REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité :
Chimie pharmaceutique

Par :

BENACHOUR Nihal
BETTAHAR Wiam

Thème :

Formulation et évaluation de la stabilité d'une émulsion pharmaceutique.

Soutenue publiquement le : 15 / 06 /2023, Devant le jury composé de :

Dr.REBOUH Samia	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Présidente
Dr.FARCH Sabrina	Grade : MCB	Etablissement UYFM	Examinatrice
Dr.YAHOUM M. Madiha	Grade : MCA	Etablissement UYFM	Encadreur
Pr. LEFNAOUI Sonia	Grade : Professeur	Etablissement UYFM	Co-Encadreur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Onremercie ALLAH le tout puissant, le miséricordieux, qui nous a donné la force et la volonté d'achever ce travail de recherche, nous lui rendons grâce en disant."Alhamdoulilah"

On remercie très sincèrement notre encadreur **Mme. YAHOUM M.Madiha**,Maitre de Conférences à la faculté des sciences de l'Université Yahia Farés de Médéa pour nous avoir fait l'honneur d'être notre promotrice, pourses encouragements ainsi que pour l'attention qu'elle nous a consacré pour le bon déroulement de ce travail.

Un grand merci à notre co-encadreur**Dr.LEFNAOUI Sonia**, ce travail était d'autant plus agréable grâce à sa gentillesse et ses encouragementset grace à qui ce travail n'aurais jamais vu le jour

Nos sincéres remerciements et notre profonde gratitude sont également adressésaux honorables membres de notre jury, ayantaccepté de juger ce modeste travail : **Dr.REBOUH Samia,**la présidente du jury, et l'examinateur : **Dr.FARCH Sabrina**

Nos remerciement s'adressenr aussi à ***Mlle* TOUMI SELMA**pour son aide pratique et ses conseils, sa disponibilité et son amabilité.

Nous exprimons tous nos remerciements à l'équipe du laboratoire de

*L'universitéde Médéa et toute l'équipe dulaboratoire de physicochimie et tout le personnel du laboratoire de microbiologie de SAIDAL-Antibiotical de Médéa et en particulier**Mr.ABDELI, Mr.CHAABANE, Mr ZOUAMBIA,**pour leuraide et pour leur précieux conseils.*

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnesayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Avec l'aide de Dieu tout-puissant qui a suivi
Au cours de ma vie, j'ai réussi à réaliser ce travail qui

Je fais un don :
A la lumière de mes yeux, de mes pas et
Le bonheur de la vie de ma mère qui m'a
Apportée
Le soutenir pendant mes années d'école,
Pour tous les sacrifices qui me plaisaient,
Toute la confiance que me donne et tout.
L'amour autour de moi
A mon digne père, qui m'a appris le sens de
Persévérance tout au long de mon étude, qui
Me représente le symbole du bien avant
Excellence, source de tendresse et exemple
Dévouement qui n'a pas cessé
De m'encourager
A mes chers frères **Imad** et **Mohamed lotfi**
A mes chères sœurs **imene** et **chaimaa**
Toutes les familles : **Bettahar** et **Benrokia**
A mes chers amis **Nihal** et **imene**
Tous les étudiants de maîtrise en chimie Pharmaceutique.



Wiam Bettahar



Dédicace

Merci Allah de m'avoir donné la capacité de réfléchir, la force pour survivre, l'audace pour dépasser toutes les difficultés et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

*A **ma chère mère FATIHA,** à celle qui m'a donné tout, pour toute l'affection et tendresse et le soutien moral que tu m'as donné depuis que j'étais enfant, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait, j'ai toujours pensé et eu peur du moment. La vie est difficile sans votre amour maternel. Vous êtes toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite je t'aime maman.*

*A **mon cher père AHMED**, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordé.*

*A **mes chères sœurs MOUCHIRA, HIND, REKAIA, ZINAB** pour leur encouragement, Que dieu les protège et leurs offres tout le bonheur du monde.*

*A **mon petit ange**, mon frère **MOHAMED FIRASE.***

*A **mon binôme WIAM**, merci pour tous les beaux moments que nous avons passé ensemble.*

*A mes meilleurs amis **: yassmine, imene, hadjer***

A mes collègues de promotion chimie pharmaceutique master2023 qui ont passé avec moi de bons moments.

A tous ceux qui me sont proches et qui me sont chers.

Et finalement je remercie toutes les personnes qui m'ont aidé et

m'encourager tout au long de cette période.



NIHAL Ben Achour

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى صياغة وتوصيف مستحلبات زيت في ماء محملة بحمض الفوزيديك باستخدام كاراجينان كابا ومشتقاته كعوامل استقرار. أظهرت النتائج المستحصلة أن كابا كاراجينان بمفرده لم يكن كافياً لضمان استقرار فعال للمستحلبات، في حين أظهرت المشتقات KCD1 و KCD2 قدرتها على تثبيت المستحلبات المحضرة. وبالتالي، ساهم المشتق KCD2 في الحصول على مستحلب يتمتع بقوام مرضٍ للكريمة المحضرة. أظهر تحليل لزوجة المستحلبات المدروسة سلوك سوائل غير نيوتنية. أكد تحليل حمض الفوزيديك بواسطة التراكيب السائلة ذات الضغط العالي أن التراكيب المحضرة مطابقة للمعايير المعتمدة. بالإضافة إلى ذلك، كانت الجودة الميكروبيولوجيا للتراكيب مطابقة لمتطلبات الصيدلية الأوروبية. في الخلاصة، كشفت هذه الدراسة على أهمية اختيار البوليمر الحيوي لتثبيت مستحلبات صيدلانية زيت في ماء تحتوي على حمض الفوزيديك.

الكلمات المفتاحية: مستحلبات زيت في ماء، حمض الفوزيديك، كابا كاراجينان ، مستقرات، مساعدات صيدلانية

Résumé

Cette étude visait à formuler et à caractériser des émulsions huile-dans-eau (H/E) chargées en acide fusidique en utilisant le Kappa carraghénane (KC) et ses dérivés, KCD1 et KCD2, comme agents stabilisants. Les résultats obtenus ont révélé que le KC seul ne suffisait pas à assurer une stabilité efficace des émulsions, tandis que les dérivés KCD1 et KCD2 ont démontré leur capacité à stabiliser les émulsions obtenues. Ainsi, le dérivé KCD2 a permis l'obtention d'une émulsion ayant une texture satisfaisante à la crème formulée. L'analyse de la viscosité des émulsions étudiées a révélé un comportement de fluides non newtoniens. Le dosage de l'Acide fusidique par HPLC a confirmé que les formules préparées étaient conformes aux normes établies. De plus, la qualité microbiologique des formules était conforme aux normes de la pharmacopée européenne. En résumé, cette étude a permis de mettre en évidence l'importance du choix du biopolymère pour la stabilisation des émulsions pharmaceutiques H/E contenant de l'acide fusidique.

Mots clés : Emulsions H/E, Acide fusidique, Kappa carraghénane, Stabilisants, Excipients pharmaceutiques.

Abstract

This study aimed to formulate and characterize oil-in-water (O/W) emulsions loaded with fusidic acid using Kappa carrageenan (KC) and its derivatives, KCD1 and KCD2, as stabilizing agents. The results obtained revealed that KC alone was not sufficient to ensure the effective stability of the emulsions, while the derivatives KCD1 and KCD2 demonstrated their ability to stabilize the obtained emulsions. Thus, the KCD2 derivative allowed to obtaining an emulsion with a satisfactory cream-like texture. Viscosity analysis of the studied emulsions revealed non-Newtonian fluid behavior. HPLC analysis of fusidic acid confirmed that the prepared formulations were following established standards. Furthermore, the microbiological quality of the formulations complied with the European Pharmacopoeia standards. In summary, this study highlighted the importance of choosing the biopolymer for the stabilization of oil-in-water pharmaceutical emulsions containing fusidic acid.

Keywords: O/W emulsions, Fusidic acid, Kappa carrageenan, Stabilizers, Pharmaceutical excipients.

LISTE DES FIGURES

Chapitre I : Étude bibliographique

Figure I.1	Représentation schématique d'une émulsion : (a)Huile dans Eau, (b) Eau dans Huile	5
Figure I.2.	Types des émulsions simples	6
Figure I.3.	Différents types d'émulsions multiples	7
Figure I.4.	Différents types d'émulsions mixtes	7
Figure I.5.	Profil de vitesse entre les plaques parallèles	10
Figure I.6.	Rhéogrammes pour les divers fluides	11
Figure I.7.	Processus de déstabilisation d'une émulsion	13
Figure I.8.	Phénomènes de crémage et de sédimentation	14
Figure I.9.	Phénomène de floculation	14
Figure I.10.	Phénomène de coalescence	15
Figure I.11.	Phénomène de mûrissement d'Ostwald	16
Figure I.12.	Phénomène d'inversion de phase	16
Figure I.13	Double couche électrique	17
Figure I.14	Schématisation de la stabilisation stérique	18
Figure I.15	Image de la microscopie optique :(a) émulsion primaire, (b) émulsion après homogénéisation	20
Figure I.16	Schéma de formulation d'une émulsion	21
Figure I.17	Structure d'une molécule amphiphile	21
Figure I.18.	Formation des micelles : (a) émulsion E/H, (b) émulsion H/E	24
Figure I.19.	Les voies d'obtention des biopolymères	26
Figure I.20.	Mécanisme de biodégradation des biopolymères	27
Figure I.21.	Source de carraghénane (Algues rouges Eucheuma)	30
Figure I.22.	Production du carraghénane	31
Figure I.23.	Modifications chimiques du κ-carraghénane	33

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Figure II.1.	Aspect et structure du kappa carraghénane (KC).	45
Figure II.2.	Schéma représentant les principaux éléments d'un spectromètre IR.	45
Figure II.3.	Méthode de formulation des émulsions H/E : (a) Préparation des phases, (b) Incorporation de la phase huileuse dans la phase aqueuse, (c) Homogénéisation	47

Figure II.4.	Les étapes de fabrication et leurs contrôles de la crème Acifudal 2%	48
	CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
Figure III.1.	Spectre FTIR d'acide fusidique	54
Figure III.2.	Spectres FTIR de KC (a), KCD 1 (b) et KCD 2(c).	55
Figure III.3.	Spectres FTIR : Acide fusidique, et des mélanges (AF/ KC), (AF/KCD1), (AF/ KCD2).	56
Figure III.4.	Aspect visuel des formulations (F1-F4)	57
Figure III.5.	Images microscopiques des formulations (F1 - F4)	58
Figure III.6.	Mesure de pH des émulsions (F1-F4)	59
Figure III.7.	Résultats de la conductivité des formulations (F1-F4)	60
Figure III.8.	Test d'étalement des formulations (F1-F4)	61
Figure III.9.	Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations (F1-F4).	62
Figure III.10.	Chromatogrammes du dosage l'acide fusidique dans les formulations :(Volume d'injection 20µl, colonne C18, phase mobile : méthanol /acide ortho phosphorique à 0.05M/ : acétonurie (10 :40 :50), λ max= 235 nm, D= 2,5ml/min, t= 25°C).	64
Figure III.11.	Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) dans les formulations F1 ; F2 ; F3 et F4 sur le milieu TSA	65
Figure III.12.	Dénombrement des moisissures et levures (DMLT) dans les formulations F1 ; F2 ; F3et F4 sur le milieu SAB	66
Figure III.13.	Aspect de macroscopique de l'absence des colonies de staphylococcus aureus dans les formulations F1 ; F2 ; F3et F4 sur le milieu mannitol – sel (CHAP)	67
Figure III.14.	Aspect de macroscopique de l'absence des colonies de Pseudomonas aeruginosa dans les formulations F1 ; F2 ; F3et F4 sur le milieu CAB	67

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre I : Étude bibliographique

Tableau I.1.	Les différents types d'émulsions simples.	6
Tableau I.2.	Classement des tensioactifs	23
Tableau I.3.	Propriétés particulières des biopolymères et leurs applications potentielles	28

Chapitre II : Matériel et Méthodes EXPERIMENTALES

Tableau II.1.	Différents appareils utilisés	36
Tableau II.2.	Liste des principaux produits utilisés.	37
Tableau II.3.	Désignation et origine des milieux de culture utilisés.	37
Tableau II.4.	Propriétés physico-chimiques de l'Acide fusidique	38
Tableau II.5.	Contrôle de vaseline	39
Tableau II.6.	Fiche de spécifications de l'huile de vaseline	40
Tableau II.7.	Fiche de spécifications de l'alcool stéarylique	40
Tableau II.8.	Fiche de spécifications du propylène glycol	41
Tableau II.9.	Fiche de spécifications du Propyle parabène	42
Tableau II.10.	Fiche de spécifications du méthyle parabène	43
Tableau II.11.	Fiche de spécifications de l'eau distillée	44
Tableau II.12.	Propriétés physico-chimiques de kappa carraghénane	44
Tableau II.13.	Tableau de formulation des émulsions à base de KC et ses dérives	46

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau III.1.	Résultats de centrifugation des émulsions H/E	60
Tableau III.2.	Résultat de l'analyse des formulations (F1 - F4) par HPLC	62
Tableau III.3.	Résultats des tests microbiologiques	63

LISTE DES SYMBOLES & ABREVIATION

Abréviation	Définition
AF	Acide fusidique
CAB	Cétrimide Agar Base
CHAP	Mannitlo-sel ou gélose Chapman
CMC	Concentration Micellaire Critique
DMLT	Dénombrement des Moisissures et des Levures Totales
DGAT	Dénombrement des Germes Aérobies Totaux
E/H	Emulsion Eau dans Huile
E/H/E	Emulsion Eau dans Huile dans Eau
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
H/E	Emulsion Huile dans Eau
H/L	Emulsion phase Hydrophile dans Lipophile
HLB	Balance Hydrophile-Lipophile
HPLC	High-performance liquid chromatography
KC	Kappa Carraghénane
KCD1	la première dérivée de kappa carraghénane
KCD2	la deuxième dérivée de kappa carraghénane
L/H	Emulsion phase lipophile dans Hydrophile
PA	Principe Actif
PHA	Polyhydroalkanoates
PHB	Polyhydroxybutyrate
PHBP	Propylène hydroxy benzoate
PHBM	Méthyle para hydroxy benzoate
PH	Potentiel hydrogène
PLA	L’acide poly lactique
SAB	Sabouraud dextrose
TSA	Peptones de caséine et de soja
O/W	Oil in water
W/O	Water in oil

Symbole	Désignation	Unité
A	L'air de surface	m^2
T	Titre de l'acide fusidique dans l'eau	%
S	Surface d'étalement	cm^2
F	La force appliquée	N
η	La viscosité apparente	Pa.S
$\boldsymbol{\eta_p}$	Viscosité plastique de bing Ham	Pa. S
τ	La contrainte de cisaillement	Pa
$\boldsymbol{\tau_c}$	Contrainte seuil d'écoulement	Pa
FCGV	La déformation	s^{-1}

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des absorbations

Liste de symboles

Introduction générale **1**

Chapitre I : Étude bibliographique

I.1.Introduction 4

I.2. Émulsions pharmaceutique 4

I.2.1.Compositions des émulsions 5

I.2.2. Types d'émulsions 5

I.2.2.1.Émulsions simples 5

I.2.2.2.Émulsions multiples 6

I.2.2.Émulsions mixtes 7

I.2.3.Caractirisations des émulsions 8

I.2.3.1.Control macroscopique 8

I.2.3.2. Examen microscopique 8

I.2.3.3.Détarmination de sens d'émulsion 8

I.2.3.4.Analyse granulométrique 9

I.2.3.5. Control de stabilité 9

I.2.3.6.Analyse rhéologique 9

I.2.4. Mécanisme d'instabilité des émulsions 12

I.2.4.1. Sédimentation et crémage 13

I.2.4.2.Floculation 14

I.2.4.3.Coalesence 15

I.2.4.4.Murissement d'Ostwald ou diffusion moléculaire 15

I.2.4.5.Inversion de phase 16

I.2.5.Stabilité des émulsions 16

I.2.6.Stratégies de formulation des émulsions 18

I.2.6.1.Variations de formulation 19

I.2.6.2.Variations des processus 19

I.2.6.3.Méthode de préparation 20

I.3.Tensioactif 21

I.3.1.Classification des tensioactifs 22
I.3.2.Cractirisation fondamentales des tensioactifs 23
I.3.2.1. Balance hydrophile –lipophile (HLB) 23
I.3.2.2.Concentration micellaire critique (CMC) 23
I.4.Biopolyméres 24
I.4.1.Définision 24
I.4.2.Clasification des biopolyméres 25
I.4.2.1.Biopolyméres synthétique 25
I.4.2.2. Biopolyméres de synthèse bactrienne 25
I.4.3.Principales propriétés des biopolyméres 26
I.4.3.1.Biodégradabilité des biopolyméres 26
I.4.3.2.Proprétes des biopolyméres 27
I.4.3.3.Perméabilité à la vapeur d'eau des biopolyméres 27
I.4.3.4.Proprétés chimiques 28
I.4.3.5.Autres propriétés 28
I.4.4.Applications des biopolyméres 28
I.5.Carraghénane 29
I.5.1.Historique 29
I.5.2.Définision 30
I.5.3.Obtention des carraghénanes 30
I.5.4.Kappa carraghénane 31
I.5.5.Propriétes du k-carraghénane 31
I.5.6.Modification chimique du k-carraghénane 32
I.5.7. Domaine d'utilisation du kappa carraghénane 33
I.6.Conclusion 34

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1.Introduction 36
II.2.Matirél et méthode 37
II.2.1.Matériels 37
II.2.2.Produits chimique utilisées 38
II.3.Pré formulation 39
II.3.1. Principe actif : acide fusidique 45
II.3.2.Excipents 45

II.3.3. Matrice polymérique 46
II.4.Formulation 49
II.4.1. Formulation des émulsions simple H/E 49
II.5. Caractérisation physico-chimique des émulsions 49
II.5.1.Aspect macroscopique des émulsions 49
II.5.2. Aspect microscopique 50
II.5.3. Mesure du pH 50
II.5.4. Détermination de la conductivité 50
II.5.5. Test d'étalement 51
II.5.6. Test de centrifugation 51
II.5.7. Indice de crémage 52
II.5.8. Mesure de viscosité 53
II.5.9. Dosage du principe actif par HPLC 53
II.5.10. Control de la pureté microbiologique 54

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.Introduction 54
III.2. Résultats et discussion 54
III.2.1. Analyse infrarouge (FTIR) 54
III.3. Caractérisation physico-chimique des émulsions à base d'acide fusidique. 56
III.3.1.Aspect macroscopique des émulsions 56
III.3.2. Examen microscopique des émulsions 57
III.3.3. Résultats de pH 58
III .3.4. Évaluation du sens de l'émulsion des formulations 59
III.3.5. Test d'étalement 59
III.3.6. Stabilité à centrifugation 60
III.3.7. Mesure de viscosité 61
III.3.8. Dosage de l'acide fusidique dans les formulations par La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) 62
III.3.9. Pureté microbiologique des formulations 63
III.4.Conclusion 67
Conclusion générale 68
Référence bibliographique 69

INTRODUCTION GENERALE

Les émulsions sont une forme galénique utile et polyvalente pour la formulation de médicaments et sont également largement utilisées dans l'industrie cosmétique, agroalimentaire, les peintures, l'agrochimie et l'industrie pétrolière.

Les émulsions offrent une forme galénique pratique pour la formulation de médicaments, car elles permettent la solubilisation et la dispersion de molécules lipophiles ou hydrophobes dans une matrice aqueuse. De plus, les émulsions peuvent être utilisées pour améliorer la biodisponibilité, la stabilité et la libération des médicaments.

Cependant, la formulation d'émulsions pharmaceutiques peut être un défi, car les émulsions sont des systèmes complexes et instables qui peuvent subir des modifications de phase, devenir instables avec le temps ou lorsqu'ils sont soumis à des conditions de stress telles que la température, le pH, ou la pression. Par conséquent, des études sont toujours en cours pour mieux comprendre les mécanismes de formation et de stabilité des émulsions pharmaceutiques, ainsi que pour développer des stratégies de formulation pour améliorer leur stabilité et leur performance.

A cet effet, les émulsions peuvent être stabilisées par des molécules amphiphiles telles que les tensioactifs ou les polymères adsorbées à l'interface entre les deux phases non miscibles. Leur élaboration a pour principal enjeu de combiner de façon adéquate les propriétés physico-chimiques des constituants de l'émulsion et les conditions hydrodynamiques liées à la technique mise en œuvre pour réaliser l'émulsification [1].

Les agents émulsifiants et stabilisants synthétiques utilisés dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique peuvent être potentiellement irritants pour la peau et l'environnement. Pour cette raison, de plus en plus de recherches sont axées sur le développement d'émulsions plus naturelles et biodégradables. L'utilisation de biopolymères tels que les polysaccharides, les protéines et les lipides issus de sources naturelles peut être une stratégie prometteuse pour stabiliser les émulsions.

Les biopolymères sont des polymères naturels provenant de sources renouvelables telles que les plantes, les algues ou les micro-organismes. Ces biopolymères possèdent des propriétés émulsifiantes et stabilisantes intrinsèques en raison de leur structure et de leur composition chimique, ce qui peut les rendre adaptés à une utilisation dans les formulations pharmaceutiques et cosmétiques. Les biopolymères les plus couramment utilisés dans les émulsions sont les polysaccharides tels que la gomme arabique, la gomme xanthane, les carraghénanes et la cellulose [2]. Ces polysaccharides ont des propriétés émulsifiantes et stabilisantes qui peuvent être utilisées pour stabiliser les émulsions grâce à leur propriété de surface et de gélification.

Deux stratégies sont actuellement étudiées pour stabiliser les émulsions à l'aide de particules solide ou bien à l'aide de biopolyméres [3]. C'est cette deuxième approche que nous avons choisi de développer dans ce travail.

Cependant, l'utilisation de biopolymères pour stabiliser les émulsions peut être plus complexe que l'utilisation de tensioactifs synthétiques en raison de leur sensibilité aux facteurs environnementaux tels que le pH, la température et la force ionique. Cependant, ces propriétés peuvent également être modifiées pour améliorer l'efficacité des biopolymères en tant qu'agents émulsifiants et stabilisants. Une stratégie courante pour améliorer les propriétés des biopolymères est de les modifier chimiquement pour leur conférer de nouvelles propriétés de surface. Par exemple, des groupes fonctionnels tels que des groupes hydrophobes ou carboxyles peuvent être ajoutés aux polysaccharides pour améliorer leur capacité à se lier aux molécules d'huile et à former des films protecteurs autour des gouttelettes. La modification chimique des biopolymères peut également permettre de contrôler leur solubilité dans l'eau et leur affinité pour les surfaces hydrophobes, ce qui peut avoir un impact sur leur capacité à former et stabiliser les émulsions.

En outre, l'utilisation de biopolymères modifiés peut offrir une plus grande flexibilité dans la formulation des émulsions, permettant une utilisation plus large de ces matériaux naturels et renouvelables en tant qu'agents émulsifiants et stabilisants dans les produits pharmaceutiques et cosmétiques.

Dans ce contexte, ce présent travail a pour objectif la formulation d'une crème générique à base du principe actif Acide fusidique, sous forme d'une émulsion aqueuse simple (H/E), permettant ainsi d'améliorer la stabilité de la crème dermique. La crème générique du princeps (Acifudal® 2%, crème dermique) devra présenter également une certaine consistance, qui lui confère une bonne acceptabilité et un confort lors de son application sur la peau. A cet effet, une substitution du tensioactif chimique par le biopolymére Kappa carraghénane (KC) et ses dérivés modifiés KCD1 et KCD2 sera réalisée lors de cette étude. Une étude de pré formulation et de formulation des crèmes génériques sera effectuée et une comparaison des formules obtenues par rapport au produit princeps sera réalisée.

Ce mémoire est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre présentant une étude bibliographique, qui se compose de deux parties. Une première partie présente des généralités sur les émulsions, leurs paramètres de formulation, ainsi que leurs fabrications et les contrôles effectuées sur ses formes dispersées. Une deuxième partie est consacré aux biopolymères utilisé dans cette étude (kappa carraghénane et ses dérivés).
- Le deuxième chapitre, présente le matériels et produits utilisés, ainsi qu'une description détaillée des méthodes expérimentales appliquées.
- Dans le dernier chapitre, l'ensemble des résultats de cette étude a été discuté.

Enfin, ce présent travail est clôturé par une conclusion générale résumant l'essentiel des résultats

Chapitre I
Étude bibliographique

I.1 Introduction

Les émulsions font partie de la famille des colloïdes, que l'on peut définir comme un système thermodynamiquement instable, composé de deux phases distinctes en suspension et dont la dimension caractéristique (diamètre des gouttelettes ou longueur des discontinuités) se situe entre le micromètre et le nanomètre.

La stabilité des émulsions dépends fortement des agents de surfaces, qui s'avèrent être des composants indispensables dans ses systèmes. L'introduction d'agents de stabilisation des émulsions autres que les tensioactifs traditionnels s'avèrent être une alternative très intéressantes. En effets l'utilisation de biopolyméres dotés de propriétés de surfaces apporte aux émulsions en général, et aux émulsions à usage pharmaceutiques (crèmes, émulgels, ….) une meilleure stabilité et une très bonne tolérance du produit fini. A cet effet, cette partie du mémoire portera sur une étude bibliographique sur les émulsions pharmaceutiques (composition, formulation, stabilité et instabilité), les biopolyméres et leurs propriétés de surfaces, spécialement le kappa carraghenane et ses dérivés, qui seront utilisés comme agent de stabilisation d'émulsions pharmaceutiques dans le reste de ce présent travail.

