de dissolution trouve son importance dans le contrôle d’une formulation mais aussi pour expliquer son comportement. Il est destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude d’une forme galénique à laisser passer en solution, dans un milieu déterminé, le ou les

principes actifs qu'elle contient. Il permet ainsi la validation des choix à faire à différents stades de développement de la forme médicamenteuse.

IV.4.1.1 Essai de dissolution

Cet essai est destiné à déterminer la vitesse de dissolution des principes actifs des formes pharmaceutiques répondant aux normes de la pharmacopée USP 25 [63].

Le choix de l'appareillage est déterminé par les caractéristiques physico-chimiques de la forme pharmaceutique. On optera pour l'appareil à panier pour la réalisation de nos essais, étant donné qu'il offre une meilleure libération du principe actif lors de sa diffusion à partir du gel et ce dans toutes les directions. Toutes les parties de l'appareil qui peuvent entrer en contact avec l'échantillon ou avec le milieu de dissolution sont chimiquement inertes et n'adsorbent pas la substance à examiner, ne réagissent pas en sa présence et n'influencent pas son comportement.

Toutes les parties de l'appareil qui peuvent entrer en contact avec l'échantillon ou avec le milieu de dissolution sont chimiquement inertes et n'adsorbent pas la substance à examiner, ne réagissent pas en sa présence et n'influencent pas son comportement.

Toutes les parties métalliques de l'appareil qui peuvent entrer en contact avec l'échantillon ou avec la solution de dissolution doivent être en acier inoxydable approprié ou recouvertes d'un matériau approprié pour garantir que de telles parties ne causent pas de réaction et n'influencent pas l'échantillon ou la solution de dissolution.

Aucun élément de l'appareil ni de l'assemblage dans lequel il est placé n'exerce de mouvement d'agitation ou de vibration important autre que celui de l'élément de rotation à faible régime ou du système à flux continu.

Il est préférable d'utiliser un appareil qui permette l'observation de la préparation à examiner et de l'élément d'agitation pendant l'essai. Appareil à panier.

L'appareil est constitué de :

- Un récipient identique à celui décrit pour l'appareil à palette.
- Un agitateur constitué par une tige verticale à la partie inférieure de laquelle est fixé un panier cylindrique. Le panier se compose de 2 parties ; la partie supérieure est une plaque percée d'un orifice de 2 mm soudée à la tige de l'agitateur. La partie inférieure, cylindrique, est constituée par une toile soudée ; sauf indication contraire, les fils ont un diamètre de 0,254 mm et l'ouverture des mailles carrées est de 0,381 mm ; elle est bordée à chaque extrémité par une étroite bande métallique. La partie inférieure qui est amovible, est destinée à recevoir l'échantillon à examiner. Elle se fixe sur la partie supérieure du panier par 3 attaches-ressorts, ou par tout autre moyen approprié permettant de la maintenir en place pendant la rotation de telle sorte que son axe et celui du récipient coïncident. Pour les essais en milieu acide dilué, un panier à placage d'or de 2,5 mm d'épaisseur peut être utilisé. La distance entre le panier et le fond intérieur du récipient doit être de 25 ± 2 mm. La partie supérieure de la tige de l'agitateur est reliée à un moteur muni d'un régulateur de vitesse. La rotation de l'agitateur est uniforme, sans oscillation importante.
- Un bain d'eau thermostaté qui permet de maintenir la température du milieu de dissolution à 37 ± 0,5 °C