I.2. Émulsions pharmaceutiques

Les émulsions sont des préparations généralement liquides, destinées à être administrées telles quelles ou à être utilisés comme excipients. Elles sont constituées par la dispersion d'un liquide sous forme de globules dans un autre liquide non miscible. Les émulsions sont constituée de deux phases, chacune d'elles peut contenir un ou plusieurs principes actifs et diverses substances auxiliaires (antimicrobiens, conservateurs, épaississants, colorants, etc.). Celles destinées à la voie orale sont additionnées d'édulcorants et d'aromatisants.

En règle générale, la fraction volumique de la phase continue est plus importante. Lorsque la phase continue est minoritaire en volume (moins de 30%), on parle d'émulsions concentrées.

La taille des gouttelettes formant la phase dispersée d'une émulsion est typiquement de l'ordre du micromètre (0,1 à 100 μm) et impose l'aspect blanc opaque commun à la plupart des émulsions [1].

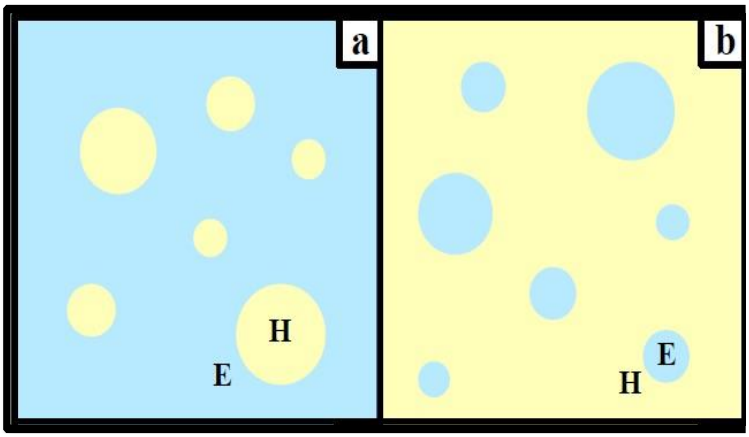


Figure I.1. Représentation schématique d'une émulsion :
(a) Huile dans Eau, **(b)** Eau dans Huile [2]

I.2.1. Composition des émulsions

Les principaux composants des émulsions sont :

- **Phase lipophile :** également appelée phase grasse, phase huileuse ou phase organique, généralement fabriqué à partir d'un mélange d'ingrédients provenant de différentes sources.
- **Phase hydrophile :** appelée également phase aqueuse, contient généralement de l'eau et des composés solubles en phase aqueuse appelés composés hydrosolubles.
- **Tensioactifs :** ce sont des composants très importants car ils assurent la formation et la stabilité de l'émulsion dans le temps.

I.2.2. Types d'émulsions

Il existe plusieurs types d'émulsions. Les émulsions simples composées de deux phases (hydrophile et lipophile) et les émulsions multiples constituées de deux phases lipophiles et d'une phase hydrophile ou de deux phases hydrophiles et d'une phase lipophile [3].

I.2.2.1. Emulsions simples

Une émulsion simple est une émulsion composée d'une phase hydrophile, d'une phase lipophile et d'un émulsifiant [3]. Le tableau suivant (**Tableau I.1**) donne les principales compositions des émulsions simples selon leurs types.

Tableau I.1. Différents types d'émulsions simples. [3]

Sens de l'émulsion	Phase dispersée	Phase dispersante	Symbole
Emulsion huile dans eau **« Emulsion de type aqueuse »**	Lipophile	Hydrophile	H/E L/H O/W
Emulsion eau dans huile **« Emulsion de type huileuse »**	Hydrophile	Lipophile	E/H H/L W/O

Les émulsions simples sont appelées eau-dans-huile (E/H) quand des gouttelettes d'eau sont dispersées dans la phase huileuse (ou encore émulsion directe), et huile-dans-eau (H/E) pour l'inverse (émulsion inverse) [4], comme indiqué dans la **Figure I.2**.

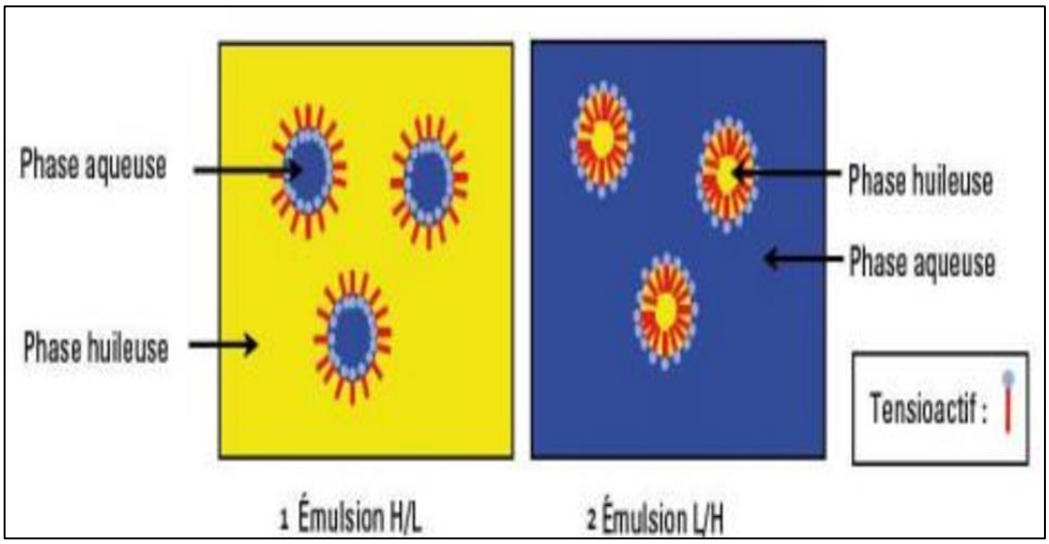


Figure I.2. Types des émulsions simples [5]

I.2.2.2. Emulsions multiples

Les émulsions multiples sont des systèmes multiphasiques comprenant au moins deux liquides non miscibles, à savoir, deux émulsions H/L et L/H, et où siègent des tensio-actifs hydrophiles et lipophiles qui sont utilisés pour stabiliser ces deux émulsions, respectivement et dont l'une est dispersé sous forme de fines gouttelettes uniforme dans l'autre (**Figure I.3**). Ainsi, les émulsions multiples sont appelées «émulsions d'émulsions » Le diamètre des gouttelettes dans les émulsions multiples peut varier de (0,1 à 100µm) [6].

Les gouttelettes de l'émulsion double E/H/E devraient être d'une taille comprise entre (10-60µm), de façon à optimiser sa stabilité. Le diamètre des globules d'huile devrait atteindre préférentiellement au moins 6 fois celui du diamètre des gouttelettes aqueuses internes.

Ces valeurs sont les paramètres optimaux pour obtenir une émulsion multiple stable. De façon plus générale, les gouttelettes aqueuses internes devraient être inférieures à 10 microns et les gouttelettes externes, de taille inférieure à 100 microns [7].

Il est donc évident que les émulsions multiples sont des systèmes thermodynamiquement instables, leur formulation constitue un paramètre critique à leur préparation [8].

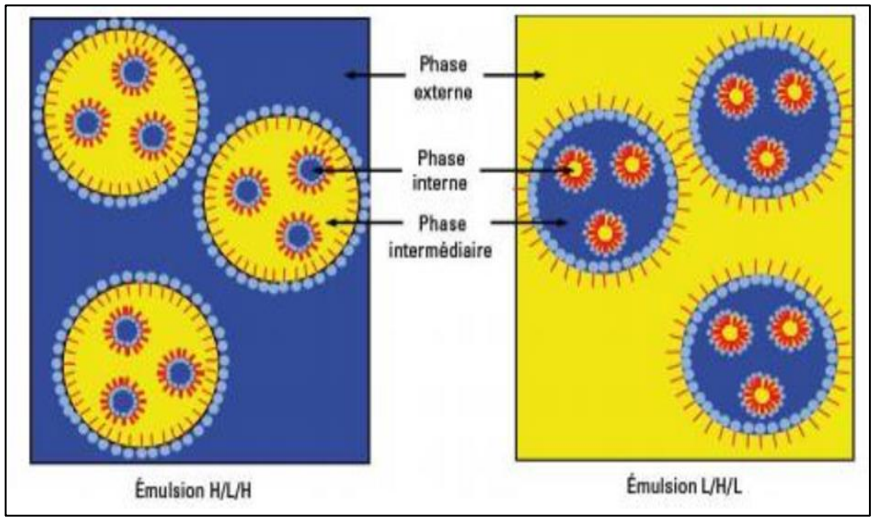


Figure I.3. Différents types d'émulsions multiples [5]

I.2.2.3. Emulsions mixtes

Ce sont des émulsions dont la phase dispersée est constituée de gouttelettes de composés liquides différents par leur composition ou par leur concentration (**Figure I.4**). Ces émulsions peuvent être de type (E1+E2)/H ou (H1+H2)/E [9].

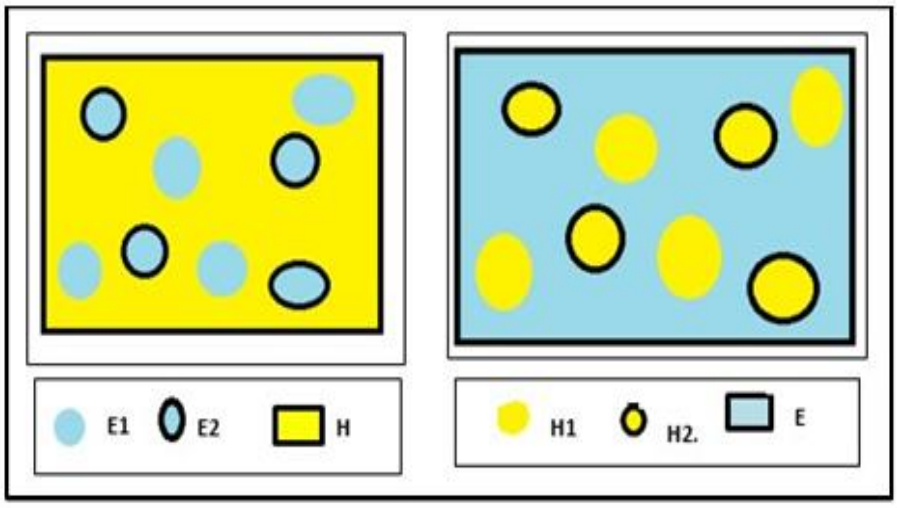


Figure I.4. Différents types d'émulsions mixtes. [9]

I.2.3. Caractérisation des émulsions

Le type, la viscosité, la taille des gouttelettes et la stabilité sont les propriétés les plus importantes d'une émulsion.

I.2.3.1. Contrôle macroscopique

Ce test est basé sur les critères suivants :

a. Caractères visuels

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

b. Critères olfactifs : Il faut détecter d'une part la présence ou l'absence de particules étrangères et d'autre part l'odeur typique (PA, excipients, parfums).

c. Critère tactile : C'est l'aspect d'étalement sur le revêt de la main, si la préparation n'est pas caustique, il faut préciser le toucher qui peut être gras, évanescent, collant, granuleux, lisse, ou rugueux [10]

I.2.3.2. Examen microscopique

L'examen microscopique est le premier essai effectué pour identifier les systèmes obtenus. Il constitue un excellent moyen pour suivre la stabilité de ces systèmes lors du vieillissement. Le microscope optique est une méthode d'analyse usuelle pour la multiplicité des systèmes, cette méthode permet d'avoir une idée sur la taille des globules internes souvent de l'ordre du micromètre [11].

I.2.3.3. Détermination du sens d'émulsion

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

- **Méthode de coloration :** la coloration de l'une des phases (par exemple, addition d'un colorant hydrosoluble qui permet d'identifier la phase aqueuse).
- **Méthode de dilution :** la dilution par addition d'eau qui montre si ce liquide est compatible ou non avec la phase continue

- **Méthode par la mesure de conductivité :** la mesure de la conductivité de la phase externe est plus précise. En effet, une phase continue aqueuse a une conductivité plus élevée qu'une phase huileuse [12].

I.2.3.4. Analyse granulométrique

La granulométrie d'une émulsion correspond à la taille des gouttelettes de la phase dispersée : distribution de la taille et le diamètre moyen. C'est un paramètre très important qui est lié au processus de formulation. La distribution de la taille des gouttelettes et la polydispersité peuvent être mesurées au moyen de diverses techniques expérimentales telles que la diffraction laser [13-14], la diffusion dynamique de la lumière [15-16] et la microscopie optique.

I.2.3.5. Contrôle de stabilité

La stabilité de l'émulsion résulte de la stabilité physique (pas de séparation des phases), de la stabilité chimique (absence de réaction chimique) et de la stabilité microbiologique (pas de développement microbien).

La stabilité physique peut être évaluée par deux méthodes :

- La première consiste à évaluer des échantillons stockés à différentes températures (de 0 à 40 ° C) et pour diverses périodes. Il peut également comprennent des cycles de refroidissement à chaud répétés.
- La seconde méthode consiste à augmenter les processus de sédimentation ou de crémage qui peuvent conduire à la coalescence par centrifugation [17].

I.2.3.6. Analyse rhéologique

Récemment, les mesures rhéologiques sont devenues de plus en plus importantes pour pouvoir caractériser la consistance des émulsions. Elles sont maintenant requises dans le contrôle de la qualité, la stabilité au stockage, les effets de la formulation sur la cohérence et la prédiction du comportement d'écoulement dans la production (pour le pompage, le mélange et l'emballage) [18].

L'analyse rhéologique est réalisée à l'aide d'un rhéomètre où une fine couche de fluide est enfermée entre deux plaques avec la surface A (m^2). La plaque supérieure est forcée à se déplacer par une force F (N), avec la vitesse dx (m /s), tandis que la plaque inférieure est fixe (**Figure 1.5**) [19].

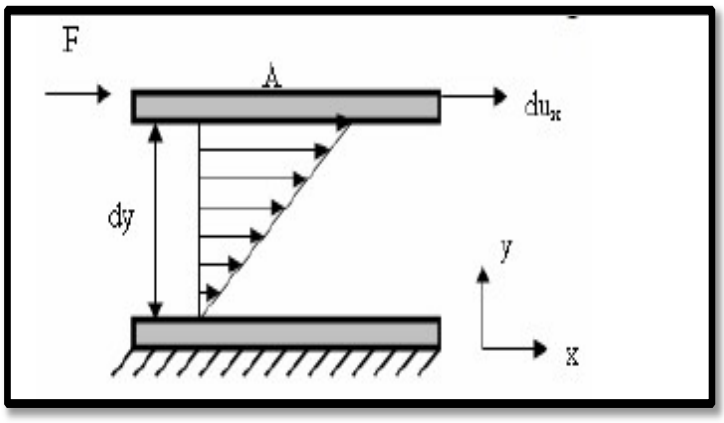


Figure I.5. Profil de vitesse entre plaques parallèles [20]

a) Grandeurs rhéologiques

- **Contrainte de cisaillement :** la contrainte de cisaillement se définit comme suit [21]

$$\tau = \frac{F}{A} \qquad (1)$$

τ : La contrainte de cisaillement, exprimé en N /$m2$ ou en Pa.

F : La force appliquée en N.

A : L'ire de surface en m^2.

- **Déformation et vitesse de cisaillement :** Elle est définie par la relation

Suivante [22] :

$$\dot{\gamma} = \frac{dx}{dy} \qquad (2)$$

$\dot{\gamma}$: La déformation ou le taux de cisaillement (s^{-1}).

- **Viscosité :** C'est la mesure de la résistance d'un fluide à l'écoulement [19]. La viscosité apparente d'un fluide est la contrainte de cisaillement divisée par la déformation de cisaillement [23] :

$$\eta_{app} = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \qquad (3)$$

η_{app}: La viscosité apparente (Pa. s).

b) Comportement rhéologiques des fluides

Les appareils les plus utilisés pour les études de viscosité des émulsions sont généralement soit des viscosimètres à écoulement par un capillaire ou bien des viscosimètres à mobile tournant ou encore les rhéomètres.

Plusieurs facteurs influents sur la rhéologie de l'émulsion, comme la fraction volumique et la viscosité de la phase dispersée, la granulométrie des gouttelettes, la viscosité de la phase

continue ainsi que sa composition chimique (polarité, pH), la nature et la concentration en électrolyte et la rhéologie inter faciale [24].

Les rhéogrammes obtenus permettent de classer les émulsions, en fonction de leur comportement rhéologique (**Figure I.6**), en diverses catégories : fluide plastique, fluide pseudo plastique, fluide dilatant, fluide Newtonien, etc. [25].

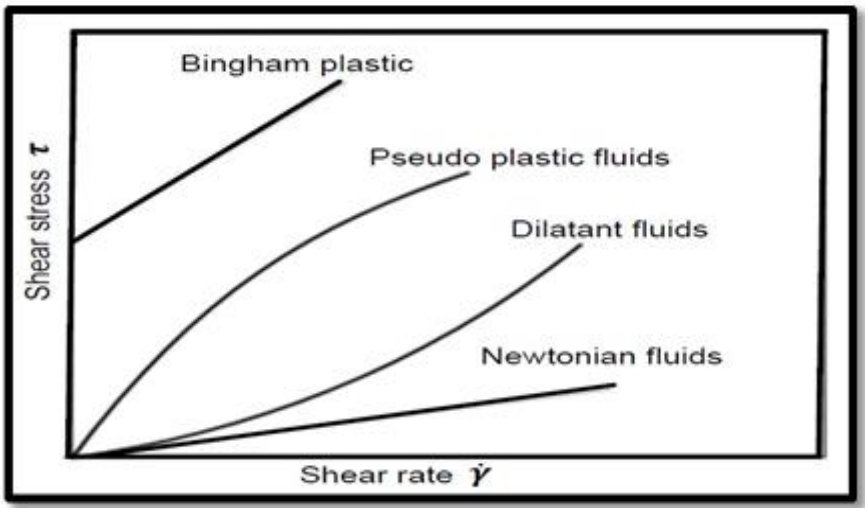


Figure I.6. Rhéogrammes pour divers fluides [26]

b.1. Fluides plastiques : plusieurs lois rhéologiques sont utilisées pour le comportement plastique, parmi elle on cite la loi de Bing Ham [27] :

$$\tau = \tau_c + \eta_p . \dot{\gamma} \qquad (4)$$

τ_c: Contrainte seuil d'écoulement.

η_p: viscosité plastique de Bingham.

b.2. Fluides pseudo-plastiques : dans ce cas les pertes de vitesse augmentent plus rapidement que les forces de cisaillement, la viscosité n'est plus une constante mais diminue d'autant plus que les contraintes exercées sont élevées [27].

Les principaux fluides présentant un comportement pseudo plastique sont les suspensions de particules asymétriques, les solutions de hauts polymères (dérivés de la cellulose), les pâtes à papier et le savon [28].

b.3. Fluides dilatants : ce type de comportement a été primitivement mis en évidence sur les suspensions de forte teneur en solide. Au repos, le volume libre entre les particules

minimal est occupé par du liquide qui lubrifie le mouvement des particules. Au fur et à mesure que la vitesse de cisaillement croit, la structure solide devient de plus en plus lâche et le liquide est en défaut dans les lacunes (il y a gonflement des fluides) [28].

b.4. Fluides Newtoniens : le graphe de la contrainte de cisaillement par rapport au taux de cisaillement est une droite qui traverse l'origine ou une ligne droite avec une pente d'unité sur un tracé logarithmique [29]. Les fluides Newtoniens obéissent à la loi de Newton de la viscosité, donnée par :

$$\tau = \eta . \dot{\gamma} \qquad (5)$$

I.2.4. Mécanismes d'instabilité des émulsions

La stabilité d'une formulation revêt plusieurs aspects : physiques, chimiques et microbiologiques.

- Pour être stable physiquement, l'émulsion ne doit pas montrer de démixtion, qui peut être provoquée soit par de la coalescence, soit par un phénomène de crémage/sédimentation. La stabilité physique inclut aussi une invariance du comportement rhéologique et de la granulométrie.
- La stabilité chimique repose sur le fait qu'aucun des composants de l'émulsion ne doit participer à une réaction chimique pouvant soit modifier de manière grave la stabilité physique, soit perturber les propriétés applicatives (aspect, couleur, odeur, efficacité).
- Enfin, la formulation, pour être stable microbiologiquement, ne doit pas être un milieu de culture pour levures, moisissures, et germes bactériens [10].

Les émulsions étant thermodynamiquement instables, leurs propriétés vont se modifier dans le temps (**Figure I.7**).

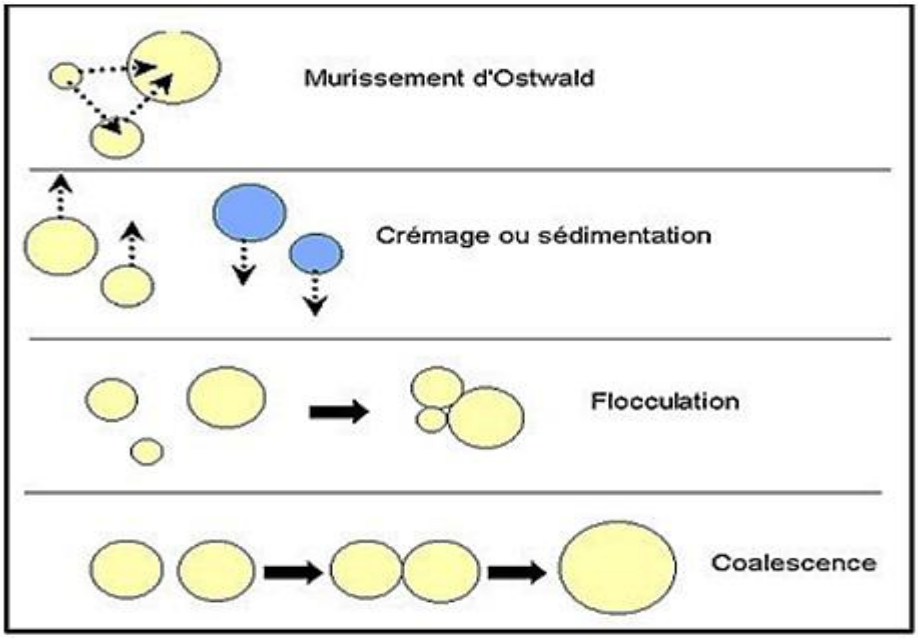


Figure I.7. Processus de déstabilisation d'une émulsion [30]

Les différentes formes d'instabilités des émulsions sont les suivantes :

I.2.4.1. Sédimentation et crémage

Ce mécanisme résulte de la différence de densité entre la phase dispersée et la phase continue (**Figure I.8**). On parle de crémage quand il s'agit d'une ascension de la phase dispersée et de sédimentation quand la phase dispersée chute pour revenir à l'émulsion **[**4]. 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.

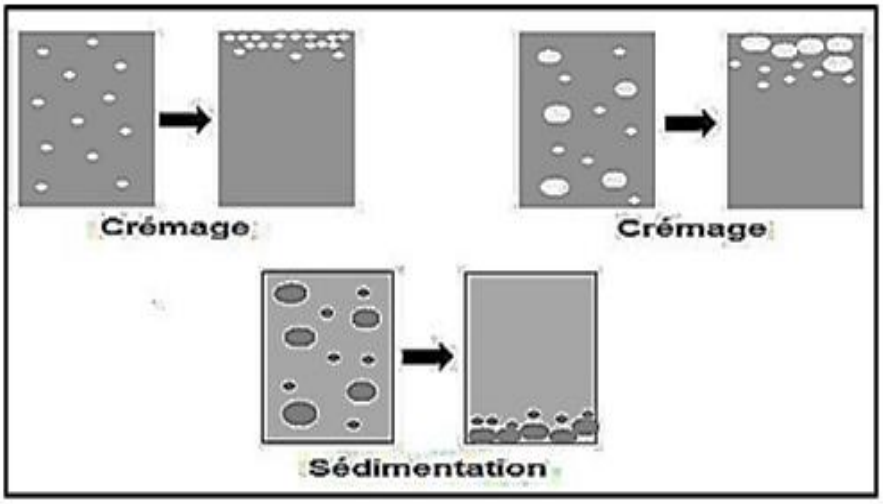


Figure I.8. Phénomènes de crémage et de sédimentation [4]

I.2.4.2. Floculation

Ce mécanisme résulte de l'agrégation des gouttelettes due aux interactions attractives. L'énergie d'interactions entre les particules est due à la somme des forces de répulsions électrostatiques et au potentiel d'attraction de type Van der Waals. Ce phénomène peut être réversible lorsque l'attraction est peu énergétique ou irréversible lorsqu'elle est très énergétique **(Figure I.9**) [4]

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).

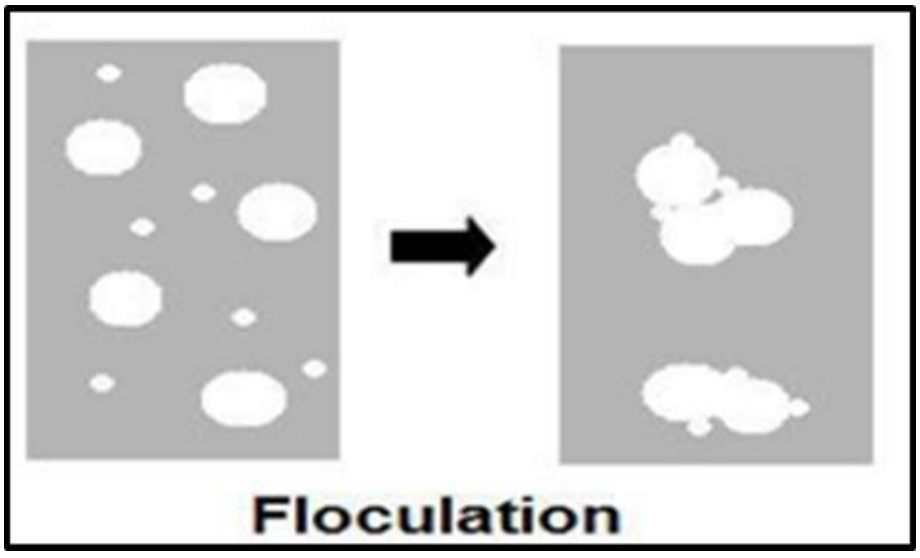


Figure I.9. Phénomène de floculation [4]

I.2.4.3. Coalescence

Ce mécanisme, irréversible, résulte de la rupture du film inter faciale entre les gouttes de la phase dispersée. Deux ou plusieurs gouttes fusionnent pour former une goutte plus grosse (**Figure I.10**). Le processus se répétant, l'air 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 [4].

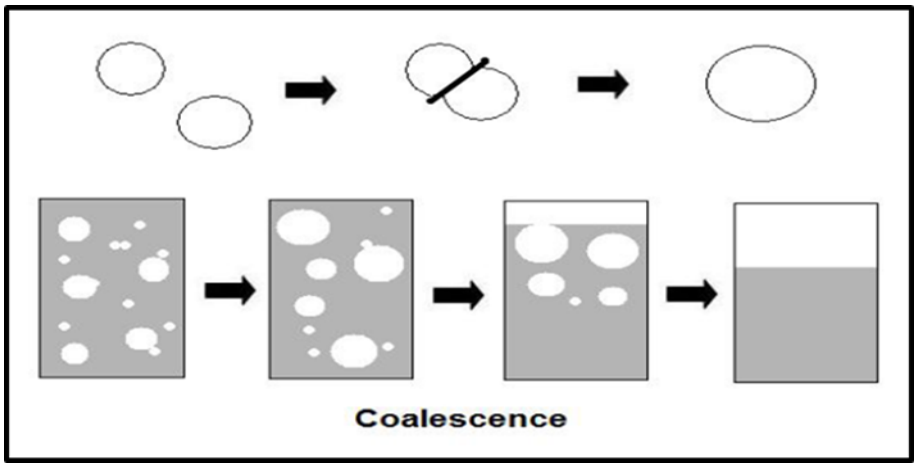


Figure I.10. Phénomène de coalescence [4]

I.2.4.4. Mûrissement d'Ostwald ou diffusion moléculaire

Il existe toujours une solubilité partielle de la phase dispersée dans la phase continue. A l'issue de l'étape d'émulsification, la population de gouttelettes n'est pas homogène en taille. Il existe un flux de matière des petites vers les grosses gouttes, au travers de la phase continue. Les petites gouttes se vident au profit des grosses, et la granulométrie se modifie puisque les classes de faible taille disparaissent (**Figure I.11**). Ce phénomène irréversible constitue le mûrissement d'Ostwald. Ce phénomène est en pratique peu gênant dans la plupart des émulsions fabriquées. Par contre, il est prédominant dans le cas de microémulsions.

Ce phénomène peut être évité par :

- Une mono dispersion de la population de gouttelettes.
- Une diminution de la solubilité en ajoutant du sel dans une émulsion E/H ou un soluté apolaire de masse molaire élevée pour une émulsion H/E.
- Un tensioactif faisant barrière à la diffusion de molécules de la phase dispersée [4].

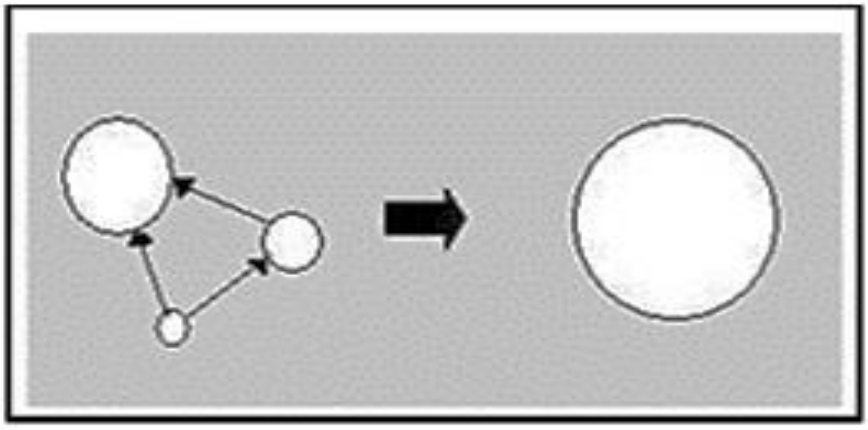


Figure I.11. Phénomène de mûrissement d'Ostwald [4]

I.2.4.5. Inversion de phase

L'inversion de phase, représenté sur la **figure I.12**, est un phénomène qui se 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 [4]. Elle peut être induite par :

- La proportion de phase dispersée.
- La température.
- La nature de la phase huileuse.
- La nature et la concentration des sels existant.

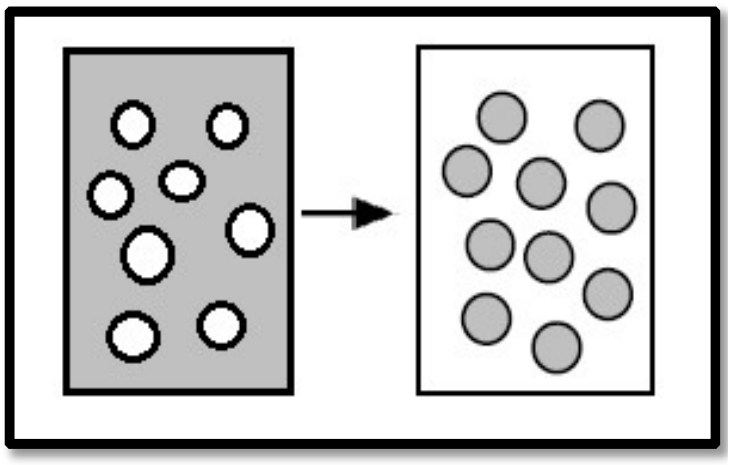


Figure I.12. Phénomène d'inversion de phase [31]

I.2.5. Stabilisation des émulsions

Comme il existe toujours des forces d'attraction fortes et à longue distance entre des particules de la phase dispersée d'une émulsion, il est nécessaire de prévoir une répulsion à grande distance entre les particules pour leurs conférer une stabilité. Cette répulsion doit être au moins aussi forte que la force d'attraction et comparable dans la portée de l'interaction attrayante. Cette stabilité peut être obtenue par [32] :

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

a) Stabilisation électrostatique : Un moyen efficace de contrebalancer l'attraction entre les particules dans les liquides polaires est de fournir les particules de répulsion. Dans les milieux de dispersions liquides, les groupes ioniques peuvent s'adsorber à la surface d'une particule à travers différents mécanismes pour former une couche chargée (**Figure 1.13**). Pour maintenir l'électro-neutralité, un nombre égal des contre-ions avec la charge opposée entourera les particules et donnera lieu à des couches doubles totales neutres en charge. Dans la stabilisation de charge, c'est la répulsion mutuelle de ces couches doubles entourant des particules qui fournit la stabilité [32].

La force ionique est importante dans la stabilité de l'émulsion car une force ionique élevée peut induire une floculation des gouttelettes si la concentration en électrolyte est suffisamment élevée pour cribler électro statiquement la charge des gouttelettes [32].

Il faut noter que l'ajout d'un sel au système fait augmenter la force ionique, ce qui restreint la double couche en réduisant la portée de la répulsion, ce qui peut générer des effets d'agrégation [33].

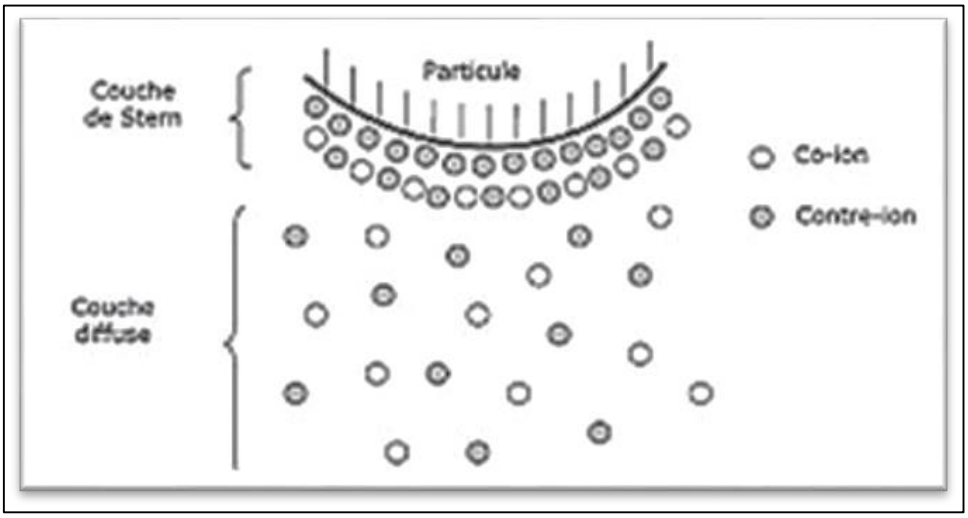


Figure I.13. Double couche électrique [32]

b) Stabilisation stérique : Pour les polymères de poids moléculaire assez élevé, les dimensions de la chaîne sont comparables ou supérieures à la plage de l'attraction. Par conséquent, ils peuvent engendrer une répulsion. Ces molécules du polymère peuvent être utilisées pour conférer une stabilité. La stabilisation stérique des particules est obtenue par fixation de macromolécules sur les surfaces des particules (**Figure I.14**). La stabilisation due aux couches adsorbées sur la particule dispersée est généralement appelée stabilisation stérique [32].

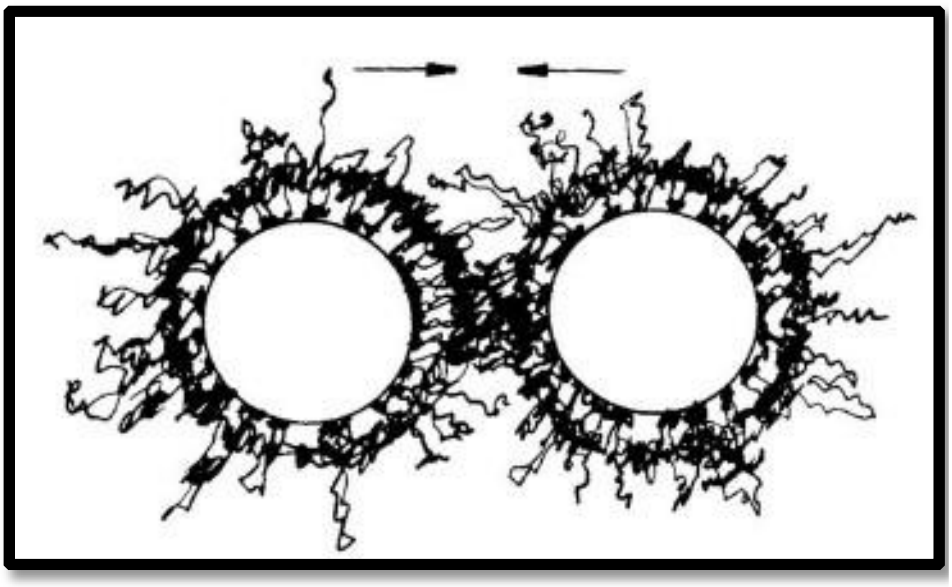


Figure I.14. Schématisation de stabilisation stérique [34]

c) Stabilisation électrostérique : La stabilisation électrostatique et celle stérique peuvent être combinées en tant que stabilisation électrostérique. L'origine du composant électrostatique peut être une charge nette sur la surface des particules et / ou des charges associées au polymère fixé à la surface (c'est-à-dire à travers un polyélectrolyte fixé) [32].

d) Stabilisation rhéologique : Il s'agit de l'incorporation d'additifs qui permettent d'augmenter la viscosité de la phase continue, tels que les polymères viscosifiants ou certains tensioactifs, de manière à ce que les gouttes dispersées soient moins mobiles et que la probabilité du choc diminue [33].

I.2.6. Stratégies de formulation des émulsions

La fabrication des émulsions doit prendre en compte une multitude de variables. En premier lieu, il y a les variables de composition ou de formulation dont la nature et les proportions des phases, le choix et les quantités d'additifs, en particulier les émulsifiants et les conditions dans lesquelles ces émulsions sont produites (température, pression, volume, etc…) conditionnent le type de l'émulsion. Ensuite, il y a les variables du procédé, relatives à la technique d'émulsification dont le type d'agitation (pale, turbine, ancre…), la vitesse et le temps d'agitation, et le mode opératoire (ordre d'introduction des constituants, températures à respecter aux différentes étapes de la préparation), qui déterminent en grande partie la qualité de l'émulsion (finesse et stabilité) [35].

I.2.6.1. Variables de formulation : Il s'agit de tous les paramètres physicochimiques comme la température, la pression, le pH, la nature des constituants et le type d'électrolytes [36-37]. Pour que l'émulsion soit persistante (c'est-à-dire que l'état dispersé demeure lorsque l'agitation mécanique cesse), il est nécessaire d'utiliser un agent émulsionnant. Parmi les agents émulsionnants, citions les tensioactifs, les polymères et les solides divisés. Un émulsionnant ou émulsifiant peut agir sur la stabilité d'une émulsion de trois façons [35]:

- Soit en diminuant la tension interfaciale entre les deux liquides, donc augmentation de la surface de séparation. C'est le cas des surfactifs dont les molécules viennent former un film à l'interface. Une extrémité de chaque molécule se plaçant dans l'eau et l'autre dans l'huile.
- Soit en augmentant la viscosité de la préparation, cas des gommes par exemple.
- Soit en agissant à la fois sur la tension interfaciale et sur la viscosité. C'est ce qui se produit lorsqu'on met un surfactif non-ionique en excès. Une partie agit à l'interface, pour baisser la tension interfaciale, et l'autre augmente la viscosité de la phase aqueuse dispersante.

I.2.6.2. Variables de processus : Ce sont les variables associées au protocole d'émulsification comme l'ordre d'incorporation des composants, la géométrie du dispositif d'agitation, la vitesse d'agitation ou l'énergie mécanique fournie [36-37].

En discontinu, la position e l'agitateur et la vitesse d'agitation pouvaient déterminer le type de dispersion créée (E/H ou H/E). Il a été vérifié que la phase ou est placé l'agitateur devient la phase continue. De plus, le protocole d'incorporation, spécialement la dynamique d'introduction de la deuxième phase, joue un rôle primordial sur la taille de gouttes [35].

La taille moyenne des gouttes de phase dispersée diminue lorsque la vitesse de rotation augmente jusqu'à l'obtention d'un palier, les autres paramètres étant maintenus constants. La forme de la courbe de distribution de taille varie depuis une distribution normale vers une distribution log-normale en augmentant la vitesse d'agitation. En effet, l'augmentation de la vitesse de rotation induit des zones de turbulences plus fortes, ce qui favorise la rupture au détriment de la coalescence.

Ces observations sont valables quelles que soient la vitesse d'agitation et la concentration initiale en tensioactif. Elles confirment l'existence d'un équilibre dynamique entre rupture et coalescence [35].

La taille moyenne des gouttes décroit en fonction de la durée d'agitation et se stabilise au-delà d'une durée optimale. Ce comportement est typique des dispersions préparées en régime

turbulent. Dans les premières secondes de l'émulsification, le diamètre moyen diminue très rapidement puis atteint lentement une valeur limite qui résulte de l'équilibre entre les processus de rupture et de coalescence [38]. Toutefois, il faut signaler que, dans certains cas, la taille des gouttes n'est pas strictement constante, même pour des temps d'agitation très longs. En effet, les fluctuations de l'énergie dissipée dans la cuve peuvent être assez énergétiques pour induire la rupture des gouttes.

Un autre aspect important à considérer est l'évolution de la distribution de taille des gouttes en fonction de la durée de l'agitation .En général, la distribution de taille tend à devenir plus étroite en fonction de la durée de l'agitation. Sous agitation, une distribution de taille bimodale peut évoluer vers une distribution monomodale. Cependant, pour des émulsions concentrées, l'augmentation de la durée d'agitation peut, au contraire, provoquer l'apparition d'une distribution bimodale, qui s'explique par l'augmentation de la viscoélasticité du milieu avec la diminution de la taille de la goutte.

I.2.6.3. Méthodes de préparation

Généralement, l'émulsification se décompose en deux étapes successives [10] :

- Une étape de dispersion-mélange que l'on appelle pré-émulsification et qui va conduire à une simple mise en suspension de gouttelettes de la phase dispersée dans la phase continue (gouttes de l'ordre de 100µm) (**Figure I.15.a**).
- Une étape d'homogénéisation dont le but est de réduire la taille des gouttes de façon à conférer à l'émulsion les propriétés requises et à la stabiliser (**Figure I.15.b**).

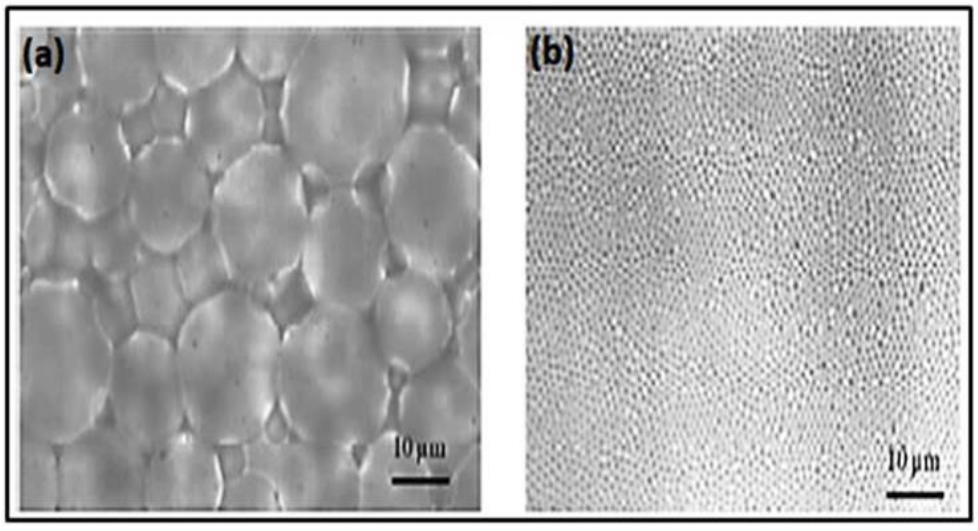


Figure I.15. Image microscopie optique :
(a) émulsion primaire, **(b)** émulsion après homogénéisation [10]

Ces deux opérations s'effectuent dans des cuves agitées ou dans des conduites munies d'outils de dispersion et homogénéisation (dispositif rotor-stator), selon le schéma de formulation général suivant (**Figure I.16**).

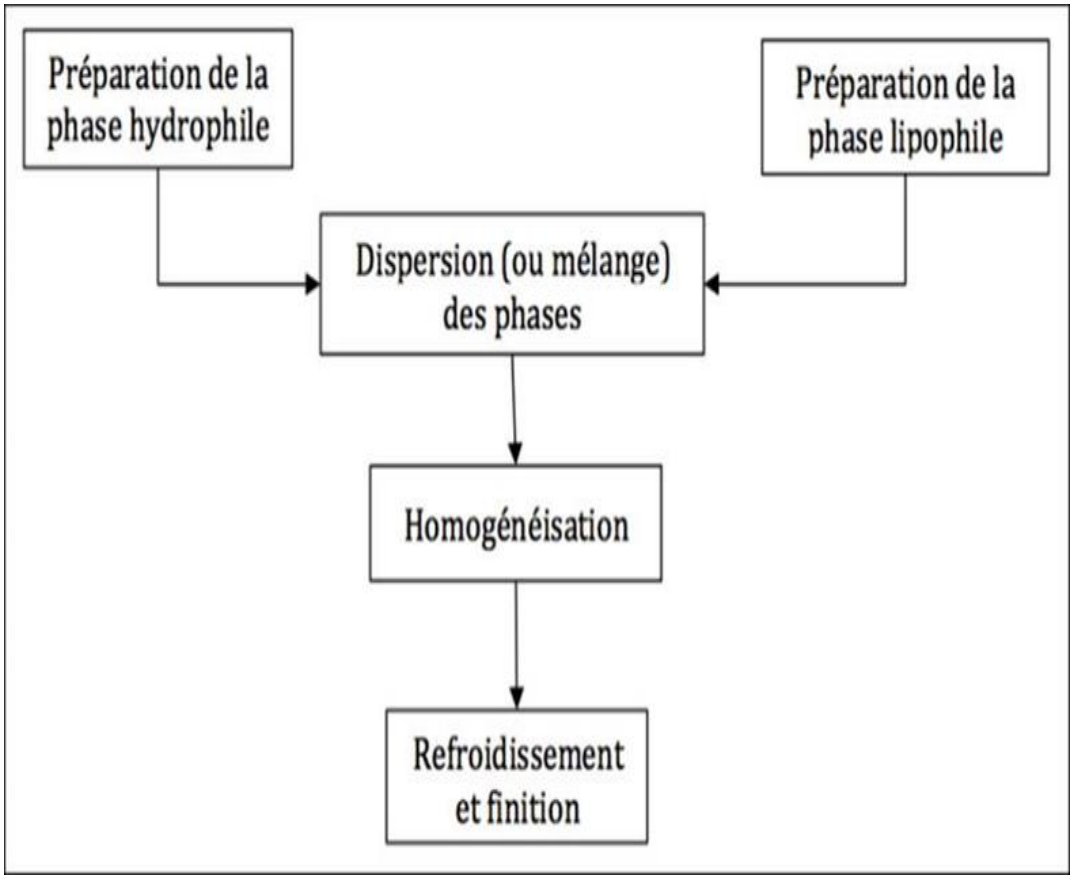


Figure I.16. Schéma de formulation d'une émulsion

I.3. Tensioactifs

Les composés tensioactifs ou agents de surface ou encore surfactifs, appelés en anglais surfactants, ont la propriété de s'absorber aux interfaces, et donc de diminuer la tension interraciale eau/huile afin de permettre la dispersion des deux liquides non miscibles (augmentation de l'aire de l'interface)

Les tensioactifs sont des molécules amphiphiles (**Figure I.17**) ils possèdent une partie polaire et une partie apolaire. La partie polaire, hydrophile, lipophobe, présente une affinité pour l'eau (soluble dans l'eau). La partie apolaire, hydrophobe, lipophile, présente une affinité pour les huiles (soluble dans l'huile) [39].

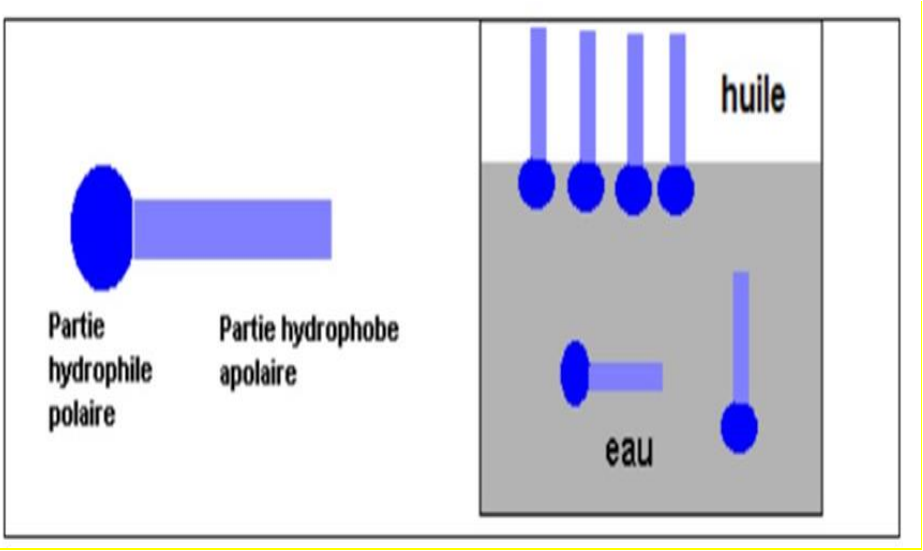


Figure I.17. Structure d'une molécule amphiphile [39]

La partie lipophile est constituée par une ou plusieurs chaînes hydrocarbonée(s) aliphatique(s), linéaire(s) ou ramifiée(s), ou aromatique(s) ou encore alkyl-aromatique(s). Le caractère hydrophobe de la partie hydrocarbonée varie avec le nombre d'atomes de carbone, le nombre d'instaurations et les ramifications. En règle générale, le caractère hydrophobe croît avec le nombre d'atomes de carbone et diminue avec le nombre d'instaurations [39].

La partie hydrophile, ou tête polaire, est constituée par un ou plusieurs groupements polaires (s), ionique (s) ou non ioniques (s). Les agents tensioactifs sont classés en fonction de la nature de la partie hydrophile puisque celle-ci gouverne leurs propriétés On distingue les tensioactifs ioniques (anioniques, cationiques, zwitterioniques ou amphotères) et les non ioniques [39].

I.3.1. Classification des tensioactifs

Les tensioactifs sont habituellement classés selon la nature de leur groupe de tête. La partie hydrophile, ou tête polaire, est constituée par un ou plusieurs groupements polaires (s), ionique (s) ou non ioniques (s). Les agents tensioactifs sont classés en fonction de la nature de la partie hydrophile puisque celle-ci gouverne leurs propriétés (**Tableau I.2**). On distingue les tensioactifs ioniques (anioniques, cationiques, zwitterioniques ou amphotères) et les non ioniques [40].