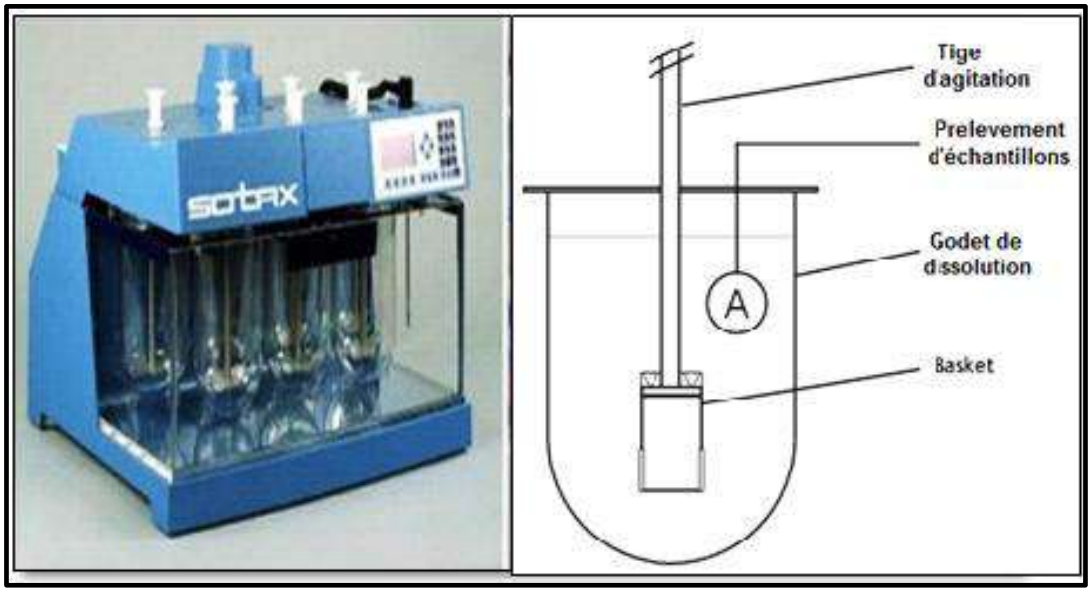


Figure IV-12: Test de dissolution SOTAX

IV.4.1.2 Mode opératoire

L'étude de la cinétique de libération des essais formulés est réalisée par le test de dissolution in vitro en utilisant comme milieu de dissolution un tampon pH=6 à 37° C.

- 3 g d' émugel ont été mis dans un contenant de polypropylène non tissé.
- Le récipient contenait 500 ml de solution tampon.
- L'emugel a été mis dans le panier qui tournait à une vitesse de 50 rpm.
- Des prélèvements de 2 ml ont été effectués toutes les 10 min pendant 3 h.
- Le dosage du PA a été fait à l'aide du spectrophotomètre UV-visible à 270 nm.

Les résultats obtenus sont illustrés sur la figure suivante (Figure IV-13):

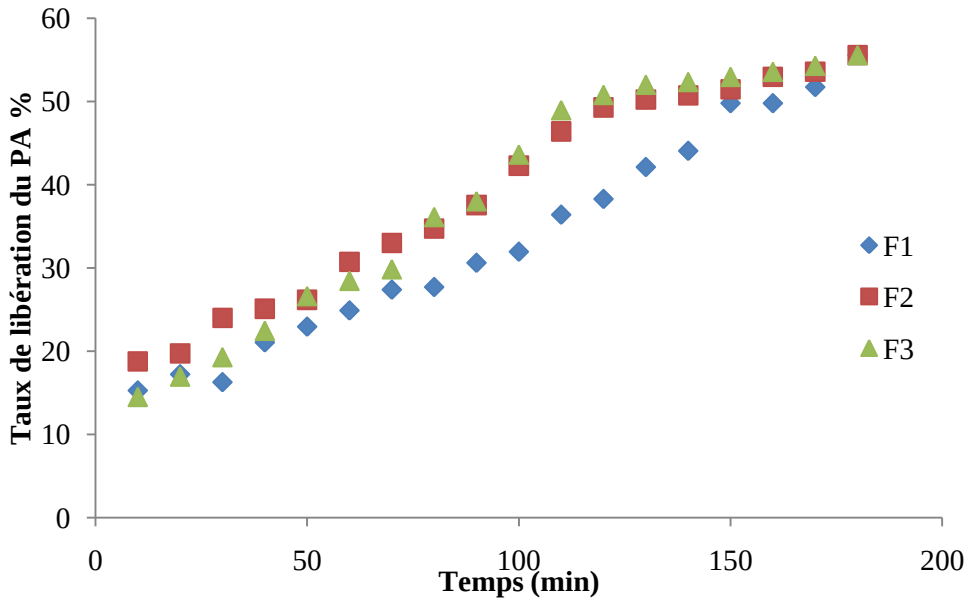


Figure IV-13: profile de dissolution du PA (DS) en fonction du temps des émulsions multiples pour les formules (F1, F2 et F3)