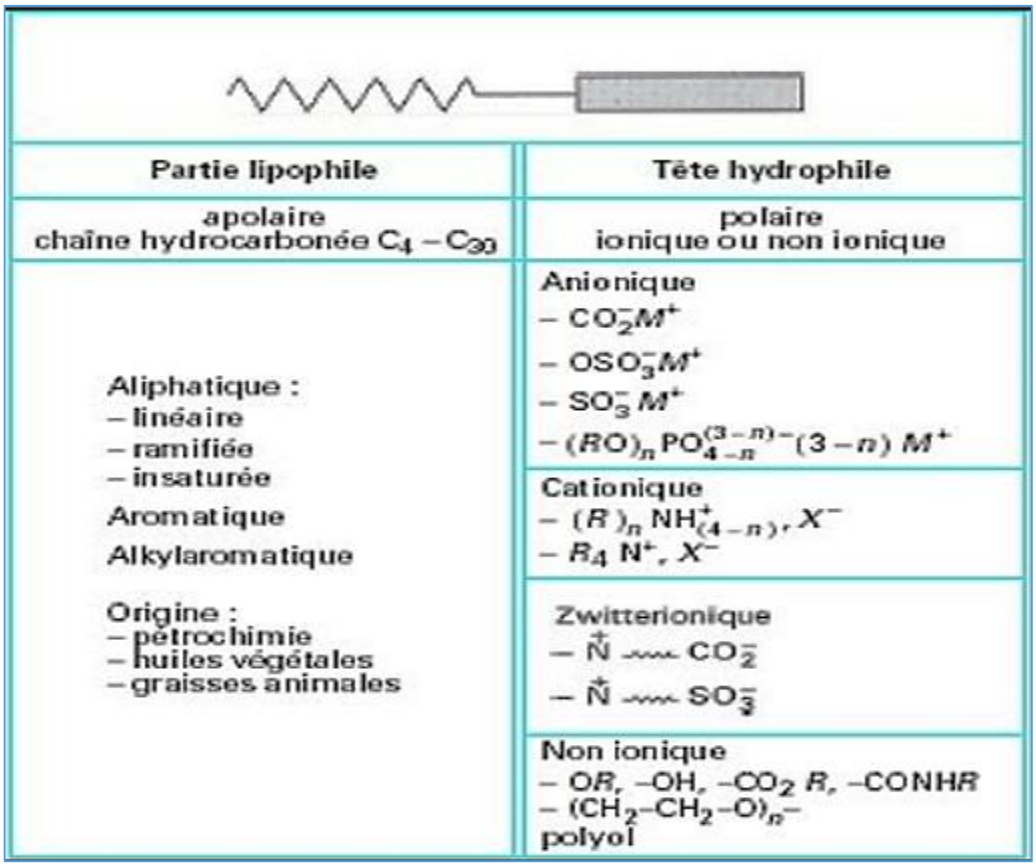
a) Tensioactifs anioniques : ce sont les tensioactifs qui ont des groupes de tête chargés négativement [41]. Ce sont les agents tensioactifs les plus utilisés industriellement [42].

b) Tensioactifs cationiques : ce sont les tensioactifs qui ont un groupement ionique chargé positivement en solution aqueuse. Ils forment des complexes insolubles dans l'eau avec les tensioactifs anioniques [43] .

c) Tensioactifs zwitterioniques : ils sont chargés à la fois positivement et négativement (habituellement dépendants du PH)

d) Tensioactifs non ioniques : dans lesquels le groupe de tête ne porte aucune charge [40].

Tableau I.2. Classement des tensioactifs [39]



I.3.2. Caractéristiques fondamentales des tensioactifs

I.3.2.1 Balance Hydrophile-Lipophile (HLB)

La notion de HLB, a été introduite par Griffin en 1949 et découle d'un souci de classement des tensioactifs, non par rapport à leur structure mais par rapport à leur utilisation. C'est la méthode la plus utilisée pour caractériser les tensioactifs et exprimer leur hydrophile ou lipophile. La méthode consiste à attribuer à chaque tensioactif une valeur numérique qui caractérise cette balance entre les propriétés hydrophiles et lipophiles. Le choix de l'échelle fut compris entre 1 et 20. Les plus lipophiles sont en bas de l'échelle et les plus hydrophiles en haut, avec un point neutre qui se situe autour de 10[42] .

I.3.2.2. Concentration Micellaire Critique (CMC)

Lorsque le tensioactif est en concentration suffisante, les molécules de tensioactif en excès s'autoassocient en solution sous forme d'agrégats appelés micelles. La concentration à partir de laquelle un tensioactif s'autoassocie sous forme de micelles en solution aqueuse est appelée concentration micellaire critique (CMC). [43] La valeur de la CMC est une caractéristique du tensioactif et dépend de la longueur de la chaine lipophile et de la nature de la tête polaire. Par exemple, les CMC des tensioactifs non ioniques sont plus bases que celles des tensioactifs ioniques de longueur de chaine comparable. Mais la CMC dépend également de l'environnement physico-chimique, à savoir la concentration en électrolytes ou la température [44].

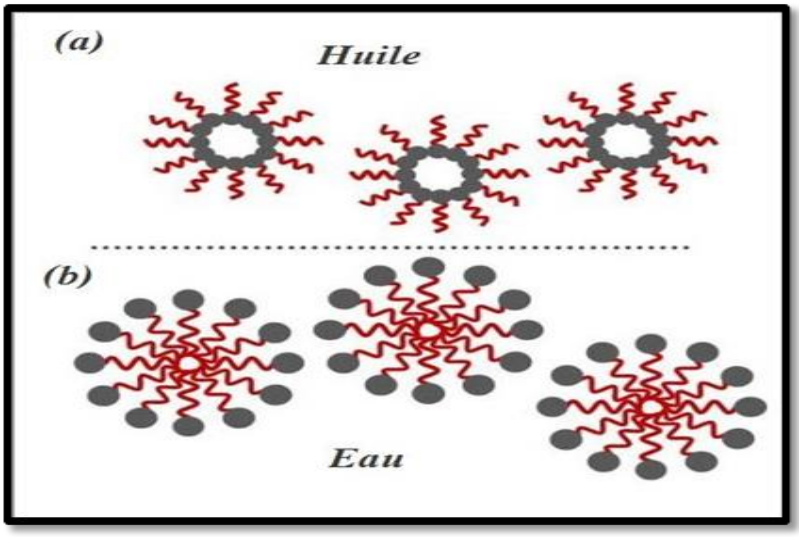


Figure I.18. Formation des micelles : **(a)** émulsion E/H, **(b)** émulsion H/E [45]

I.4. Biopolymères

I.4.1. Définition

Les Biopolymères sont des macromolécules constituées de plusieurs unités identiques appelées monomères. Le nombre moyen de ces unités dans les macromolécules est le degré de polymérisation. Si le degré de polymérisation est élevé on parle de hauts polymères, lorsqu'il est faible, le polymère est dit oligomère. Les monomères sont composés d'un petit nombre d'atomes légers, parmi lesquels, on trouve toujours le carbone et l'hydrogène, souvent l'oxygène et l'azote et parfois le chlorure et certains autres éléments.

Les biopolymères peuvent être produits par les systèmes biologiques, ou être synthétisés chimiquement à partir des produits d'origine biologique [46-47].

Selon l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UIPAC), Les biopolymères se définissent comme étant des biomacromolécules synthétisées par des organismes vivants. Et selon l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME), les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux [48].

Les biopolymères peuvent aussi être obtenus par polymérisation de monomères naturels et par la fermentation des micro-organismes [49].

I.4.2. Classification des biopolymères

On distingue généralement trois grandes familles de biopolymères (**Figure I.19**) selon leur mode d'obtention : biopolymères issus de la biomasse, les biopolymères d'origine bactérienne et les biopolymères synthétiques [50].

I.4.2.1 Biopolyméres synthétiques

Obtenus également par la voie fermentaire, on les appelle polymères synthétiques où Chimio synthétiques en raison de leur mode de fabrication. En effet, celui-ci consiste en une polycondensation (chauffage) de monomères naturels ou identiques aux naturels.

Le plus connu est le PLA (Poly Acide Lactique) provenant de la polymérisation de molécules d'acide lactique. Le monomère (exclusivement l'acide lactique) nécessaire à la synthèse du PLA est obtenu par fermentation bactérienne à partir des ressources renouvelables [50].

I.4.2.2 Biopolymères issus de la biomasse

Ils sont issus directement des ressources végétale ou animale. Cette classe comprend les polysaccharides (amidon, chitosan), les protéines (collagène, gluten) et les polynucléotides [50].

I.4.2.3 Biopolymères de synthèse bactérienne

Ces polymères sont issus de fermentation par des bactéries (biotechnologie). Il s'agit de la fabrication in situ de polymère qui s'accumule dans le cytoplasme de certaines bactéries placées en condition de fermentation. Les matières premières fermentescibles, principalement les sucres et l'amidon y sont rajoutés. On trouve par exemple les polyhydroalkanoates (PHA), le polyhydroxybutyrate (PHB), mais aussi la cellulose bactérienne ou le xanthane. [50].

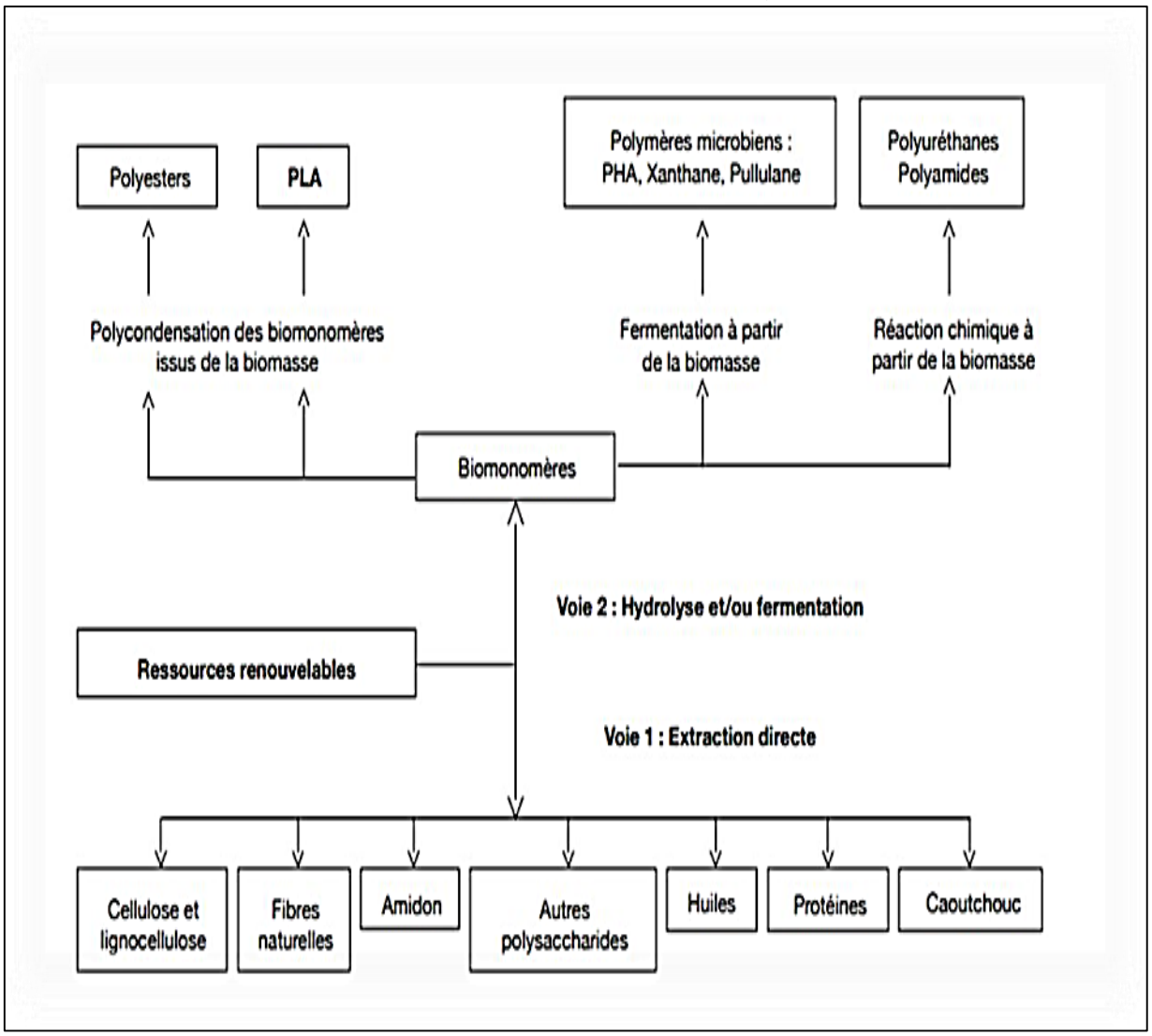


Figure I.19. Voies d'obtention des biopolymères [51].

I.4.3. Principales propriétés des biopolymères

Les biopolymères ont une variété de propriétés. On distingue notamment la biodégradabilité et la biocompatibilité :

I.4.3.1. Biodégradabilité des biopolyméres

Un matériau est dit biodégradable s'il est dégradé par des microorganismes (Bactéries, Champignons), les résultats étant la formation de l'eau et de CO2 et éventuellement d'une nouvelle biomasse non toxique pour l'homme et pour l'environnement [52].

La biodégradabilité de la plupart des biopolymères est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides [53] Le processus de biodégradation se déroule en deux phases [54] :

- La première phase est une détérioration de produit sous l'influence d'actions extérieures : mécanique comme le broyage, thermique comme la pasteurisation en compostage, chimique comme l'irradiation par UV et aussi biochimique sous l'effet des champignons et des bactéries qui peuvent fragmenter le produit (Bio fragmentation). L'avantage de cette phase est l'augmentation de la surface du matériau en contact avec les microorganismes.
- Dans la deuxième phase les microorganismes attaquent et digèrent le produit, lequel est transformé en métabolites qui sont assimilés par les microorganismes **(Figure I.20)**.

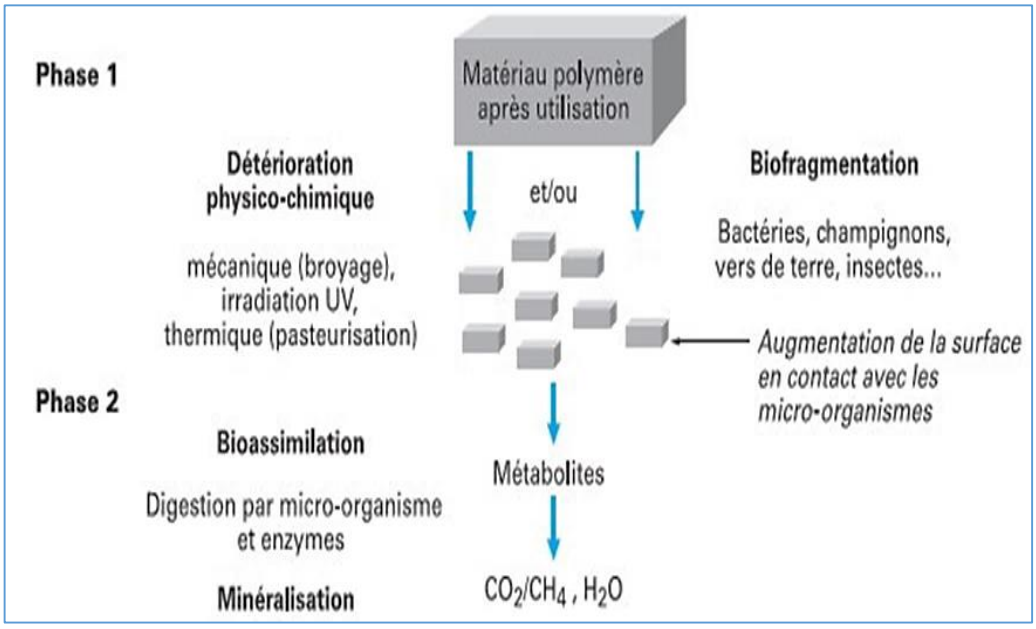


Figure I.20. Mécanisme de biodégradation des biopolymères [54]

I.4.3.2. Propriétés des biopolymères

a) Biodégradabilité : La biodégradabilité est un processus naturel de décomposition de la matière organique. Elle est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides conduisant à la formation de molécules simples et de fragments de plus petite taille [14]. Un matériau est biodégradable s'il est dégradé par des microorganismes (bactéries, champignons), le résultat étant la formation d'eau et de CO_2 et, éventuellement, d'une nouvelle biomasse dégradée non toxique pour l'homme et pour l'environnement. [55].

b) Biocompatibilité : Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. Les biopolymères par

leur origine naturelle, remplissent logiquement cette fonction et les implants médicaux en matériau inerte comme les céramiques sont de plus en plus remplacées par des polymères d'origine naturelle [56].

I.4.3.3. Perméabilité à la vapeur d'eau des biopolymères

La plupart des biopolymères comme l'amidon, la cellulose et les protéines sont hydrophiles ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues notamment à la présence de fonction polaires hydroxyle et / ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogènes, ce qui leur confère aussi une propriété antistatique [57].

1.4.3.4. Propriétés chimiques

La présence de fonctions chimiques sur les molécules leur attribue des propriétés particulières et des facilités à réagir avec d'autres molécules. Leur réactivité est due à la présence des fonctions alcool, acide, amine ou aldéhyde qui réagissent facilement grâce à leur site nucléophile et électrophile [58].

La présence de certaines instaurations et des groupements hydroxyles sur les chaînes alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation et conduit à la formation de polyuréthanes, polyamides ou polyesters [59].

1.4.3.5. Autres propriétés

Certains biopolymères ont la capacité de conférer des propriétés physico-chimiques ou mécaniques particulières, comme présenté dans le tableau ci-après :

Tableau 1.3. Propriétés particulières des biopolymères et leurs applications potentielles [59]

Biopolymères	**Propriétés particulières**	**Applications ciblées**
Polymère à base d'amidon	Antistatiques, anti condensations, toucher naturel	Emballages, sacs, films de paillage
Polymère à base de cellulose	Transparences, antistatiques	Fibres, épaississant
Polymère à base de protéine	Comestibles, perméabilité sélective aux gaz	Galénique, emballages alimentaires
Polymères à base d'huile	Siccativités	Peinture, vernis
Polymères de synthèse (PLA)	Anti condensations, brillances, antibactériens	Emballages, fibres textiles
Polyesters bactériens (PHA)	piézoélectriques, antioxydants, insolubilité dans l'eau	Médical, matériau ostéosynthétique

I.4.4. Applications des biopolymères

Les premières applications des biopolymères ont été développées dans le domaine pharmaceutique et agroalimentaire mais, à ce jour, ces polymères tendent même à remplacer des composites dans des secteurs variées. Les applications des biopolymères reposent sur leurs principales propriétés (biodégradabilité biocompatibilité…). Les trois grands domaines d'applications des biopolymères sont [60] :

- Le domaine médical et pharmaceutique
- Le domaine agroalimentaire
- Le domaine cosmétique

Les biopolymères sont à la base de plusieurs systèmes comme : [61]

- Les matrices destinées à la libération contrôlée des médicaments sous formes de comprimés, de capsules ou encore de films tels que la cellulose et ses dérivés, l'alginate et les polyaspartates.
- Les fils chirurgicaux bio résorbables : en raison de leur biocompatibilité, ils sont largement utilisés en chirurgie générale et en chirurgie tracheobronchique tel que le PHA et PGA
- Les implantes biodégradables en thérapie osseuse comme l'utilisation de PDO (Polydioxanone) lors de la réparation des ligaments
- La peau artificielle utilisée dans le traitement des grands brulés, à base de collagène de chitine et de poly-leucine.

I.5.carraghénanes

I.5.1. Historique

Dans un comté du sud de l'Irlande, appelé Carragheen, les habitants avaient pour habitude d'utiliser une mousse d'Irlande, algue qu'ils trouvaient sur les rochers des côtes, pour faire des pommades et des flans. Vers 1700, au cours de la colonisation de l'Amérique du Nord, les irlandais constatèrent que leur mousse d'Irlande poussait également sur les côtes du Massachusetts. Ils se sont par la suite rendu compte que cette algue appartenait à la famille des Rhodophycées (ou algues rouges), et était appelée Chondruscrispus.

On rencontre cette algue rouge sur toutes les côtes de l'atlantique nord surtout dans les provinces maritimes du Canada, le Maine, la Bretagne et la péninsule Ibérique.

L'intérêt économique et l'abondance de l'algue, a éveillé l'intérêt des industriels. Ainsi en 1871, le polysaccharide pur, à l'origine des vertus de la mousse d'Irlande, est extrait aux

Etats-Unis. Il est logiquement appelé carraghenane en référence à son comté d'origine. Après la seconde guerre mondiale, l'expansion de l'industrie alimentaire a engendré une utilisation accrue des carraghenane en tant que stabilisants, épaississants et gélifiants. L'importance de la demande a amené la création de fermes aquacoles destinées à la culture du Chondruscrispus. Celles-ci apportent de nombreux avantages : absence de fluctuations climatiques, une récolte facilitée des matières première [62].

I.5.2. Définition

Les carraghénanes sont des polysaccharides qui constituent les parois cellulaires de diverses algues rouges (Rhodophycées) appartenant aux familles des Gigartinaceae, Hypneaceae, Furcellariaceae et Polyideaceae [63] [64]. Ils comportent des longues chaînes galactanes, polyélectrolytes anioniques. Leur masse moléculaire peut être supérieure à 10^6 $g.mol^{-1}$[65]. Ce sont des polysaccharides très sulfatés (20-50%) et les résidus α-D galactopyranosyles peuvent être sous forme (3',6'-anhydro) [66].

I.5.3. Obtention des carraghénanes

Les carraghénanes sont essentiellement extraits d'algues rouges de l'espèce *Echauma* (**Figure I.21**). La première étape est une macération à chaud (90°C) à pH basique afin d'améliorer son rendement, de modifier la structure des chaînes précurseurs et d'améliorer les propriétés gélifiantes tout en limitant l'hydrolyse acide.

La deuxième étape de l'extraction, qui consiste à séparer les différents types de Carraghénanes entre eux, repose sur leurs différences de solubilité dans différents alcools (**Figure I.22**). Après séchage, les échantillons obtenus sont de masse moléculaire élevée (de 10^5à 10^6 Dalton), très poly dispersés et de composition variable en fonction de l'espèce et de l'âge de l'algue considérée, du lieu et de la saison de la récolte [67].



Figure I.21. Source de carraghénane (Algues rouges *Eucheuma*) [68]

Les carraghénanes peuvent être extraits des familles suivantes : *Furcellariaceae* (Furcellaria), Gigartinacées (Chondrus, Gigartina, Iridaea), Hypnéacées (Hypnéa), Phyllophoracées (Phyllophora, Gymnogongrus, Ahnfeltia) et Soléria cées (Eucheuma, Anatheca, Meristotheca). Les espèces les plus utilisées industriellement appartiennent aux familles des Soléria cées et des Gigartinacées [69].

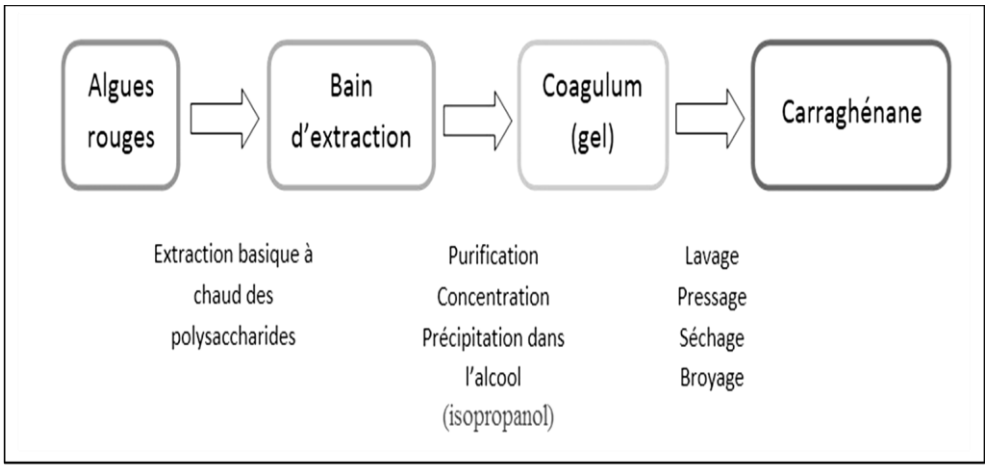


Figure I.22. Production du carraghénane [69]

I.5.4. Kappa-carraghénane

La famille Kappa (κ) contient les polymères constitués par des résidus β-D galactopyranosyles sulfatés en C_4 (**Figure I.23**). Elle regroupe tous les carraghénanes qui portent une sulfatation en position 4 de leur unité G. Outre le κ -carraghénane (kappa, G4S-DA), elle contient le ι-carraghénane (iota, G4S- DA2S), ainsi que leurs précurseurs biosynthétiques respectifs : le μ-carraghénanes (mu, G4S- D6S) et le ν-carraghénane (nu,

G4S-D2S, 6S) [70]. Le μ-carraghénane et le ν-carraghénane peuvent être convertis respectivement en κ -carraghénanes et en ι-carraghénanes lors de la biosynthèse par l'action d'enzymes, les galactose-6-sulfurylases. Cette conversion est également réalisée par un traitement alcalin à chaud au cours du procédé industriel [71].

Ces carraghénanes se retrouvent chez de nombreuses espèces d'algues rouges, soit sous la forme de quasi homopolymères, soit sous la forme d'hétéros polymères constitués d'au moins deux des quatre motifs présentés.

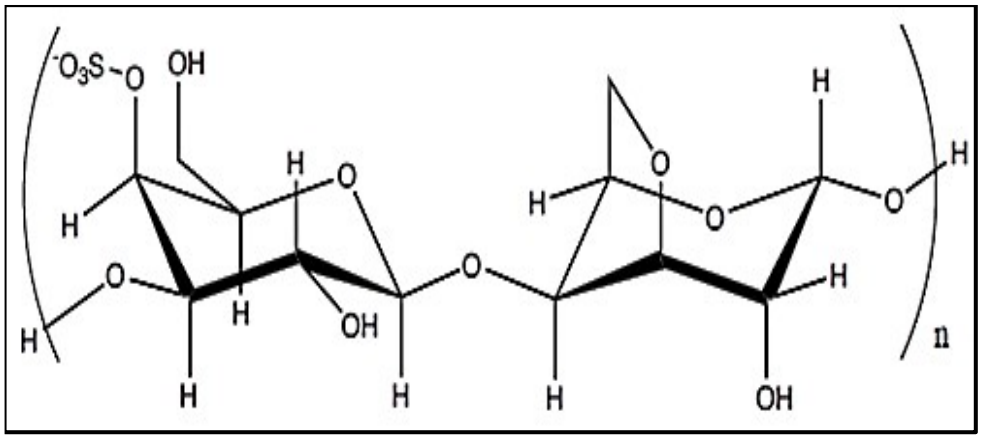


Figure I.23. Structure de kappa carraghénane [72]

I.5.5. Propriétés du κ-carraghénane

a. Solubilité : Toutes les fractions de carraghénane sont peu solubles dans l'eau, étant insolubles dans les solvants organiques, huiles ou graisses. Cependant, leur solubilité dans l'eau dépend essentiellement des groupements sulfate (très hydrophile) et sur leurs cations associés [73]. Le kappa carraghénane est moins hydrophile, sa solubilisation totale ne pourra être assurée que par élévation de la température.Cette température de solubilisation dépendra en outre du cation associé, la forme sodique étant plus facilement soluble que la forme potassique [74].

b. Viscosité : La viscosité des carraghénanes dépend de la concentration, de la température, de la présence d'autres solutés, le type de carraghénane et son poids moléculaire. Cette viscosité augmente de façon exponentielle avec l'augmentation de leur concentration. Cependant, l'augmentation de la viscosité peut se produire par deux mécanismes différents : (i) interaction entre les chaînes linéaires, avec une diminution de l'espace libre ou une augmentation du volume exclu ; (ii) la formation d'un gel physique

causé par la réticulation entre les chaînes [73]. La viscosité des carraghénanes en solution diminue de façon réversible avec l'augmentation de la température [75].

c. Gélification : La gélification du kappa carraghénane, se passe en deux étapes distinctes et successives, formation d'une bobine hélicoïdale de transition lors du refroidissement ultérieur et l'agrégation des cations entre les hélices. La présence de cations appropriés, typiquement de potassium ou de calcium, est une exigence absolue pour la procéder de gélification. À la fois pour iota et kappa carraghénane, les ions de métaux alcalins ($Li^+, Na^+, K^+, Rb^+, Cs^+$) sont tous capable d'induire la gélification, mais K^+ et Rb^+sont considérablement plus efficaces que d'autres ions dans la gélification induisant à des concentrations beaucoup plus faibles à la fois le cation et le carraghénane [76-77].

I.5.6. Modification chimique du κ-carraghénane

Plusieurs modifications chimiques ont été proposées pour moduler les propriétés physicochimiques du carraghénane (**Figure I.24**). Les fonctions hydroxyle primaires des unités G et secondaire des unités DA peuvent être modifiées par polymérisation, phosphorylation, acétylation, sulfatation, acylation pour des applications dans le domaine de la pharmacologie, et de la biotechnologie. En 2005, H, Yuan, Zhang et al. [78] ont modifié le κ-carraghénane par des réactions d'acétylation (AC2O/Pyridine/DMF), sulfatation (HClSO3/DMF), et de phosphorylation (POCl3/formamide/ DMF) pour améliorer le pouvoir antioxydant du carraghénane. Ces réactions d'addition sont peu sélectives bien que dans le cas de la sulfatation la réaction se réalise d'abord sur l'hydroxyle primaire puis secondaire de l'unité G4S et dans un troisième temps sur l'hydroxyle secondaire de l'unité (DA).

En 2006, K. Prasad, R. Meena, et A. K. Siddhârta [79] ont greffé du poly méthacrylate de méthyle sur du κ-carraghénane par irradiation microonde en présence de persulfate de potassium. La fonction acide carboxylique aux deux extrémités du polyméthacrylate de méthyle se condense sur l'alcool primaire de l'unité D4S du disaccharide. Ces copolymères permettent de former des hydrogels biodégradables ayant un potentiel intéressant pour la vectorisation de principes actifs [80] et pour l'immobilisation des enzymes [81].

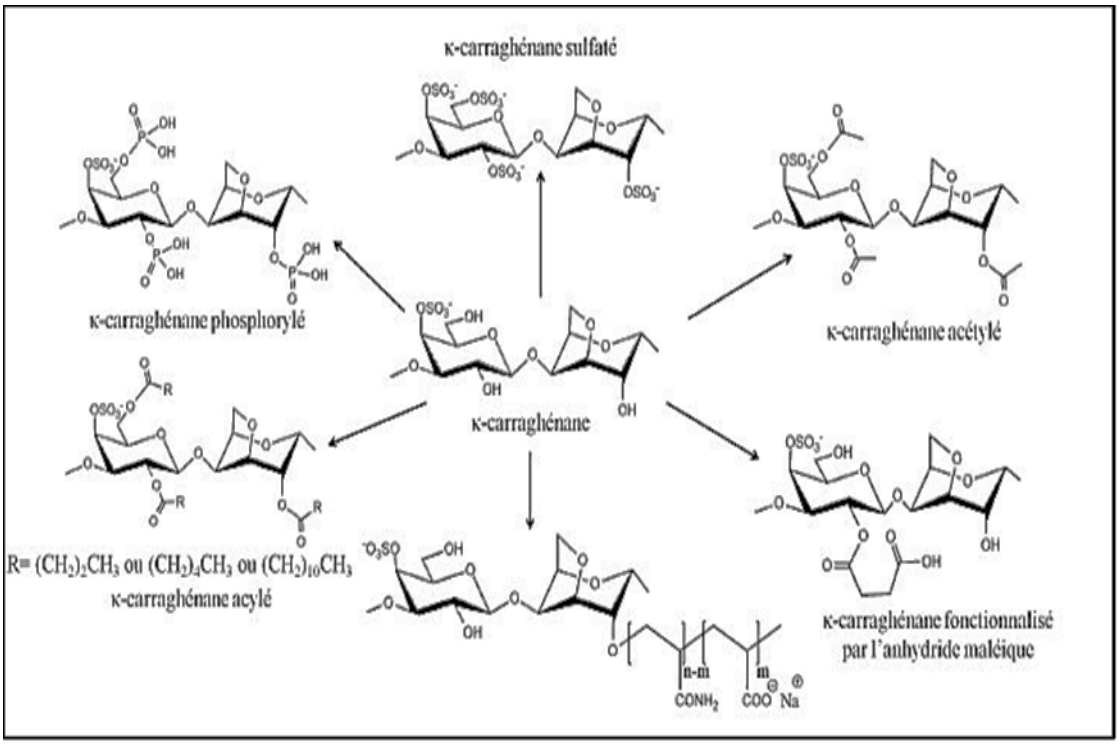


Figure 1.24. Modifications chimiques du κ-carraghénane [62].

I.5.7. Domaine d'utilisation du kappa carraghénane

Les carraghénanes sont connus sous le code E407 en industrie. Les utilisations n'ont cessé de s'accroître et ses principales applications sont dans l'industrie agroalimentaire, en cosmétologie et en pharmacie [82] [83].

- **Utilisation dans l'industrie agroalimentaire :** Les applications des carraghénanes dans l'industrie laitière sont très vastes : crèmes, glaces, gâteaux, flans… Les carraghénanes forment des gels avec le lait après chauffage et refroidissement. Cette gélification s'explique par la création d'une liaison carraghénane-caséine (protéine majoritaire du lait) renforcée par la présence du calcium. On obtient donc un complexe carraghénane-calcium-caséine qui a lieu quel que soit le pH. Les carraghénanes sont aussi employés pour la production de « bâtons » de glace, comme agent de couverture ou encore dans la préparation de boissons en poudre qu'il faut ensuite hydrater. Dans les jus de fruits, ils permettent de stabiliser la pulpe.

- **Utilisation en pharmacie et en cosmétologie :**

  - Les carraghénanes se combinent aux protéines par la formation d'une liaison entre les ions OSO_3^{2-}du polymère et les groupes NH^{3+}de la protéine mais le pH doit être en dessous du pH isoélectrique de cette protéine. Les variations de pH permettent la formation ou la rupture du complexe carraghénane-protéine. C'est ce mécanisme qui explique le

fonctionnement du traitement pour les ulcères gastriques. Ces derniers sont difficiles à cicatriser, à cause de l'absence de gaine mucilagineuse qui protège contre l'acidité gastrique (pH de 1 à 2) et des enzymes digestives dont la pepsine. De ce fait, la blessure ne cicatrise pas mais elle s'étend. L'absorption du carraghénane de sodium entraine : (i) la formation du complexe carraghénane-pepsine, ce qui neutralise les effets de l'enzyme ; (ii) une diminution de l'acidité gastrique par le sodium ; (iii) le carraghénane de sodium crée un pansement sur la blessure.

- Les carraghénanes jouent un rôle d'agent texturant en conférant au dentifrice une stabilité pendant le stockage. De plus, il évite la synérèse, notamment sous les climats chauds.
- Concernant les gels désodorisants, la méthode consiste à gélifier une solution aqueuse de forte teneur en parfum à l'aide de kappa carraghénane de potassium. Ce gel, de par sa propriété de synérèse, libère progressivement l'eau qu'elle contient, vaporisant dans l'atmosphère le parfum.
- Les carraghénanes sont habituellement utilisés comme agents pour induire des inflammations expérimentales et des douleurs inflammatoires. Ils ont aussi montré plusieurs propriétés pharmaceutiques potentielles incluant des activités anti-tumorales, immun-modulatrices, antihyperlipidemiantes et anticoagulantes.
- Les carraghénanes apportent une douceur et une finesse aux crèmes de beauté.

I.6.Conclusion

Au terme de cette étude bibliographique, il est possible que l'on puisse retenir les principes de la mise au point, la formulation et la caractérisation des émulsions, comme systèmes dispersées pharmaceutiques. La stabilisation de ses systèmes thermodynamiquement instable est un domaine en évolution permanente, essayant toujours de trouver de nouveaux excipients dotés de propriétés stabilisantes sans effets indésirables sur l'organisme et l'environnement. L'utilisation de biopolymères pour améliorer la stabilité des émulsions, telles que les polysaccharides naturels et/ou modifiés aux propriétés émulsifiantes naturelles afin d'éviter les tensioactifs synthétiques est l'un des objectifs de ce présent travail expérimental.

Chapitre II
Matériels et Méthodes

II.1. Introduction

Ce chapitre est consacré à la présentation de l'ensemble des produits et matériel utilisés lors de la mise en œuvre de la partie expérimentale. Ainsi, une description des modes opératoires appliqués à la formulation et la caractérisation des crèmes étudiées a été réalisée.

L'objectif de cette étude a été de formuler et de caractériser des émulsions simples de type H/E chargé en acide fusidique comme PA et stabilisées par le biopolymére Kappa carraghénane (KC) et ses dérives KCD1 et KCD2. L'effet des biopolyméres sur la formulation et la stabilité des émulsions obtenues sera étudié et comparé à la formule de référence ACIFUDAL®.

II.2. Matériels et Méthodes

II.2.1. Matériels

Le tableau (II.1) ci–dessous, regroupe les différents appareils utilisés dans la partie pratique.

Tableau II.1. Différents appareils utilisés

Appareillage	Marque
Balance analytique	Mettler Toledo MS2204S
Agitateur magnétique	(Kmo2 electronic)
Microscope optique	Micros MCX 100 (Autriche)
PH-mètre	J.P Selecta PH-2006 (Espagne)
Centrifugeuse	Hettich Zentrifugen.
Viscosimètre	HAAKE, Visco-Tester VT5
Conductimètre	J.P Selecta (Espagne)
Homogénéiseur Ultra-Turrax	KA T25 (Allemagne)
Spectrophotomètre FTIR	Bruker Tensor II (Etats-unis)
Thermomètre	ASTM2C/IP (France)
agitateur de type vortex	Agitador XH-B

II.2.2 Matières premières utilisées

Le tableau (II.2.) ci-dessous présente les différentes matières premières utilisées.

Tableau II.2. Liste des matières premières utilisées.

Produits	Rôles
Vaseline blanche	Phase huileuse
Huile de vaseline	Phase huileuse
Alcool stéarylique	Co-tension actif
Acide fusidique	Principe actif
Propylène glycol	Emollients
Propylène hydroxy benzoate (PHBP)	Conservateur
Méthyle para hydroxy benzoate (PHBM)	Conservateur
Polysorbate 60	Tensioactif
Kappa carraghénane (KC)	Tension actif
Dérivé Kappa carraghénane (KCD1)	Tension actif
Dérivé Kappa carraghénane (KCD2)	Tension actif
Eau purifiée	Solvant

L'ensemble des milieux de culture utilisés sont regroupés dans le tableau II.3

Tableau II.3. Désignation et origine des milieux de culture utilisés.

Milieux de culture	Fournisseurs/ Pays
Cétrimide agar base (CAB)	PanReac Applichem (France)
Peptones de caséine et de soja (TSA)	PanReac Applichem (France)
Sabouraud dextrose (SAB)	Condalab (Espagne)
Mannitlo-sel ou gélose chapman (CHAP)	Condalab (Espagne)

II.3. Pré formulation

La pré-formulation est une étape essentielle dans développement de produits pharmaceutiques et cosmétiques. Elle consiste à optimiser les propriétés physiques et chimiques des matières premières (principes actifs ou biopolymères) afin de les rendre plus stables et efficaces dans une formulation finale.

Pour atteindre cet objectif, la pré-formulation utilise des méthodes d'étude de différents facteurs pour comprendre et définir leur impact, dans le but d'effectuer le meilleur choix lors de la formulation.

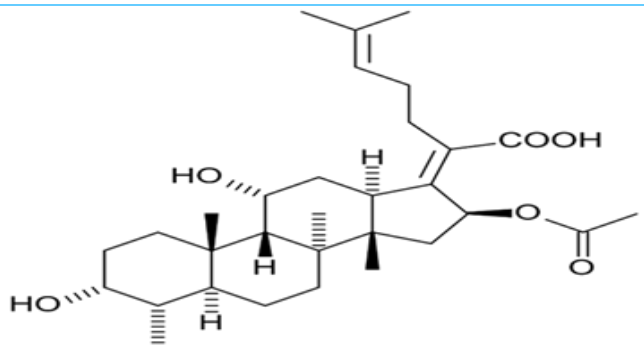
A cet effet, la pré-formulation est une étape cruciale pour garantir la qualité et l'efficacité des crèmes générique à base d'acide fusidique à formuler lors de notre étude. Elle permet de mieux comprendre les propriétés des matières premières et de les optimiser pour une utilisation efficace dans la formulation.

II.3.1. Principe actif : Acide fusidique

L'acide fusidique est le produit actif contenu dans le médicament, qui est un antibiotique de la famille des fusidanines. Il est souvent utilisé pour traiter certaines infections causées par des bactéries sensibles à l'acide fusidique. Il est également indiqué pour le traitement de certaines infections cutanées staphylococciques et streptococciques et pour la désinfection des dépôts microbiens.
Les caractéristiques physico-chimiques de l'Acide fusidique sont données dans le tableau II.4.

Tableau II.4. Propriétés physico-chimiques de l'Acide fusidique.

Acide fusidique	
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche
Propriétés chimiques	**Formule chimique brute :** $C_{31}H_{48}O_6$
	PKA : 5.35
	Masse molaire : 516.709g/mol

Formule chimique développée	
Propriétés physiques	**Solubilité :** peu soluble dans l'eau et soluble dans les alcools, l'acétone et le chloroforme
	Température de fusion : 192.5°C

II .3.2. Excipients

Les propriétés physico-chimiques des différents excipients utilisés sont données ci-dessous :

- **Vaseline**

Tableau II.5. Contrôle de vaseline

Tests	Contrôle effectué
Aspect	Masse onctueuse de couleur blanche ou légèrement jaunâtre en couche mince transparente après avoir été refroidie à0C°
Solubilité	Insoluble dans l'eau distillée, peu soluble dans l'alcool froid ou chaud, facilement soluble dans le benzène, dans le carbone désulfite et dans le chloroforme, Soluble dans l'éther, dans l'hexane et dans les huiles fixes et volatiles.
Acidité	après addition de phénolphtaléine, dans le test d'alcalinité ne donnant pas de coloration rose, ajouter à la solution 0,1 ml de méthyle orange TS.
Résidu à la calcination	Calcination 2 g de vaseline dans un creuset en platine sur une flamme de bec bunsen, la vaseline se volatilise sans émettre une odeur acre et la calcination ne donne pas plus de 0.05% de résidu.

Alcalinité	Peser 35g de vaseline dans un bêcher puis ajouter 100 ml d'eau bouillante. Couvrir le mélange et placer le sur un agitateur magnétique à plaque chauffante en maintenant la température d'ébullition de l'eau. Après 5 mn, laisser les phases sépare. Verser l'eau séparée dans une bêche laver la vaseline avec 2 portions de 50 ml d'eau bouillante et ajouter les lavages dans le bêcher. Puis ajouter une goutte de phénolphtaléines et chauffer. La solution n'est colorée en rose.
Couleur	Fondre 10 de vaseline dans un bain-marie et verser 5ml de liquide dans un tube à essai de dimension 16×150 mm : le liquide chaud et fondu n'est pas plus sombre que la solution préparée en mélangeant 1,6 ml de chlorure ferrique CS et 3,4 ml d'eau dans un tube similaire. La comparaison des deux tubes est faire à la lumière réfléchie sur fond blanc.
Point de fusion	38 °C à 60 °C
Indice de consistance	Avec un pénétromètre/ entre (100 à 300)

- **Huile de vaseline**

Tableau II.6. Fiche de spécifications de l'huile de vaseline.

Tests	Spécifications
Aspect	Liquide huileux, incolore, transparent, ne présentant pas de fluorescence à la lumière du jour
Solubilité	Pratiquement insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol (96%) miscible dans les hydrocarbures
Viscosité	110 à 230 Pa. S
Acidité / alcalinité	Le virage au rose de l'indicateur ne nécessite pas plus de 0.1ml d'hydroxyde de sodium 0.1 N
Densité relative	0.827 à 0.890

- **Alcool stéarylique**

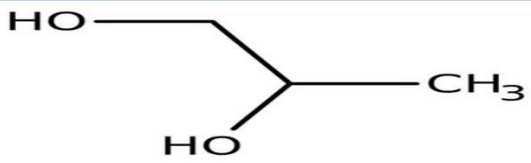
Tableau II.7. Fiche de spécifications de l'alcool stéarylique.

Tests	Spécifications
Formule brute	$C_{18}H_{38}O$
La masse molaire	270.49 g/mol
Masse volumique	812 kg/cm^3
Température de fusion	528°C
Solubilité	Soluble dans l'éthanol, l'acétone, l'éther di éthylique, le chloroforme
Formule chimique développée	

- **Propylène glycol**

Tableau II.8. Fiche de spécifications du propylène glycol.

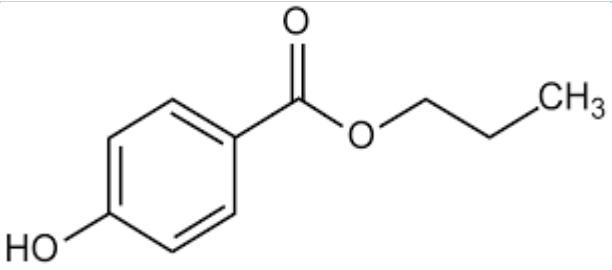
Tests	Spécifications
Aspect	Liquide visqueux, limpide, incolore et hygroscopique
Solubilité	Miscible avec l'eau, avec l'acétone et avec le chloroforme soluble dans l'éther
Identification	Spectre échantillon correspondant à celui de l'étalon de référence
Densité relative	1.035 à 1.037
Acidité	V NaOH 0.1N ≤ 0.2ml
Teneur en eau (KF)	≤0.2%
Résidu à la calcination	≤ 3.5mg

Sulfates	≤ 0.007%
Métaux lourds	≤ 0.006%
Dosage (CPG)	99.5% en propylène glycol
Impureté organique **Volatiles** **Chloroforme** **1-4dioxaneChlorure de méthylène** **trichloréthylènes**	≤60ppm ≤0.006% 380ppm ≤0.006% 600ppm ≤0.006% 80ppm
Formule chimique développée	

- **Propyle parabène (propylène hydroxy benzoate)**

Tableau II.9. Fiche de spécifications du Propyle parabène.

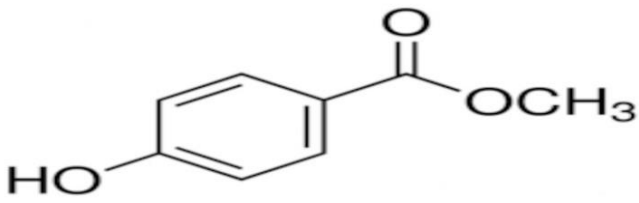
Tests	Spécifications
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche
Solubilité	Très peu soluble dans l'eau facilement soluble dans l'éthanol (96%) et dans le méthanol
Identification point de fusion infrarouge	96°C à99°C Spectre échantillon correspondant à celui de l'étalon de référence
Aspect de de la solution	Limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JB6
Acidité	≤0.1ml NaOH 0.1M
Substances apparentées (HPLC) **Impureté A** **Imputée non spécifiées**	≤0.5% ≤0.5%

Total	≤1.0%
Dosage (HPLC)	98% à 102.0% en para hydroxy benzoate de Propyle
Cendres sulfuriques	≤0.1%
Formule chimique développée	

- **Méthyle parabène (méthyle para hydroxy benzoate)**

Tableau II.10. Fiche de spécifications du méthyle parabène.

Tests	Spécifications
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement Blanche
Solubilité	Très peu soluble dans l'eau facilement soluble dans l'éthanol (96%) et dans le méthanol
Identification **Point de fusion** **Infrarouge**	125°C à128°C Spectre échantillon correspondant à celui de l'étalon de référence
Aspect de la solution	Limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JB6
Acidité	≤0.1ml NaOH 0.1M
Substances apparentées(HPLC) **Impureté A** **Impureté non spécifiées** **Total**	 ≤0.5% ≤0.5% ≤1.0%
Dosage (HPLC)	98% à 102.0%en para hydroxy benzoate de Méthyle

Formule chimique développée	

- **L'eau distillée**

Tableau II.11. Fiche de spécifications de l'eau distillée.

Tests	Spécifications
Formule brute	H_2O
Poids moléculaire	18.02g/mol
Aspect	Liquide incolore
Points de congélation	0°C
Points d'ébullition	100°C
Viscosité dynamique	0.89mPa s à 25°C
Pression critique	22.1 MPa (218 atm)
Température critique	374.2°C
Solubilité	Miscible avec la plupart des solvants polaire

II.3.3. Les biopolyméres

Les biopolymères utilisés sont le kappa carraghénane (KC) et ses dérivés (KCD1 et KCD2). Ces derniers ont été caractérisés avant leurs utilisations comme excipients de formulation des crèmes génériques à base d'acide fusidique.

- **Kappa carraghénane : Biopolymères**

Les caractéristiques du polysaccharide utilisé dans cette étude sont résumées dans le tableau II.11.

Tableau II.11. Propriétés physico-chimiques de kappa carraghénane. [85]

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

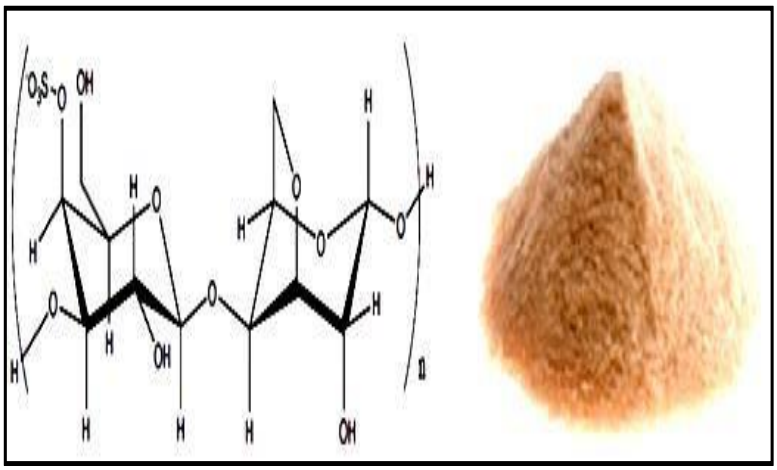


Figure II.1. Aspect et structure du kappa carraghénane (KC).

II.3.3. Analyse FTIR

Une étude des interactions entre le principe actif et les excipients sera réalisée afin de confirmer l'inertie des excipients par rapport au principe actif acide fusidique par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique courante pour étudier les interactions entre le principe actif et les excipients dans les formulations pharmaceutiques. Cette méthode mesure les vibrations moléculaires de l'échantillon en réponse à l'absorption d'un rayonnement infrarouge.

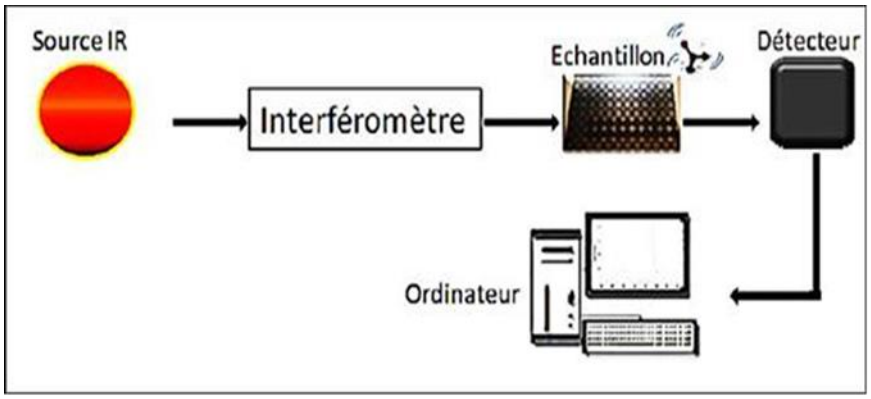


Figure II.2. Schéma représentant les principaux éléments d'un spectromètre IR.