Nous remarquons que le taux de libération cumulé du principe actif augmente en fonction du temps selon une fonction non linéaire jusqu'à atteindre le taux de 55% à 180 minutes de dissolution. Nous pouvons aussi remarquer la présence de deux phases de libération distinctes, quelque soit la formule étudiée (F1, F2 et F3), séparées par une phase stationnaire qui va de 150 à 160 minutes de dissolution pour la formule F1 et de 130 à 150 minutes pour les formules F2 et F3.

Pour mieux comprendre le mécanisme de libération mis en jeu, nous avons tracé la vitesse de libération du principe actif en fonction du temps (Figure IV-14). Cette vitesse a été calculée par dérivation de la fonction représentant la fraction cumulée en fonction du temps.

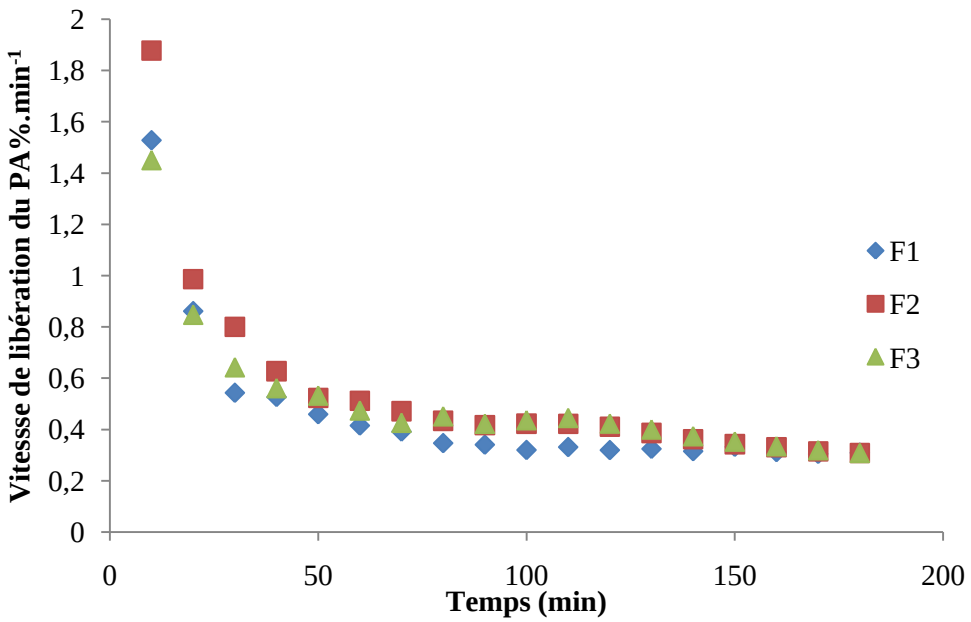


Figure IV-14: Vitesse de dissolution du PA (DS) en fonction du temps pour les formules (F1, F2 et F3)

Le profile de la vitesse de libération en fonction du temps présente aussi deux phase de libération. La vitesse lors de la première phase est rapide. En effet la vitesse passe de 1,52; 1,45 et 1,87 %.min^{-1} à 10 minutes de dissolution (pour F1, F2 et F3 respectivement) à 0,39; 0,47 et 0,43 % %.min^{-1} à70 minutes. Par la suite, elle marque une phase stationnaire et reprend à 150 minutes de dissolution mais plus lentement que pour la première phase.