- **Mode opératoire**

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

II.4. Formulation

La formulation d'une crème pharmaceutique est un processus complexe qui implique plusieurs étapes clés, y compris la pré-formulation, la formulation, la production, les tests de stabilité et la réglementation.

Tableau II.12. Tableau de formulation des émulsions à base de KC et ses dérives.

Composition (gr)	F1	F2	F3	F4
Acide fusidique	2	2	2	2
Vaseline	10	10	10	10
Huile de vaseline	10	10	10	10
Alcool stéarylique	14	14	14	14
Propylène glycol	20	20	20	20
PHBM	0.025	0.025	0.025	0.025
PHBP	0.015	0.015	0.015	0.015
Polysorbate 60	5	-	-	-
KC	-	1	-	-
KCD1	-	-	1	-
KCD2	-	-	-	1
Eau purifiée	QSP	QSP	QSP	QSP

II.4.1. Formulation des émulsions simple H/E

Pour la fabrication de 100g d'émulsion (Tableau II.12), on procède comme suivant :

A) Préparation de phase huileuse :

- 10 gr de vaseline blanche et 10gr d'huile de vaseline dans un bécher puis chauffés jusqu'à ce qu'ils soient fondus et homogènes pendant 15min (L'agitation été réalisée à vitesse moyenne) à une température de 60°C.
- 14gr d'alcool stéarylique a été ajouté jusqu'à dissolution complète de la solution.

B) Préparation de phase aqueuse :

- 20 g de propylène glycol avec 2g d'acide fusidique ont été chauffés dans un autre récipient sous agitation à 90 °C pendant 5 min
- les deux conservateurs Propyle parabène et Méthyle parabène ont été ajoutées.
- 5gr de polysorbate 60 et 1gr pour les polymères KC et ses dérives KCD1 et KCD2 ont dissout jusqu'à la dissolution complète du mélange
- l'eau purifiée a été ajouté au mélange sous agitation pendant 15 minutes à la température de 60°C

C) Emulsification :

La phase huileuse est lentement ajoutée à la phase aqueuse sous agitation vigoureuse à l'aide d'un homogénéisateur ou d'un mélangeur à haute vitesse. La vitesse et la durée d'agitation peuvent varier en fonction des excipients et de la viscosité souhaitée pour l'émulsion.

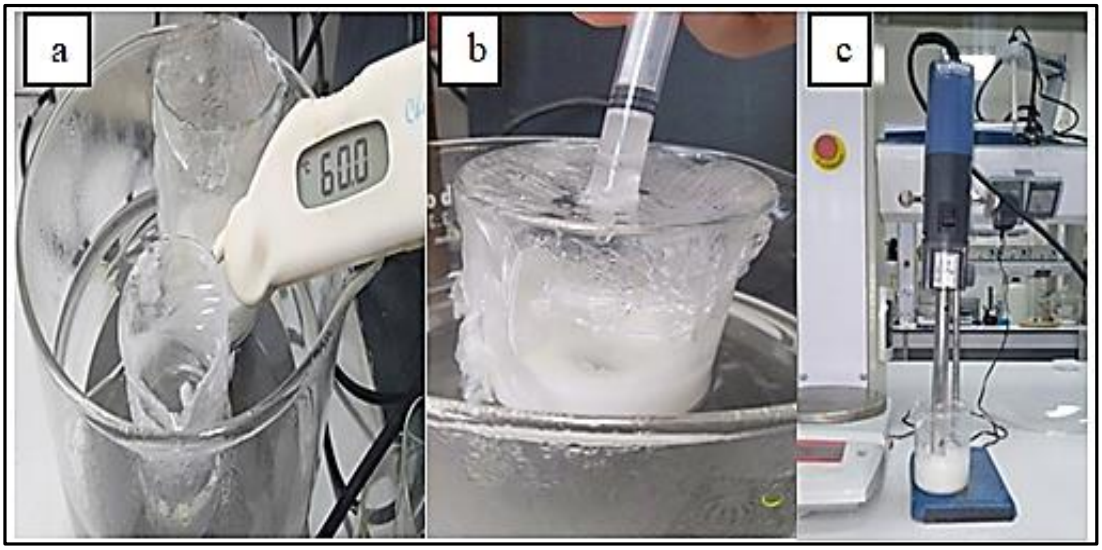


Figure II.2.Méthode de formulation des émulsions H/E : **(a)** Préparation des phases, **(b)** Incorporation de la phase huileuse dans la phase aqueuse, **(c)** Homogénéisation.

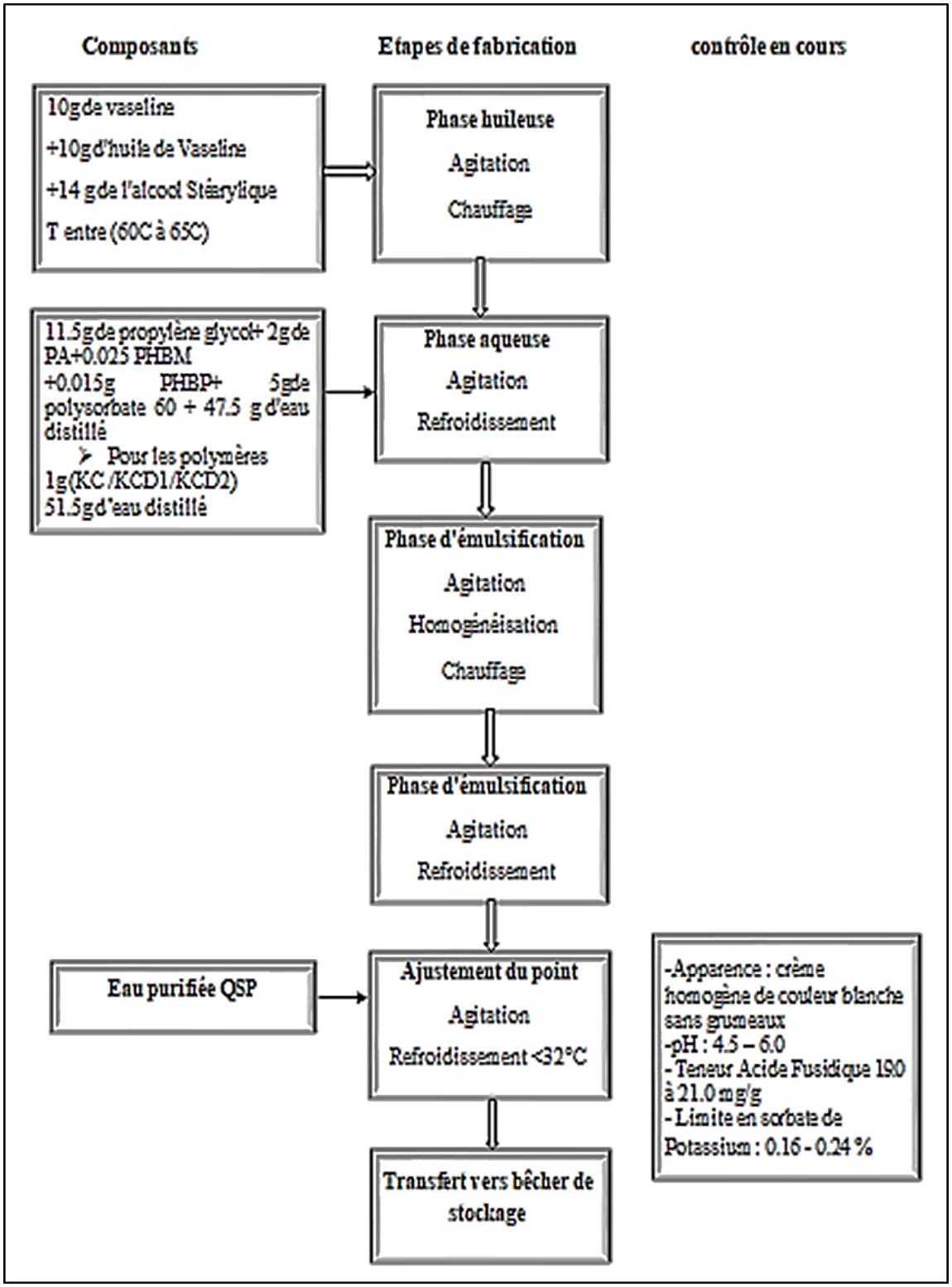


Figure II.3. Les étapes de fabrication et leurs contrôles de la crème Acifudal 2%.

II.5. Caractérisation physico-chimique des émulsions

II.5.1. Aspect macroscopique des émulsions

Les émulsions sont des systèmes colloïdaux constitués de deux liquides immiscibles, l'un dispersé dans l'autre. Selon la nature des deux liquides, les émulsions peuvent être classées comme des émulsions huile dans l'eau (H/E) ou des émulsions eau dans l'huile (E/H).

L'aspect macroscopique des émulsions peut être évalué visuellement. Les émulsions H/E ont une apparence laiteuse, tandis que les émulsions E/H ont une apparence plus grasse. La taille des gouttelettes de l'émulsion et leur distribution peuvent également affecter l'apparence macroscopique de l'émulsion. Une émulsion bien formulée doit avoir une apparence homogène et stable, sans séparation de phase ou sédimentation.

II.5.2. Aspect microscopique

L'examen microscopique est le premier test effectué pour identifier les systèmes obtenus. Il constitue un excellent moyen pour suivre la stabilité de ces systèmes lors du vieillissement. Le microscope optique est une méthode d'analyse usuelle. Cette méthode permet d'avoir une idée sur la taille des globules internes souvent de l'ordre du micromètre [86].

II.5.3. Mesure du pH

La mesure du pH est nécessaire car elle peut affecter la stabilité physique des principes actifs, ou modifier les propriétés rhéologiques, ou encore provoquer une incompatibilité entre les excipients et les substances pharmaceutiques.

Pour évaluer le pH des émulsions formulées, le mode opératoire suivant a été suivi :

- Avant de mesurer le pH, il est important de s'assurer que l'émulsion est homogène pour obtenir une mesure précise.
- Calibration de l'électrode de pH : Avant de mesurer le pH de l'échantillon, calibrez l'électrode de pH en utilisant des solutions tampons de pH connu (par exemple, pH 4 et pH 7).
- Agitez bien l'émulsion avant de prélever un échantillon de 1g. Dissoudre 1g de la crème dans 100 ml d'eau distillé et agiter puis mesurer le pH à l'aide d'un pH-mètre.
- Mesure du pH : Après avoir calibré l'électrode de pH, plongez l'électrode dans l'échantillon et attendez que le pH se stabilise. Notez la lecture du pH affichée sur l'écran de l'appareil de mesure.

II.5.4. Détermination de conductivité

La conductivité d'une solution exprime la capacité des ions à transporter le courant électrique. Ce passage du courant électrique s'effectue par la migration des ions dans un champ électrique produit par un courant alternatif [87].

Pour déterminer la conductivité d'une émulsion huile dans l'eau H/E, les étapes suivantes ont été suivies :

- Rincez la sonde du conductimètre avec de l'eau distillée.
- Plonger la sonde dans la solution à tester et effectuer la lecture dans les mêmes conditions que la solution tampon.
- Lire la valeur de conductivité affichée sur l'écran du conductimètre.
- Rincer la sonde et la plonger dans la solution et répéter les mêmes étapes pour les autres concentrations

II.5.5. Test d'étalement

Le test d'étalement est une méthode couramment utilisée pour évaluer la capacité d'une émulsion à se propager sur une surface solide. En pharmacie, ce test est souvent utilisé pour évaluer la stabilité des émulsions, car une émulsion qui se sépare en phases distinctes ou qui ne s'étale pas uniformément peut indiquer un problème de stabilité.

Une prise d'essai de l'émulsion a été placée au centre d'une plaque en verre sur laquelle une seconde plaque en verre a été placée, sans glissement des plaques. Après 1 min, le poids a été retiré et le diamètre de l'échantillon (d) a été mesuré [88]. Les résultats sont exprimés en termes de surface d'étalement selon l'équation (II.1) [88].

$$S = d \times \frac{\pi}{4} \qquad \textbf{(II.1)}$$

S : est la surface d'étalement (cm^2) résultant de la masse appliquée.
d : est le diamètre moyen (cm) atteint par l'échantillon.

II.5.6. Test de centrifugation

La centrifugation est basée sur le principe de l'utilisation de la force centrifuge qui permet de séparer des constituants de taille et de masse très variables contenus dans un liquide, depuis des molécules jusqu'à des cellules entières [89]. Un volume d'environ 5 ml de chaque émulsion est introduit dans un tube à centrifuger, équilibrer les pots à centrifuger 2 à 2 centrifuger pendant 5 minutes à une vitesse de 4000tr/mn.

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

- Crémage = remontée des globules de la phase dispersée vers la surface : Phénomène réversible.
- Sédimentation = précipitation des globules vers le fond du tube : Phénomène Réversible.
- Séparation de phases (stade plus avancé) : Phénomène réversible
- Coalescence = fusion des globules = rupture de l'émulsion : Phénomène irréversible

La réversibilité des phénomènes observés est appréciée en retournant brutalement L'émulsion 3 fois. Le phénomène est considéré comme réversible si l'émulsion reprend alors un aspect uniforme. [87]

II.5.7. Indice de crémage

Pour déterminer l'indice de crémage (H), un test de stabilité accéléré en utilisant la méthode de centrifugation a été effectuée [87]. Dix millilitres de chaque émulsion préparée ont été centrifugé (Hettich EBA 20) à 2000, 4000 et 6000 tr / min pendant 10 min. Ensuite, l'indice de crémage (H) a été calculé selon l'équation (II.2):

$$\mathbf{H(\%)=\frac{HS}{He}\times 100} \qquad \textbf{(II.2)}$$

Avec Hs et He correspondant à la hauteur du sérum transparent formé au fond du tube et la hauteur totale de l'émulsion, respectivement

II.5.8. Mesure de viscosité

La viscosité apparente des émulsions préparées a été mesurée en fonction de la vitesse de rotation à différentes vitesses de rotation (5,10, 12, 20, 30, 50, 60, 100 et 200 tr/mn) à l'aide d'un viscosimètre à mobile tournant (BROOKFIELD), en utilisant le mobile SP.5.Ce test mesure de la résistance d'un fluide à l'écoulement [90].

II.5.9. Dosage du principe actif par HPLC

- **Condition opératoire**
- **Limites : 1,8 à 2,2%**

Colonne lichrospher 100 C18 :4,0mm×125mm.5µm

Débit : 2,5ml/min

Longueur d'onde : λ=235

Volume d'injection : 20µl

Température de la colonne : 25°C

- **Phase mobile :** méthanol /acide ortho phosphorique à 0.05M/ : acétonitrile (10 :40 :50), mélange bien et filtrer à travers une membrane 0,45µm et dégazer Solvant de dilution : acétonurie : eau : méthanol (60 :30 :10)
- **Solution standard :** dans une fiole jaugée de 50 ml peser exactement environ 30 mg d'acide fusidique standard Dissoudre et compléter au volume avec le solvant de dilution, homogénéisé
- **Solution d'échantillon (crème) :** dans une fiole jaugée de 50ml disperser une quantité de l'équivalent de 15mg d'acide fusidique anhydre, ajouter 40ml de solvant de dilution agitez énergiquement et continuellement jusqu'à suspension et compléter avec le même solvant

Filtrer la suspension résultats à travers une membrane. Eliminer les 5 premiers millilitres de filtrat. Effectuer le test sur la solution claire de nylon à 0,45µm [91].

Calculer le % d'acide fusidique dans la crème en utilisant la formule suivante :

$$\textbf{Titre\%}=\left(\frac{air_{éch}}{air_{std}}\times\frac{p_{std}}{p_{éch}}\right)\times\text{puissance (std)} \qquad \text{(II .3)}$$

T(%) : titre de l'acide fusidique dans l'eau

S_e: Surface de la solution échantillon

S_{st}: Surface de la solution standard

Puissances : puissance standard de référence en %

C_{st}: Concentration de standard de référence en mg/ml

C_e: Concentration de la solution échantillon en mg/ml

II.5.10. Control de pureté microbiologique

a. Préparation de l'échantillon : Une prise d'essai de 10 g de l'émulsion a été désinfectée avec l'éthanol, et exposée à la lumière UV sous un hôte à flux laminaire pendant 20 min. Puis, 10 g de l'émulsion a été diluée dans Solution tampon peptonée au chlorure de sodium pH 7 à 1g/l (Solution A).

b. Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) et des moisissures et levures (DMLT) : Un volume de 0.1 ml de la solution A a été étalé à la surface de deux boites de Pétri, dont la première contient un milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (TSA) pour le dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT), et la deuxième contient un milieu Sabouraud dextrose gélosé (SAB) pour le dénombrement des moisissures et levures totales (DMLT). La première boite de Pétri a été incubée à 30 – 35 °C pendant 3 – 5 jours et la deuxième a été incubée à 20 – 25 °C pendant 5 – 7 jours. Le comptage du nombre d'unité formant colonie (UFC) a enfin été effectué par gramme.

c. Recherche de *Staphylococcus Aureus* : Un volume de 10 ml de la solution A préparé a été ensemencé avec 90 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja. Le flacon contenant le mélange a été agité et incubé à 30 – 35 °C pendant 18 à 24 h. Ensuite, un repiquage a été effectué sur un milieu mannitol-sel ou milieu Chapman (CHAP), qui a été incubé à 30 – 35 °C pendant 72 h.

d. Recherche de *Pseudomonas Aeruginosa* : Un volume de 10 ml de la solution A préparé a été ensemencé avec 90 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja. Le flacon contenant le mélange a été agité et incubé à 30 – 35 °C pendant 18 à 24 h. Ensuite, un repiquage a été effectué sur un milieu cétrimide agar base (CAB), qui a été incubé à 30 – 35 °C pendant 72 h.

II.6.Conclusion

Une description du matériel utilisé, des modes opératoires appliqués ainsi que l'ensemble des méthodes de caractérisation utilisées lors de la formulation des émulsions chargés par le principe actif Acide fusidique, et stabilisées par KC et ses dérivés a été détaillée dans ce deuxième chapitre. Les résultats obtenus seront présentés et discutés dans le chapitre suivant.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Introduction

Ce présent travail expérimental a été réalisé au niveau de l'entreprise ANTIBIOTICAL Saidal et le laboratoire de la faculté des Sciences de l'université de Médéa. L'objectif principal de ce chapitre est de développer des émulsions contenant l'acide fusidique (AF) en tant que principe actif, stabilisées par le kappa carraghénane (KC) et ses dérivés (KCD1 et KCD2). Cette étude vise à mettre en évidence les propriétés physico-chimiques des crèmes et à évaluer la capacité des biopolymères étudiés à stabiliser les différentes formulations en tant qu'excipients pharmaceutiques.

III.2. Résultats et discussion

III.2.1. Analyse infrarouge (FTIR)

La Figure III.1 présente le spectre IR de l'acide fusidique (AF), mettant en évidence les pics distinctifs suivants : Tout d'abord, une bande autour de 3441.12 cm^{-1} correspondant aux vibrations de liaison O-H de l'acide carboxylique. Ensuite, une bande intense à 2947.33 cm^{-1} liée à la vibration de déformation de la structure O-H alcoolique. On observe également une bande autour de 1735.99-1689.70 cm^{-1} correspondant respectivement à la vibration symétrique des groupements C=O carbonyle et C=O carboxylique. Une autre bande significative apparaît à 13810.8 cm^{-1}, correspondant aux vibrations de C=C aromatique. Enfin, une bande autour de 1234.48 cm^{-1} est observée, correspondant au groupement C-O-C. Ces résultats permettent de caractériser les vibrations et les structures présentes dans l'acide fusidique.

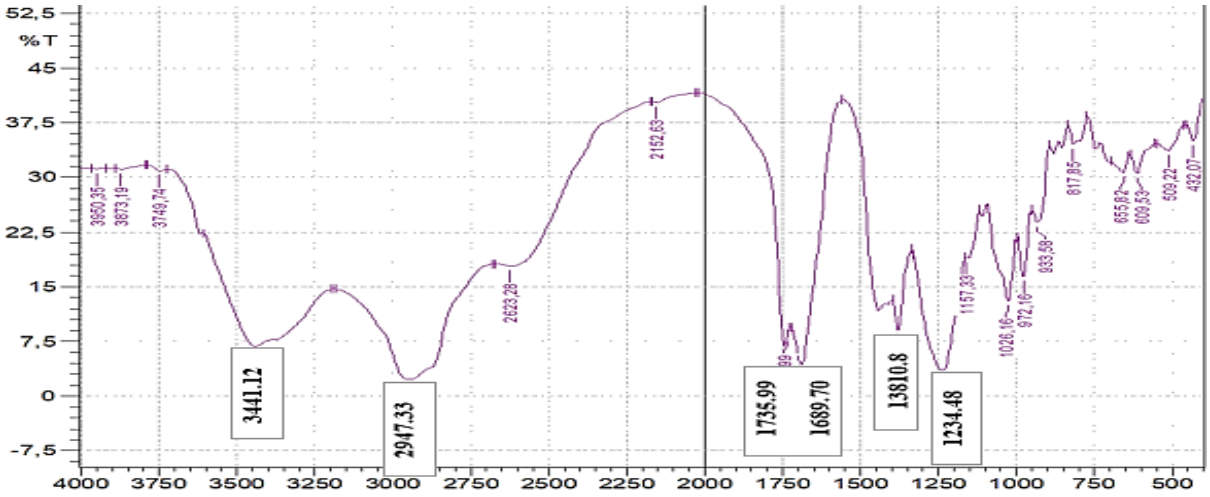


Figure III .1. Spectre FTIR d'acide fusidique.

Les spectres infrarouges du KC et de ses dérivés sont illustrés dans la figure III.2. Le spectre de KC montre des pics caractéristiques à 3402,54 cm^{-1}, correspondant respectivement aux vibrations des liaisons CH_2 et O-H. Un pic d'élongation symétrique est observé autour de 1427,37 cm^{-1}, correspondant à la liaison -CH des chaînes alkyle. De plus, un pic à 1026,12 cm^{-1} est attribué à la fonction éther (-C-O-C-).Les pics à 1427,37 cm^{-1} et 856,42 cm^{-1} correspondent respectivement à la variation symétrique des groupements O=S=O et à l'allongement de $-O-SO^-_3$. Un pic intense à 1643,51 cm^{-1} est lié à la variation de déformation de la structure de l'eau.

Les spectres des dérivés (KCD1 ; KCD2) présentent un pic autour de 2931,90 cm^{-1} et 1419,66 cm^{-1}, atténuant respectivement l'étirement de groupement méthyle -CH des chaînes alkyle. Dans le spectre du dérivé 1, l'élongation symétrique de la variation à 1573,97 cm^{-1} correspond au groupement $RCOO^-$, et d'autres pics à 1257,63 cm^{-1} correspondent à la variation symétrique du groupement O=S=O. De plus, le pic détecté dans le spectre de KCD2 à 848,71 cm^{-1} correspond à la variation d'allongement de $-O-SO^-_3$.

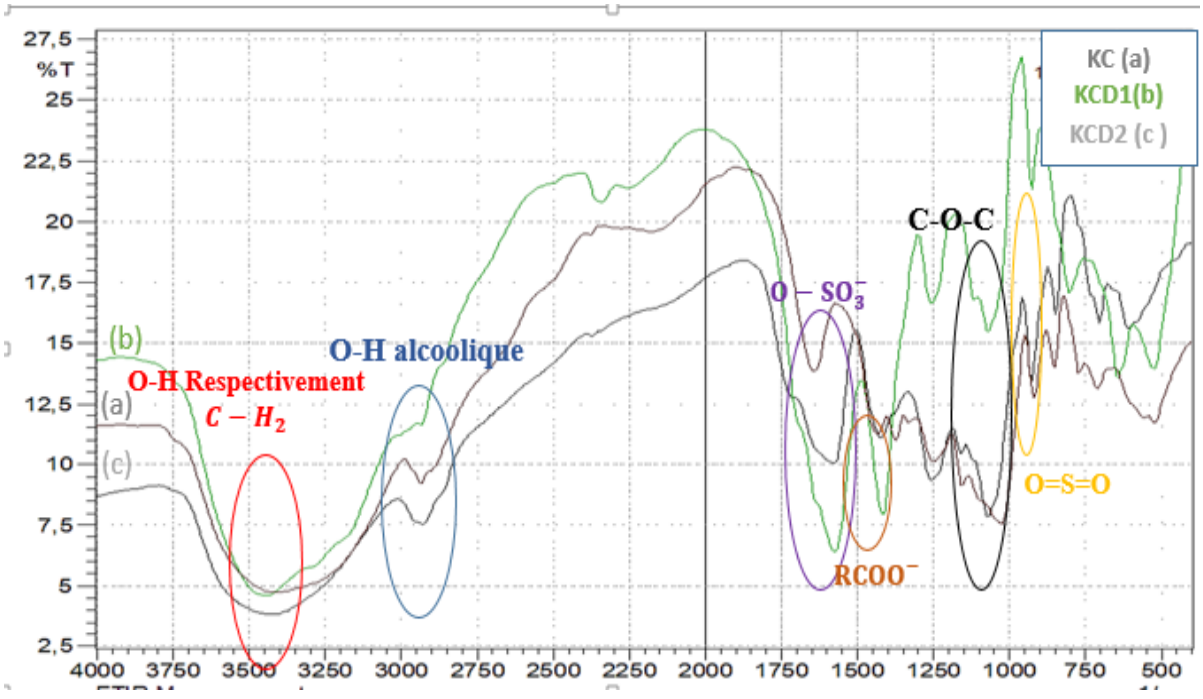


Figure III .2. Spectres FTIR de KC (a), KCD 1 (b) et KCD 2(c).

Les spectres infrarouges de la figure III.3 de l'AF et du kappa-carraghénane avec leurs dérivés présentent des pics caractéristiques. Les pics situés dans la plage de (3293.90-3441.12) cm^{-1} correspondent aux vibrations de la liaison O-H de l'acide carboxylique. De plus, le pic dans la plage de (2931.90-2947.33) cm^{-1} est attribué à la vibration de la structure

O-H alcoolique. Enfin, le pic situé autour de (1234.48-1257.63) cm^{-1} est associé au groupement C-O-C.

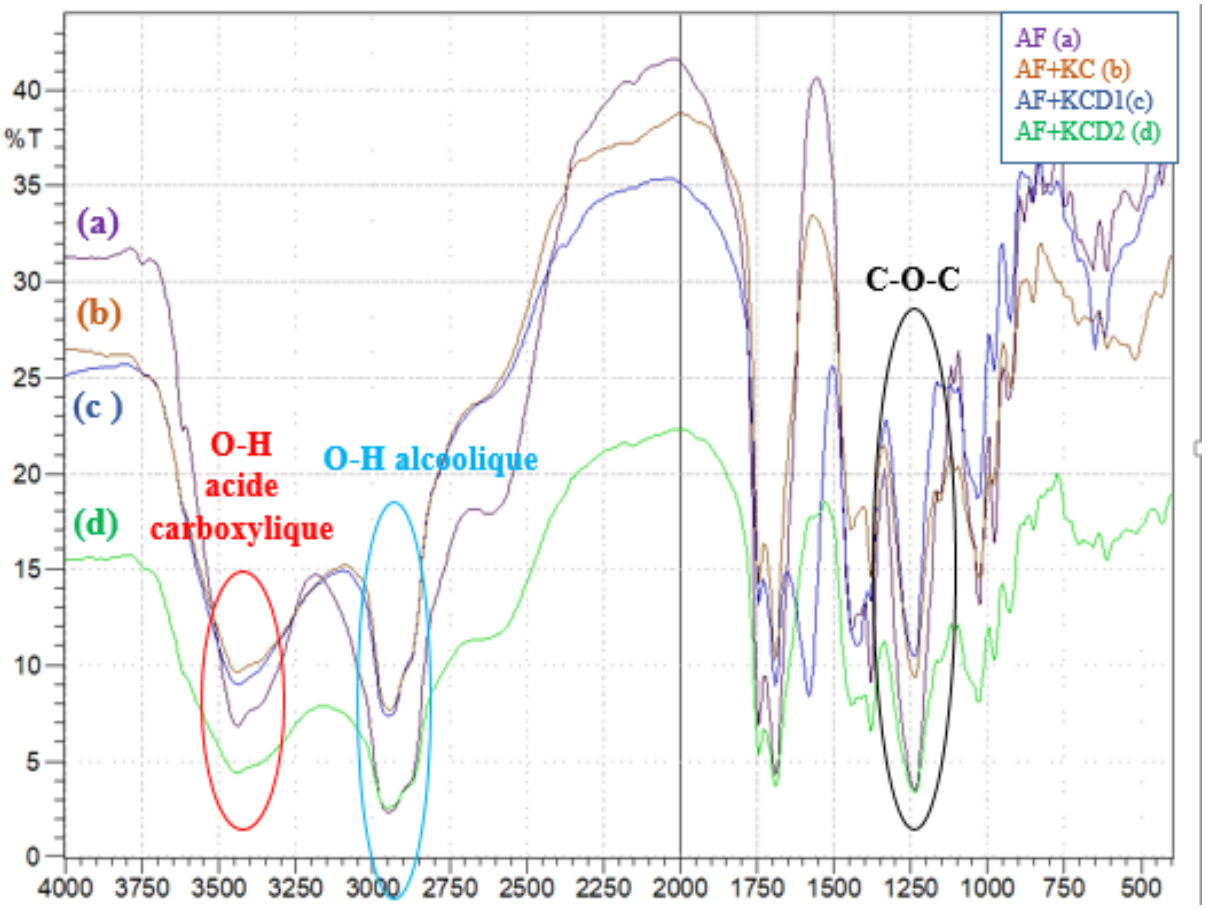


Figure III .3. Spectres FTIR : Acide fusidique, et des mélanges (AF/ KC), (AF/KCD1), (AF/ KCD2).

III.3. Caractérisation physico-chimique des émulsions à base d'acide fusidique.

III.3.1.Aspect macroscopique des émulsions

Les résultats du contrôle macroscopique des formulations obtenues sont présentés dans la figure III.4.

Toutes les émulsions présentent un aspect crémeux, homogène et ne montrent aucun signe de compactage. Les formulations affichent une couleur blanc cassé et une odeur caractéristique. Toutefois, l'émulsion 2 se distingue par son aspect mousseux et son manque d'homogénéité. Cette observation nous conduit à conclure que le KC a une influence sur la consistance de l'émulsion.

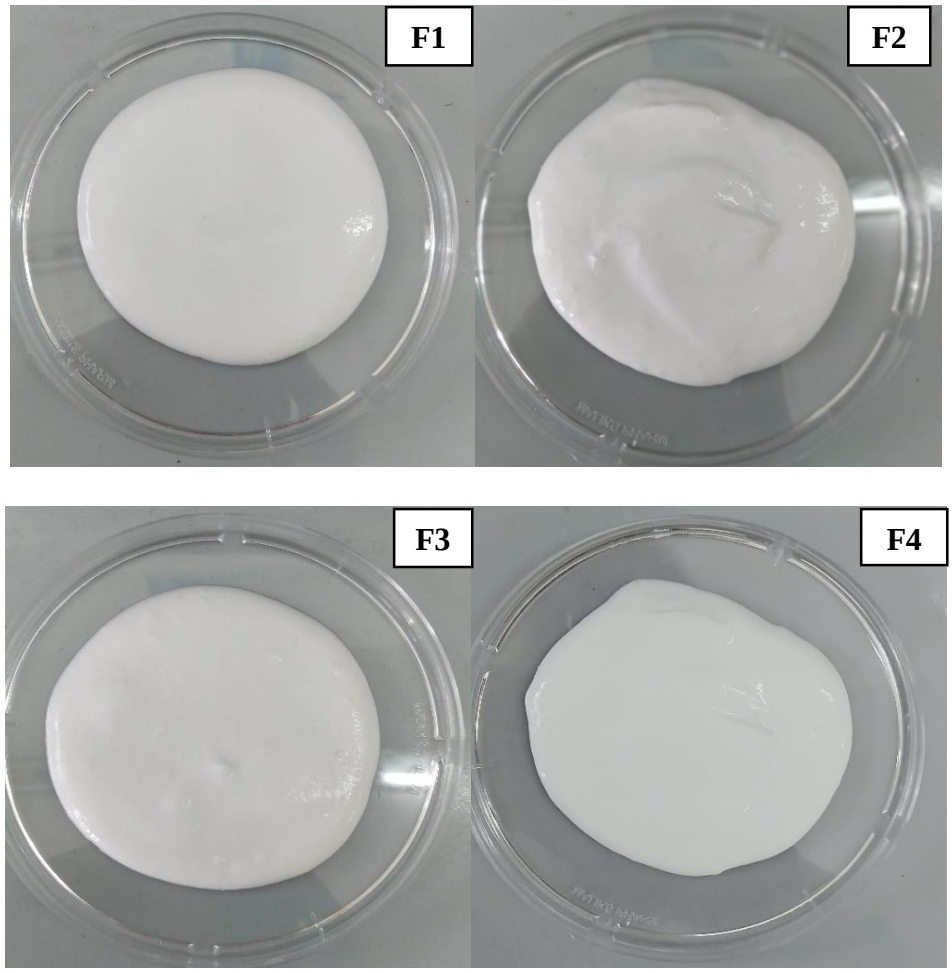


Figure III.4. Aspect visuel des formulations (F1-F4)

III.3.2. Examen microscopique des émulsions

L'analyse microscopique de chaque formulation (F1-F4) est présentée dans la figure III.5. Les résultats révèlent que les émulsions formulées sont de type dispersion H/E, avec des gouttelettes d'huile dispersées dans la phase aqueuse. Aucune coalescence des gouttelettes n'a été observée dans toutes les formulations, ce qui confirme la stabilité des émulsions obtenues.

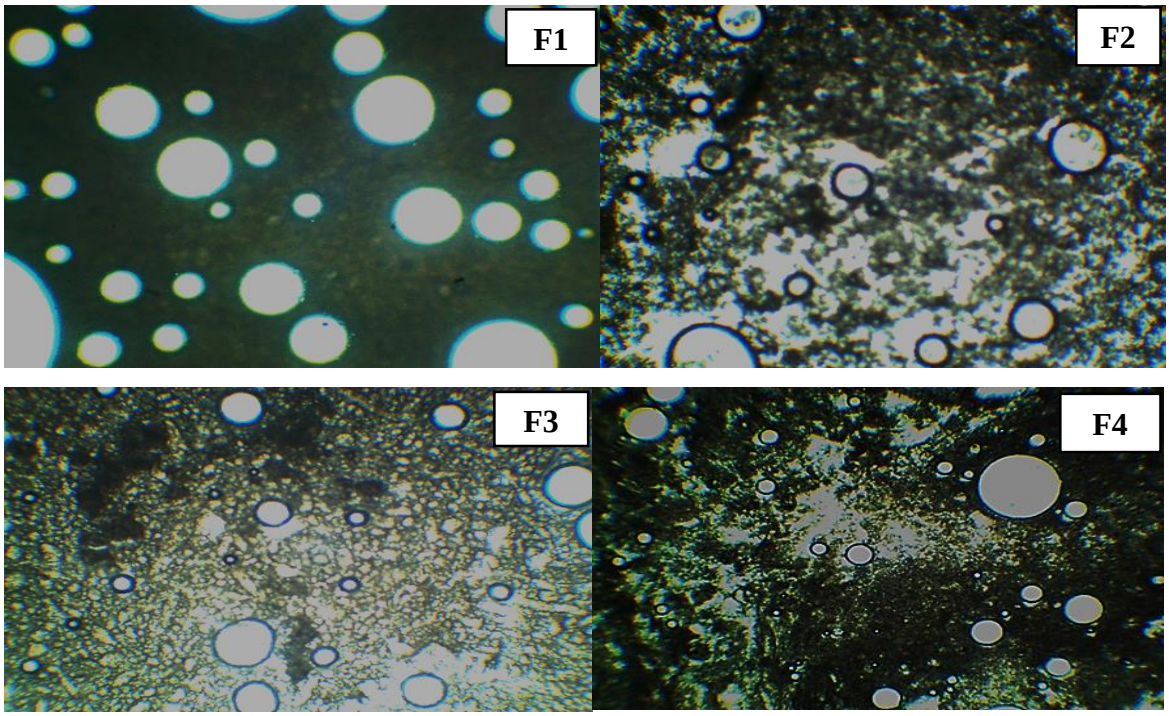


Figure III.5. Images microscopiques des formulations (F1 - F4)

III.3.3. Résultats de pH

L'objectif de la mesure du pH était de vérifier la compatibilité du pH de l'émulsion avec celui de la peau, qui se situe généralement entre 5,2 et 7. À cet effet, le pH des différentes formulations a été mesuré à une température de 25 °C, et les résultats obtenus (Figure III.6) révèlent des valeurs se situant entre 5 et 7. Ces résultats confirment que les émulsions développées sont parfaitement adaptées à une utilisation sur la peau, sans risque d'irritation.

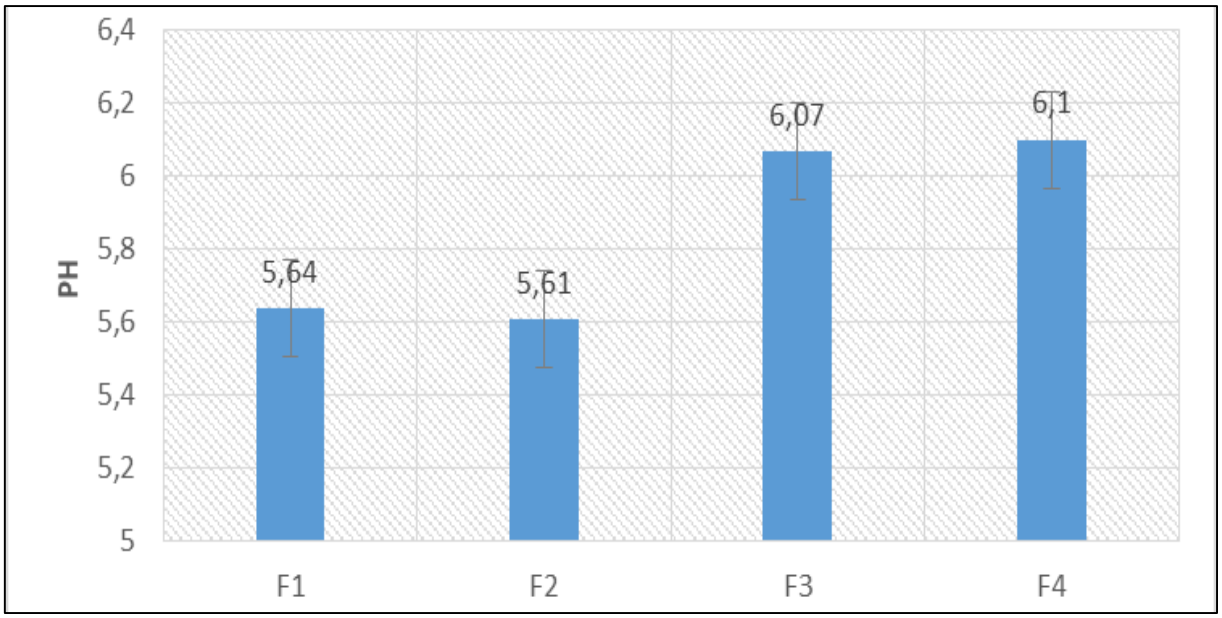


Figure III .6. Mesure de pH des émulsions (F1-F4).

III .3.4. Évaluation du sens de l'émulsion des formulations

Les valeurs de la conductivité des émulsions obtenues sont représentées dans la figure III.7. À la lumière de ces valeurs élevées de conductivité pour toutes les formulations, nous concluons que la phase continue est une phase aqueuse et la phase dispersée est une phase huileuse, de type huile dans l'eau (H/E).

En analysant ces résultats, nous remarquons que les valeurs de conductivité de F3 et F4 (70,5 µs/cm et 77,9 µs/cm respectivement) sont plus proches l'une de l'autre que celle de F1 (84,6 µs/cm) et F2 (42.8 µs/cm).

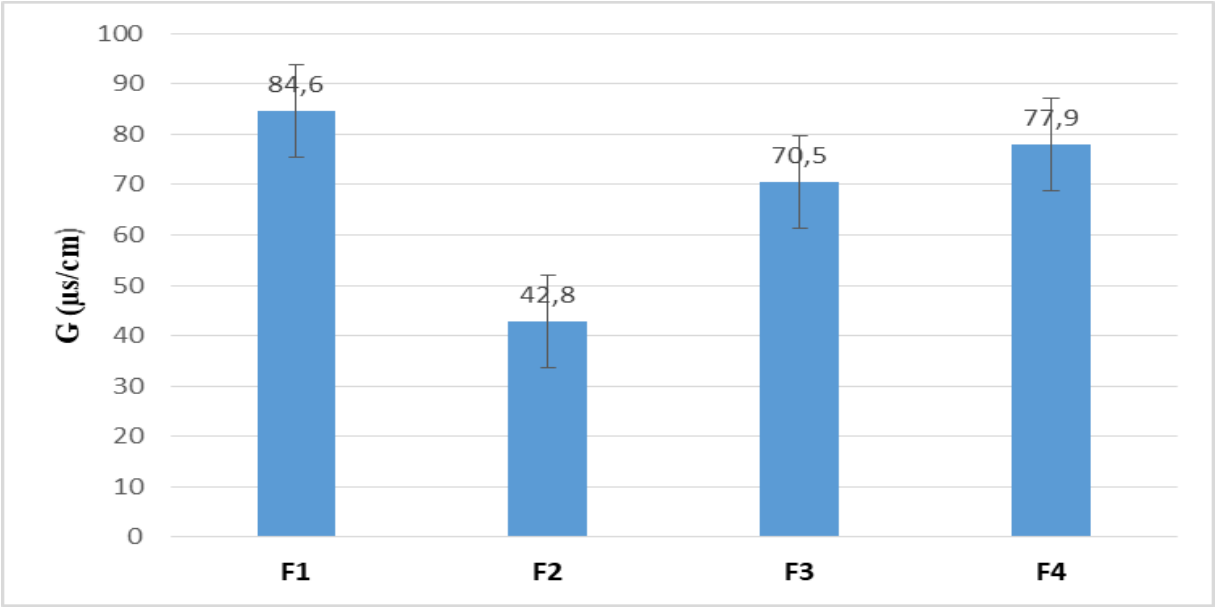


Figure III .7. Résultats de la conductivité des formulations (F1-F4).

III.3.5. Test d'étalement

Les résultats démontrent que les émulsions étudiées présentent une capacité d'étalement facile, homogène et régulière lors du test d'étalement, sans causer de friction ou de sensation de coupure. Cette facilité d'utilisation observée avec les émulsions formulées peut être attribuée à la présence de la phase huileuse dans le système, qui agit comme un lubrifiant, favorisant ainsi l'étalement sans difficulté. La présence de cette phase huileuse offre donc une texture agréable et facilite l'application des émulsions.

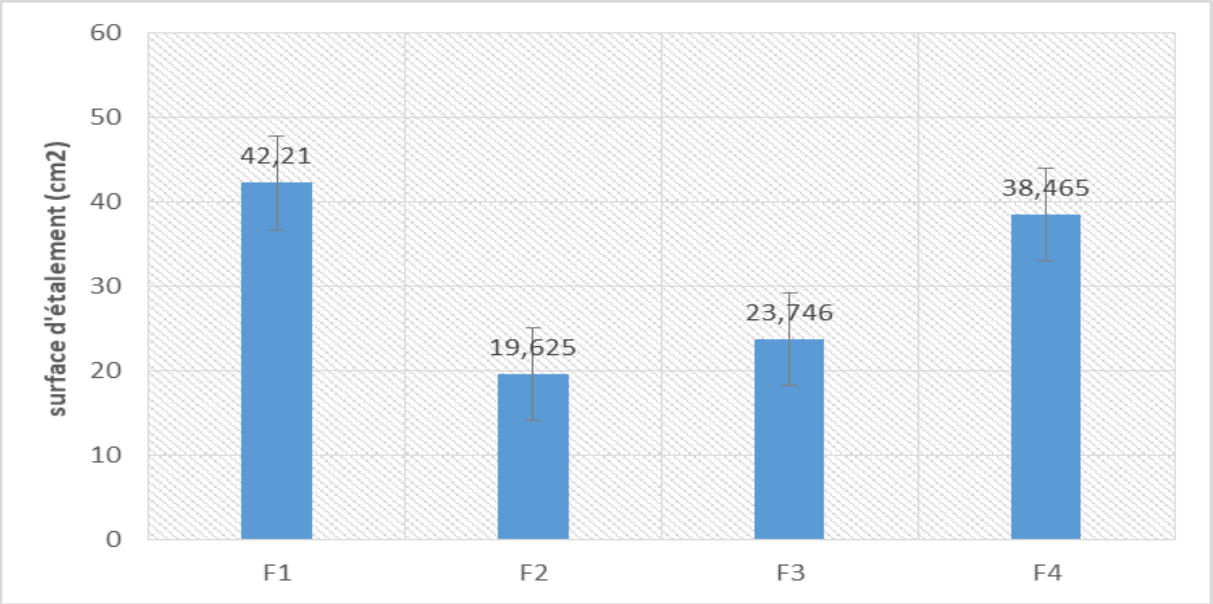


Figure III .8. Test d'étalement des formulations (F1-F4).

III.3.6. Stabilité à la centrifugation

Pour évaluer l'effet stabilisant des biopolymères étudiés, la méthode de centrifugation a été employée. Les émulsions préparées ont été soumises à une série de vitesses de centrifugation allant de 1000 à 4000 tr/ min, pendant 10min. Les résultats de la centrifugation des différentes émulsions étudiées (F1-F4) à des temps de centrifugation variés sont résumés dans le Tableau III.1.

Tableau III.1 Résultats de centrifugation des émulsions H/E

La vitesse de centrifugation (tr/mn) pendant 10mn	F1	F2	F3	F4
1000	+	+	+	+
2000	+	+	+	+
3000	+	-	-	+
4000	+	-	-	+

- : séparation de phase + : stable

L'analyse des résultats de ce tableau révèle que les émulsions formulées F2 et F3 sont instables lorsqu'elles sont soumises à des vitesses de centrifugation comprises entre 3000 et 4000 tr/min. En revanche, les formulations F1 et F4 montrent une plus grande stabilité, avec des séparations de phases minimales observées même à des vitesses de centrifugation élevées.

III.2.6. Mesure de viscosité

Les mesures de la viscosité apparente ont été réalisées à l'aide d'un viscosimètre avec la tige N°4 à température ambiante. La figure III.9 illustre la variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement des émulsions préparées.

On observe que la viscosité apparente de toutes les formulations diminue avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement. Ces résultats indiquent que les émulsions présentent un comportement de fluide non newtonien.

On observe que la consistance des formulations F2, F3 et F4 est meilleure par rapport à celle de la formulation F1, qui correspond à la crème commercialisée. Ces formulations montrent une diminution plus significative de la viscosité avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement, ce qui suggère une meilleure fluidité et une plus grande facilité d'application.

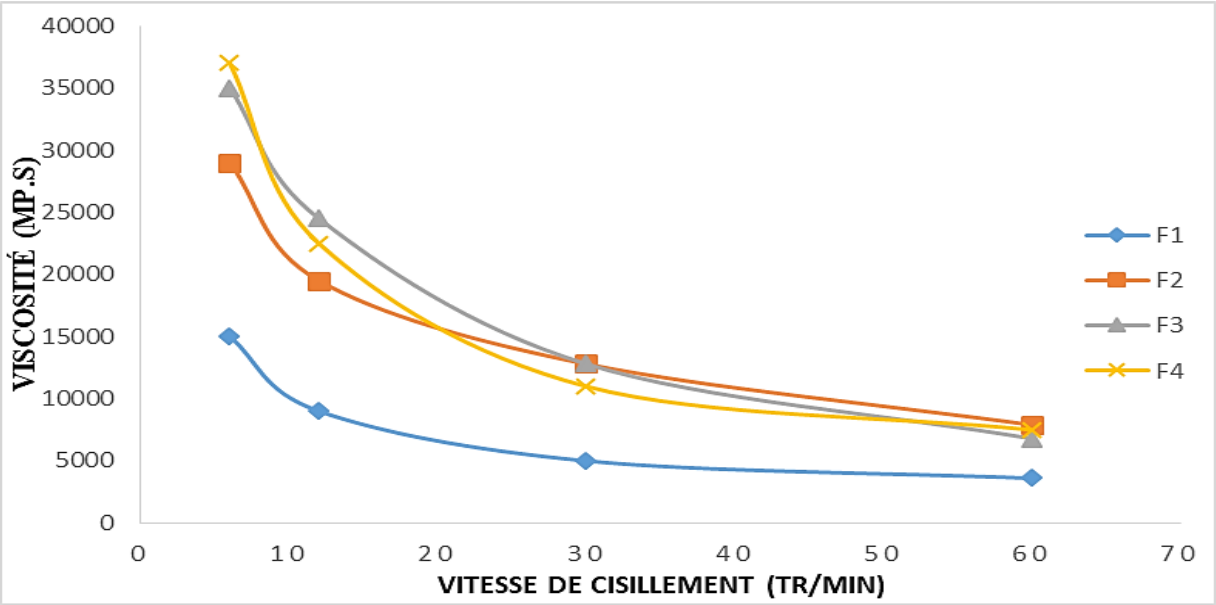


Figure III.9. Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations (F1-F4).

III.2.7. Dosage de l'acide fusidique dans les formulations par La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Les chromatogrammes à λ max= 235 nm

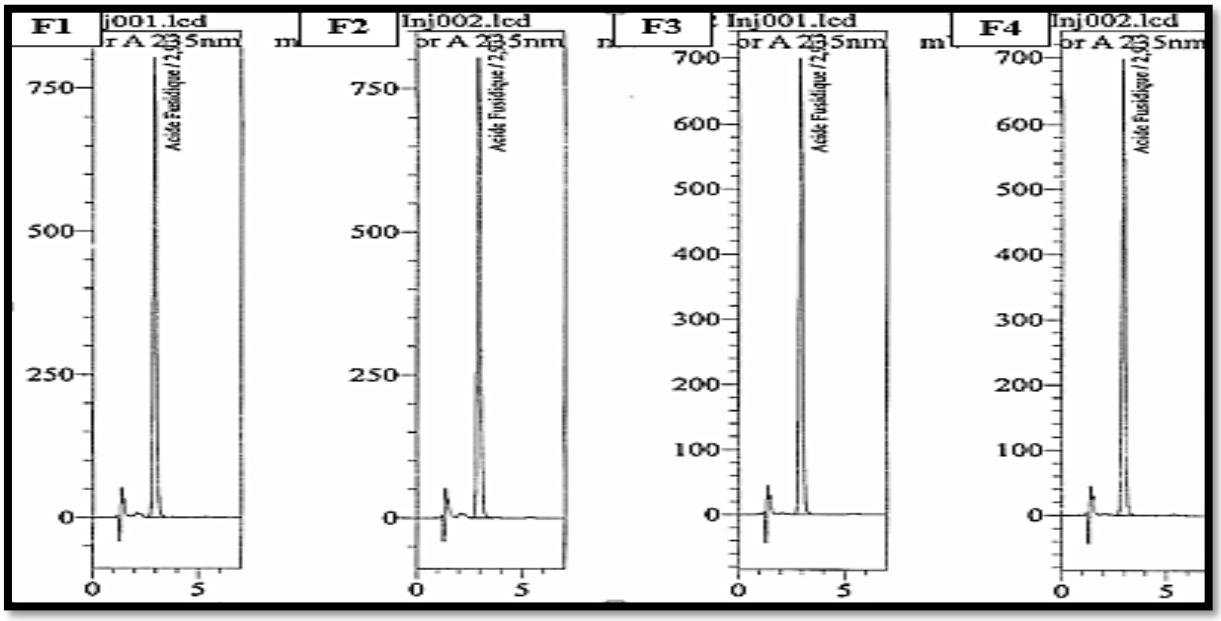


Figure III.10. Chromatogrammes du dosage l'acide fusidique dans les formulations : (Volume d'injection 20µl, colonne C_{18} , phase mobile : méthanol /acide ortho phosphorique à 0.05M/ : acétonurie (10 :40 :50), λ max= 235 nm, D= 2,5ml/min, t= 25°C).