Cela peut être expliqué par le fait qu'au début de la libération, la libération rapide du principe actif est du à l'érosion du gel formant la phase extérieure de l'émulsion. Cela est suivi par une phase stationnaire qui représente le phénomène du gonflement des gouttes de la phase interne due à la différence de la pression osmotique présente entre les deux phases qui mène au passage de l'eau de la phase externe à la phase interne. Le principe actif est relargué à l'extérieur par la suite. La vitesse devient moins importante qu'au début de libération. En effet, le principe actif doit franchir la barrière des gouttes pour passer au milieu extérieur. Ainsi que la présence de la gélatine dans la phase intérieure qui augmente l'enchevêtrement du milieu et ralenti la diffusion du principe actif à l'extérieur.

IV.5 Bilan

Au cours de cette étude, nous avons exploré la possibilité de changé le rapport entre la phase intérieure (EP) et la phase extérieur (HEC). Nous étions intéressés par la stabilisation des émulsions multiple de type E/H/E par les mélanges des polymères (HEC, gélatine). Pour réaliser cette étude, nous avons fait appel au diclofenac de sodium comme principe actif modèle afin de nous permettre d'étudier les caractéristiques pharmacocinétiques de nos émulsions multiples étudiées.

Les différentes formulations élaborées montrent que plus la proportion de la phase intèrne augmente plus la viscosité des émulsions augmente ce qui mène à une bonne stabilité.

L'étude de la stabilité de ces systèmes à différentes températures choisies (25°C, 30°C et 40°C) montre, que la meilleure stabilité est observée dans la formulation contient 60٪ de EP. La libération du principe actif est meilleure dans la formulation à une concentration 60٪ de EP.

Conclusion générale

La peau est considérée comme la seule zone de contact direct avec le milieu externe, ceci dit, elle procède de nombreuses fonctionnalités pour assurer la stabilisation du corps.

Les émulsions multiples sont des systèmes complexes constituées d'au moins de deux liquides non miscibles, leurs réalisation nécessite la présence d'émulsifiant primaire et secondaire pour maintenir la stabilité des émulsions multiples.

Au cours de cette étude, nous avons exploré la possibilité de changé le rapport entre la phase intérieure (EP) et la phase extérieur (HEC). Nous étions intéressés par la stabilisation des émulsions multiple de type E/H/E par les mélanges des polymères (HEC, gélatine). Pour réaliser cette étude, nous avons fait appel au diclofenac de sodium comme principe actif modèle afin de nous permettre d'étudier les caractéristiques pharmacocinétiques de nos émulsions multiples étudiées.

Les moyens de caractérisations de différentes formulations obtenues sont concrétisés par des études physico-chimiques, l'étude de viscosité, ainsi que l'étude la dissolution in vitro.

Les différentes formulations élaborées montrent que plus la concentration de la phase intérieure augmente plus la viscosité des émulsions augmente ce qui mène à une bonne stabilité. De ce fait, on peut conclure que la concentration en phase intérieure est un paramètre majeur qui influence directement la stabilité des émulsions multiple formulées.

L'étude de la stabilité de ces systèmes à différentes températures choisies (25°C, 30°C et 40°C) montre, que la meilleure stabilité est observée dans la formulation contient 60٪ de EP. La libération du principe actif est meilleure dans la formulation à une concentration 60٪ de EP. Enfin, nous pouvons conclure que quand nous augmentons la phase intérieure (émulsion simple) nous obtenons une émulsion multiple plus stable.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

[1] Melissopoulos A., Levacher Ch., La peau : structure et physiologie, Editions Médicales internationales, Tec & Doc, Lavoisier;1998.

[2] Seillier M.M, Martini C., Formes pharmaceutique pour application locale, 2éme Ed. Tec&Doc, Lavoisier, Paris, 1996.

[3] Pharmacopée Européenne 5.5

[4] Zerrouk N., Arnaud P., Formes pharmaceutiques topiques. Ann Derrmatol Venerol, 134: 24-6, 2007.

[5] Ferreira LAM., Emulsions multiples H/L/H et simples L/H et H/L. Etude comparative pour l'approche de la voie topique, Thèse Université Paris-Sud, 1994.

[6] Tedajo GM., Bouttier S., Fourniat J., Grossiord JL., Marty JP., Seiller M., Release of antiseptics from the aqueous compartments of a w/o/w multiple emulsion. Int J Pharm, 288: 63-72, 2005.

[7] Marti-Mestres G., Mestres JP., Bres J., Martin S., Ramos J., Vian L., The "in vitro" percutaneous penetration of three antioxidant compounds, Int J Pharm, 331: 139- 144, 2007.

[8] Cartlidge P., The epidermal barrier, Semin. Neonatal, 5: 273-280, 2000.

[9] Rutter N., Applied physiology: the newborn skin,Current Paediatrics, 13: 226-230, 2003.

[10] Roskos K.V., Maibach H.I., Guy R.H., The effect of aging on percutaneous absorption in man, J. Pharmacokinet. Biopharm, 17: 617-630, 1989.

[11] Schaefer H., Aging/influence on percutaneous absorption, Pharmacol. Res, 31 : 307, 1995.

[12] Pierat N., préparations d'émulsions par inversion de phase induite agitation, thèse de doctorat de l'université Henri poincare- Nancy, 2010.

[13] Rondon gonzalaz M., inversion de phase d'émulsion induite par agitation, thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Loraine, 2007.

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

[15] Teixeira K., Approche thermodynamique et cinétique de l'extraction à deux phases aqueuses à l'aide de tension actif non ioniques, thèse de doctorat d'institut national polytechnique de Toulous, 2004.

[16] Bancroft W., The theory of emulsification, journal of physical chemistry, 17, 501, 1913.

[17] Salager JL., surf actifs : Types et usages, cahier firp n° f300-a, université de los Andes, version 2, 2002.

[18] Moussaoui H., Ghezal F., optimisation d'une émulsion huileuse en vue d'obtention d'une émulsion multiple a usage pharmaceutique, mémoire Ingénieur d' Université de Blida, 2004.

[19] Ferarsa S., Bouchaaba H., Etude de la stabilité des émulsions multiples au moyen des mélanges proteines/biopolymeres, mémoire de master d'Université Yahia Farés de Médéa, 2011.

[20] Galenica C., Agents de surface et émulsion, Techniques et documentation, Lavoisier, 1983.

[21] Midoux N., Mécaniques et rhéologie des fluides en génie chimique, Edition Tec & Doc, 1993.

[22] ASERIN A., Multiple emulsions :technology and applications, Wiley Series on Surface and Interfacial Chemistry, Wiley-Blackwell, 2007

[23] Gahanassi F.Z., Stabilité des émulsions, Faculté de médecine Alger, 1994.

[24] Alberto Paruta Tuarez E., Emulsions inverses très concentrées formulation, comportement rhéologique et modélisation, thèse de doctorat de l'université Nancy université, 2010.

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

[26] Salager J., Formulation concept for the emulsion maker. En: Pharmaceutical Emulsions and suspensions, Nielloud F, Marti-Mestres Géd, Chapitre 2, p18-72, Marcel Dekker, New York Technique de l'ingénieur, J2150 , 10-12, 2000.

[27] Bonnet M., Libération contrôlée du magnésium par des émulsions doubles : impact de paramètres de formulation, thèse de doctorat de l'université bordeaux 1, 2008.

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

[29] De Luca, Rocha-Filho M. P., Grossiord J.L., Rabaron A., Vaution C., Seiller M., Les émulsions multiples. Int. J. Cosmet. Sci., 13, 1-21, 1991.

[30] Zhang W., Miyakawa T., Uchida T., Goto S., Hydrocolloides in emulsions: particule size distribution and interfacial activity, J.Pharm.Soc .Jpn., 112, 73, 1992.

[31] Brochette P., Emulsification : Elaboration et étude des émulsions. Techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J2150 : 1-18, 1999.

[32] ASERIN A., Multiple emulsions :technology and applications, Wiley Series on Surface and Interfacial Chemistry, Wiley-Blackwell, 2007

[33] Cornec M., Wilde P.J., Gunning P.A., Mackie A.R ., Husband F., Parker M.L., Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacian beverage émulsions, J. Food Sci. 63, 39, 1998.

[34] Gentès M.C., utilisation de complexes formes de pectine et d'isolat de protéines sériques dans la formulation de yogourts brasses, mémoire de l'université Laval Québec, 2007.

[35] Jarroux N., Les bio polymères : différentes familles, propriétés et applications; dossier techniques de l'ingénieur, am3580, 2008.

[36] Rolin,C., Nielsen, B.U., Dumitriu S., Polysaccharides: structural diversity and functional versatility (pp.377-431). New York : marcel dekker, 1998.

[37] Leea H.Y., McCarthyb M.J., Dungana S.R., Experimental characterization of emulsion formation and coalescence by nuclear magnetic resonance restricted diffusion techniques, jaocs,75, 463-475, 1998.

[38] Voragen, A.G.J., Pilnik, W., Thibeault, J. F., Axelos, M.A.V., Renard, C.M.G.C, Stephen A.M., food polysaccharides and their applications (pp.287-339). New York : marcel dekker, inc, 1995.

[39] Staudinger H., Berichte der deutschen chemischen gesellschaft, 57, 1206, 1924.

[40] Ben Ameur N., Synthèse et Caractérisation des Hydrogels Obtenus par réticulation de la polyéthylèneimine linéaire, Université de Fribourg, Département de Chimie, 2004.

[41] Rodriguez R., Alvarez-Lorenzo C., Concheiro A., Cationic cellulose hydrogels : kinetics of the cross-linking process and characterization as pH- / ion-sensitive drug delivery systems, Journal of Controlled Release, 86, 253–265, 2003

[42] Simonet F., Garnier C., Doublier J.L., Partition of proteins in the aqueous guar/dextran two- phase system. Food hydrocolloids, 14, 591-600, 2000.

[43] Phillips G,O., Williams P.A., Biochimie, 2éme édition de BOEK,P :362-363 ,2004.

[44] Robet D., Vian B., Science de la vie, 3éme édition, 2004.

[45] Voet D.Voet J.G., Biochimie, 2éme édition de BOEK,P, 363, 2005.

[46] Izydorczyk M., Food carbohydrates :Chemical and physical properties and applications., 165 ,2005.

[47] Whistler R.L., BeMiller J.N., industrial Gums, 3éme édition, academic press, New York,1993.

[48] Glickman M., Origines et classification des hydrocolloides,des hydrocolloides alimentaires, Florida, 1,3-18,1982.

[49] Kamel S., Jahangir K., Shah S. M., El-Gendy A. A., Pharmaceutical significance of cellulose: A review, in EXPRESS Polymer Letters,758-778 , 2008.

[50] Biganska O., Etude physico-chimique des solutions de cellulose dans la NMethylmorpholine-N-Oxyde, in Collège doctoral. école des mine Paris, 2002.

[51] EGAL, M., Structure and Properties of Cellulose/NaOH : Aqueous Solutions, Gels and Regenerated objects. Ecole doctorale SFA, Ecole des mines Paris, 2006.

[52] Baumgartner S., Kristl J., Peppas N. A. , Network Structure of Cellulose Ethers Used in Pharmaceutical Applications During Swelling and at Equilibrium, , 19, 1084-1090, 2002.

[53] Rowe R.C., Sheskey P.J., Handbook of Pharmaceutical excipients, Fifth Edition London,UK., 2009.

[54] Reguant J., Rinaudo M., Etude bibliographique sur les matériaux issus de la biomasse végétale.CERMAV6NRS61/09/98-31/05/99.

[55] Bigi, A., Panzavolta, S., Rubini, K., Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. Biomaterials, 25, 5675-5680, 2004.

[56] Pharmacopée française 2004.

[57] Pharmacopée européenne 2001

[58] Pharmacopée Européenne, 6e édition, 2007.

[59] Dicknson E., « les colloides alimentaires», Edition Masson, 1996.

[60] Lehir A., Pharmacie Galénique : Bonne pratique de fabrication des médicaments,8ème édition, Masson, Paris, 2001.