Tableau III.2. Résultat de l'analyse des formulations (F1 - F4) par HPLC

Nom	Injection	Temps de rétention (min)	Surface	Hauteur	Titre (%)
Standard	1	2.940	7637055	737914	
éch F1	2	2.933	8423637	802992	2,15062055
éch F2	3	2.933	7273377	698178	1,847098962
éch F3	4	2.933	7270023	698138	1,848699057
éch F4	5	2.933	8419743	802944	2,129748726

D'après les résultats de l'analyse des chromatogrammes présentés dans la figure III.11, nous avons constaté que les résultats du standard et des échantillons sont respectivement les suivants : temps de rétention (2,933-2,940 min), surface (7 270 023-8 419 743) et hauteur (698 138-802 944). De plus, le titre de chaque formulation n'a pas dépassé la limite de conformité (1,8-2,2 %). Par conséquent, nous pouvons conclure que les formules préparées sont conformes aux normes établies.

III.2.8. Pureté microbiologique des formulations

Cette étude a inclus le dénombrement des germes aérobies totaux (DGTA), des moisissures et levures totales (DMLT), ainsi que la recherche de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* dans les formulations F1, F2, F3 et F4 contenant le CA. Les résultats de ces analyses sont présentés de manière concise dans le tableau III.3.

Tableau III.3. Résultats des tests microbiologiques

Présence des microorganismes (UFC /g)	F1	F2	F3	F4	Norme (européen pharmacopée, 2016)
DGAT	0	0	0	0	**≤100**
DMLT	10	0	0	0	**≤10**
Staphylococcus aureus	Absence	Absence	Absence	Absence	**Absence**
Pseudomonas aeruginosa	Absence	Absence	Absence	Absence	**Absence**

Les résultats du dénombrement total des germes aérobies (DGAT) montrent que les formulations F1, F2, F3 et F4 ne présentent pas de charge microbienne en termes de

moisissures et de levures (Figure III.11). Ces résultats sont conformes aux normes de la pharmacopée européenne pour les formes dermatologiques, qui fixent un maximum autorisé de 100 UFC/g. Ainsi, les formulations étudiées respectent les critères microbiologiques requis pour leur utilisation en tant qu'excipients pharmaceutiques, et elles sont considérées comme acceptables sur le plan de la contamination microbienne.

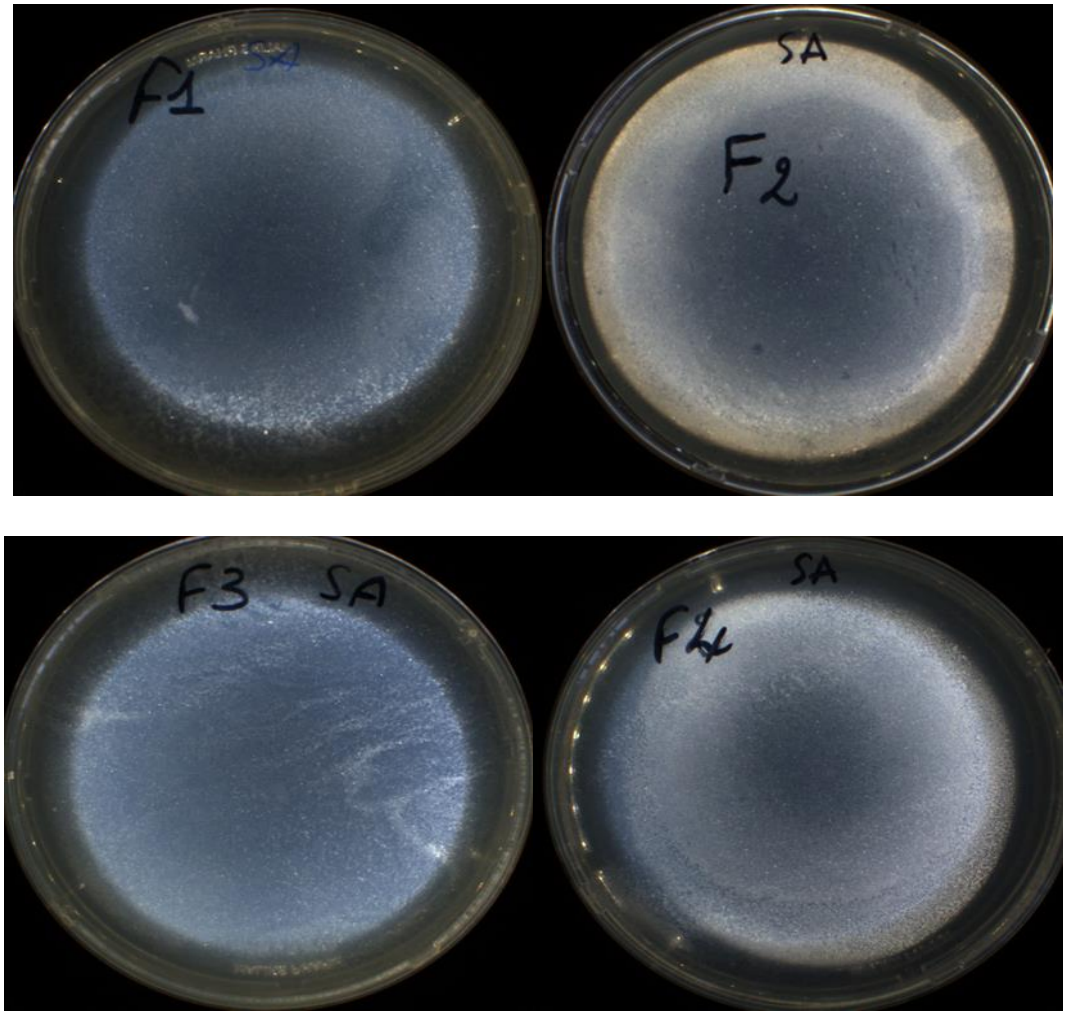


Figure III.11. Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) dans les formulations F1 ; F2 ; F3 et F4 sur le milieu TSA

Les résultats du dénombrement des germes aérobies totaux (DMLT) dans les formulations F1, F2, F3 et F4 ont démontré une charge microbiologique de 0 UFC/g. Ces valeurs se situent en dessous de la limite maximale établie par les normes, qui est de 10 UFC/g. Cette constatation indique que toutes les formulations étudiées respectent les critères microbiologiques requis et sont considérées comme conformes en termes de contamination bactérienne. Ces résultats mettent en évidence la bonne qualité microbiologique des

formulations et confirment qu'elles sont propres et sûres pour une utilisation pharmaceutique. La conformité aux normes microbiologiques est essentielle pour garantir l'efficacité et la sécurité des produits pharmaceutiques, et ces résultats renforcent la confiance dans les formulations étudiées en tant qu'excipients de haute qualité.

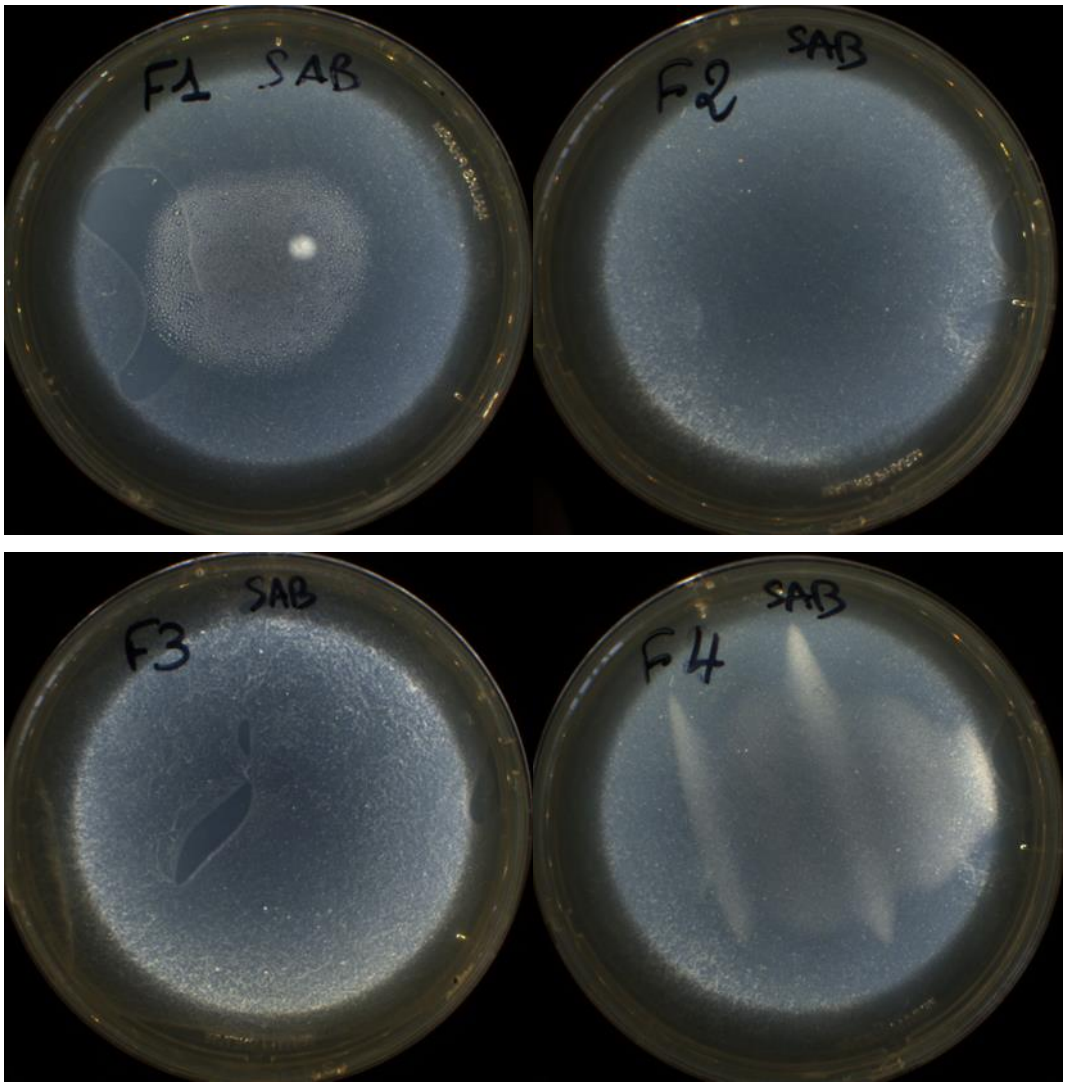


Figure II.12. Dénombrement des moisissures et levures (DMLT) dans les formulations F1 ; F2 ; F3et F4 sur le milieu SAB

Les résultats obtenus démontrent la conformité des formulations F1, F2, F3 et F4 aux exigences de la pharmacopée européenne, car ils ont montré l'absence de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cette constatation est d'une grande importance car ces deux bactéries sont souvent considérées comme des agents pathogènes potentiellement dangereux dans les produits pharmaceutiques. Ainsi, la présence nulle de ces micro-organismes dans les formulations témoigne de leur qualité microbiologique et de leur capacité à répondre aux normes de sécurité requises pour les produits pharmaceutiques. Ces

résultats renforcent la confiance dans l'utilisation des formulations étudiées en tant qu'excipients pharmaceutiques sûrs et efficaces.



Figure III.13. Aspect de macroscopique de l'absence des colonies de *staphylococcus aureus* dans les formulations F1 ; F2 ; F3et F4 sur le milieu mannitol – sel (CHAP)





Figure III.14. Aspect de macroscopique de l'absence des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* dans les formulations F1 ; F2 ; F3et F4 sur le milieu CAB

III.6.Conclusion

Au cours de cette étude, des observations significatives ont été faites concernant l'utilisation du kappa carraghénane (KC) et de ses dérivés (KCD1 et KCD2) dans la stabilisation des émulsions huile dans eau (H/E) à base d'acide fusidique.

Les résultats macroscopique et microscopique des émulsions (F1-F4) a montré des crèmes stable avec une bonne consistance. Il a été constaté que le KC seul ne peut pas être utilisé de manière efficace pour assurer la stabilité des émulsions H/E. Cependant, les dérivés KCD1 et KCD2 ont démontré leurs capacités à jouer un rôle efficace dans la stabilisation des émulsions. En particulier, le dérivé KCD2 a montré des résultats prometteurs en conférant une texture satisfaisante et une stabilité permanente à la crème formulée. L'analyse de la viscosité indique que les émulsions présentent un comportement de fluides non newtonien. Le dosage de l'acide fusidique par HPLC démontre que les formules préparées sont conformes aux normes établies. La pureté microbiologique des formules (F1-F4) est conforme aux normes de la pharmacopée Européenne.

Conclusion générale

L'étude des systèmes dispersés à base de polysaccharides sur le plan physicochimique présente des défis considérables pour les chercheurs. La complexité de cette tâche réside notamment dans la compréhension des interactions inter et intra moléculaires, qui déterminent la stabilité et le comportement de phase de ces systèmes.

Dans le cadre de cette étude, l'objectif principal était de formuler et de caractériser des émulsions simples de type huile-dans-eau (H/E) chargées en acide fusidique, un principe actif (PA) couramment utilisé, en utilisant le biopolymère Kappa carraghénane (KC) ainsi que ses dérivés, KCD1 et KCD2, comme agents de stabilisation. L'effet de ces biopolymères sur la formulation et la stabilité des émulsions obtenues a été étudié.

Au cours de cette étude, d'importantes observations ont été faites concernant l'utilisation du kappa carraghénane (KC) et de ses dérivés (KCD1 et KCD2) dans la stabilisation des émulsions H/E à base d'acide fusidique. Les résultats obtenus, tant au niveau macroscopique que microscopique, ont révélé des crèmes d'une bonne consistance et d'une stabilité satisfaisante. Il est apparu que le KC seul ne suffisait pas à assurer une stabilité efficace des émulsions H/E. En revanche, les dérivés KCD1 et KCD2 ont démontré leur capacité à jouer un rôle efficace dans la stabilisation de ces émulsions. Plus particulièrement, le dérivé KCD2 s'est révélé prometteur en conférant à la crème formulée une texture satisfaisante.

L'analyse de la viscosité des émulsions a révélé un comportement de fluides non newtoniens. Par ailleurs, les dosages d'acide fusidique par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ont démontré la conformité des formules préparées aux normes établies. De plus, la pureté microbiologique des formules (F1-F4) a été conforme aux normes de la pharmacopée européenne.

Ainsi, cette étude a mis en évidence l'importance du choix du biopolymére dans la stabilisation des émulsions H/E chargées en acide fusidique. Les résultats encourageants obtenus avec les dérivés KCD1 et KCD2 ouvrent de nouvelles perspectives dans le développement de formulations pharmaceutiques efficaces et stables. Cependant, il convient de poursuivre les recherches pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents aux interactions moléculaires et optimiser l'utilisation des polysaccharides dans de tels systèmes dispersés. Ces avancées contribueront à l'amélioration de la formulation et de la stabilité des produits pharmaceutiques et cosmétiques, ouvrant ainsi de nouvelles voies pour le développement de produits plus performants et plus sûrs.

Références Bibliographiques

[1] Magdassi, S. Delivery systems in cosmetics, Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects 123, 671-679. 1997

[2] Arditty. S, fabrication, stabilité, et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales, thèse de doctorat en physico-chimie. Université bordeaux I, 2004

[3] Jouanny.B, « stabilisation d'émulsions d'intérêt pharmaceutique Par des protéines et des polysaccharides : exemple de la ß_-lactoglobuline, de la gomme Arabique et de la gomme xanthane », thèse de doctorat en pharmaco chimie, Université PARIS- SUD11, 2011

[4] La pharmacopée Européenne 2008

[5] Joachim A., developpement de nouvelles methodes pour l'elaboration d'emulsions multiples eau/huile/eau. Institut national polytechnique de lorraine ecole national superieure des industries chimique. discipline : genie des procedes, 8p. 2003.

[6] Doumeix O., Opérations Unitaires En Génie Biologique. : Les Émulsions, 2011.

[7] Pierat N., Préparations d'émulsions par inversion de phase induite agitation, thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincare, Nancy, 2010.

[8] Gennes, P., Taupin, C, "Microemulsions and the flexibility of oïl/water Interfaces," J. Phys. Chem., vol. 86, no. 13, pp. 2294–2304,1982

[9]Bhandari B.R., Dumoulin E., Richard H., Techniques de préparation d'arômes élaborés (Chapitre 7) dans Les arômes alimentaires, Éd. Lavoisier, Paris, 438p, 1992.

[10] Guimberteau F., Dagleish D., Bibette J.M.J. Emulsion multiple alimentaire composée d'une emulsion primaire inverse dispersée au sein d'une phase continue aqueuse. Brevet FR 2 828 378-A1, 22p, 2001.

[11] Douifi. A and Lefnaoui .S .formulation et caractérisation d'une crème générique à base de Principe actifs antifentieux, mémoire de master en chimie pharmaceutique, université de médéa.

[12] Clausse, D., Daniel-David, D., Gomez, F., Komunjer, L., Pezron, I., Dalmazzone, C., & Noïk, C. Emulsion stability and interfacial properties–application to complex emulsions of industrial interest. Colloid Stability and Application in Pharmacy, vol 3 119-149, 2007.

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

[14] Seiller M, Puiseaux F. " Les systèmes dispersés. I, Agents de surface et émulsions». Mémoire de master en technique et documentation la voisiner .université Paris 1982

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

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

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

[18] Güzey D, McClements D. "Influence of environmental stresses on O/W emulsions stabilized by β-lactoglobulin-pectin and β-lactoglobulin-pectin-chitosan membranes produced by the electrostatic layer-by-layer deposition technique," Food Biophys., vol. 1, no. 1, pp. 30–40, 2006.

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

[20] Hamouda .S, Houari .S and Moulai-Mostefa.N .Formulation et caractérisation des émulsions par des biopolyméres, mémoire de master en génie des procédés et environnement, université de Médéa .2017

[21] Roos,H ; Bolmstedt,U; Axelsson,A. Evaluation of new methods and measuring systems for characterisation of flow behaviour of complex foods. Applied Rheology, 2006

[22] Brummer R., Rheology essentials of cosmetic and food emulsions, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, 2006.

[23] Grunden, M. Evaluation of different methods for characterisation of physical properties of cosmetic emulsions. Dept of chemical engineering, LTH, Lund university,

Sweden,[cit 2013-10-23]. Dostupné z www: http://www. chemeng. lth. se/exjobb E, 284. 2006..

[24]Siang .Y and al .lipid –based devery system for topical phenytoin .journal of applied pharmaceutical science vol 6(11) .2016

[25] Naé H.N., Introduction to Rheology, Chapter 2, In Laba D., Ed, Rheological properties of cosmetics and toiletries, Marcel Dekker, New York, 1993.

[26]Janes .F, Rheological methods in food process engineering, book of engineering .university USA .1992

[27] Desplanches H., Chevalier J., Mélange de milieux pâteux de rhéologie complexe, Editiontechnique de l'ingénieur, book of génie de procédés Vol J 3860 .1999

[28] Le Hir, A., Chaumeil, J. C., Brossard, D., Charrueau, C., & Crauste-Manciet, S. Pharmacie galénique: bonnes pratiques de fabrication des médicaments. Elsevier, Masson ,2009

[29] Dimitreli, G., & Thomareis, A. S. Effect of temperature and chemical composition on processed cheese apparent viscosity. Journal of Food Engineering,vol 64 pp 265-271, 2004

[30] Desplanches H., Chevalier J., Mélange de milieux pâteux de rhéologie complexe, Edition technique de l'ingénieur, book of procedural genius Vol J 3860.

[31] Pal, R. Rheology of polymer-thickened emulsions. Journal of Rheology,vol 36 pp1245-1259. 1992.

[32] **Rajinder .p**, rheology of polymer –thickend emulsion, journal of rheology : pp1245-1259.1992

[33] Allouche, J. Développement de nouvelles méthodes pour l'élaboration d'émulsions multiples eau/huile/eau (Doctoral dissertation, Vandoeuvre-les-Nancy, INPL),2003.

[34] Lin, L. Characterizations of oil-in-water (O/W) emulsions containing different types of milk fats prepared using rhamnolipids as emulsifiers: a thesis presented in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Technology in Food Technology at Massey University, Auckland, New Zealand (Doctoral dissertation, Massey University). 2009.

[35] Napper D.H., Polymeric stabilization of colloidal dispersions. Academic press, article en stabilization de polymer . London, 1983.

[36] Damodaran, S. "Protein stabilization of emulsions and foams." Journal of food science,vol 70 pp 70-3 .2005

[37]Anand, Utkarsh, et al. "Hydration layer-mediated pairwise interaction of nanoparticles." Nano letters 786-790. 2016

[38]Yahoum., M.M., Formulation et caractérisation de fluides a structure complexe : Application aux dispersions. Thèse de doctorat en génie des procédés. Université de Médéa. Algérie.2017.

[39]Yuh-Fun et Chung Hsu ; Kotoulas C. Kiparissides C. generalized A population balance model for the prédiction of particule size distribution in suspension polymerization reactors, Chemical Engineering Science, 61,332-346. 2006.

[40] Carlos J.M.H., W/O Emulsions: Formulation, Characterization and destabilization, Caracas, Venezuela, 2009.

[41] Hou, C,T. "Characterization of new yeast lipases." Journal of the american oil chemists' society ,vol74pp1391-1394. 1997

[42]Larpent C., Tensioactifs. Techniques de l'ingénieur, traité constantes physicochimiques K342 : 1-14 p.1995

[43]Salager J., Surfactifs : Types et usages, cahier firp n° f300-a, Version 2, Université de losangeles, 2002

[44] Kechad ,K ; Bensalem,I& Seddari,S. L'encapsulation de l'insuline par émulsion multiple. Mémoire de master en génie de procède et environnement ; université de médéa. 2013

[45] Ficheux F., Bonakdar L., Lea-Caldaron F & Bibette J., Some stability criteria for double emulsions, Langmuir, vol 14 pp 2702-2706.1998

[46] Bognolo G., Tensioactifs non ioniques : Mise en œuvre industrielle, "Techniques del'ingénieur, Génie des procédés,vol 2.J2265. 2004.

[47] Kabalnov A., Wennerstrom H., Macroemulsion stability : the oriented wedge theory revisited, Langmuir,vol 12. pp 276-292.1996

[48]Salager J., Formulation concept for the emulsion maker. Pharmaceutical emulsions and suspensions, New York, Marcel Dekker, 2000

[49]Akiyama M, Tsuge T., Doi Y., Environmental life cycle comparison of polyhydroalkanoates produced from renewable carbon resources by bacterial fermentation, Polym. Degrad. Stab, 80, p 183–194, 2003.

[50] Weber, C. J, Biobased packaging materials for the food industry status and perspectives. a European concerted action. KVL . 2000

[51]Mokrani N : preparation et étude du comportement de membranes biopolymeres alginate de sodium/chitosan.thése de doctorat en génie de polymère Université de Boumerdès - Mohamed Bougara,2013.

[52]Akiyama M., Tsuge T., Doi Y, Environmental life cycle comparison of polyhydroalkanoates produced from renewable carbon resources by bacterial fermentation. Polym. Degrad. Stab. 80, p. 183–194, 2003.

[53]Weber, Claus J, Biobased packaging materials for the food industry status and perspectives. Denmark : pp. 13-22, 2000

[54]Jarroux Nathalie. Les biopolymères : différentes familles propriétés et applications. Matériaux fonctionnels - Matériaux biosourcés. Vol. 15, pp. 1-15, 2008.

[55]Xiu-LI W., Yang K., Wang YZ.Properties of Starch blends with biodegradable PolymersJ. Macromol. Sci., Part C.. : Polymer Reviews, Vol. 43, pp. 385–409,2003

[56] Gu, J. D Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials : recent research advances : International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 52, pp. 69 – 91, 2003

[57] Delphine,R, Philippe ,D.Les (bio) polymères biodégradables l'enjeu de demain.Chimie des matières renouvelables. Thèse de doctorat en chimie des matière renouvelables. Université de Mons-Hainaut,, 2004

[58] Rutot,D., Philippe ,D: Les (bios) polymères biodégradables : l'enjeu de demain ? N° 86, p.67, juin 2004

[59] Lu, Y., & Chen, S. C., micropatterning and Nanosphere lithography -fabrication of biodegradable polymers for drug delivery, Adv, Drug Delivery Rev, 2004.

[60]Auras R, Harte B, Selke S, An overview of polylactides Packaging. Macromol. Biosci. vol 4, pp835-864

[61]Okada M., Chemical syntheses of biodegradable polymers, prog.polym.Sci, 27, p.87-133.2002.

[62]Vert .M, Polymères de fermentation, Les polyacides lactiques et leurs précurseurs, les acides lactiques, Actual. Chim, 11-12, p. 79–82, 2002

[63]Rafael Auras., Bruce Harte., Susan Selke.An Overview of Polylactides as Packaging Materials : Macromol. Biosci, 2004, Vol. 4, pp. 835–864, 2004

[64]Rabetafika H.N., Paquot M., Dubois P. Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique, Biotechnol.Agron. Soc. Environ., Vol. 10, 3, pp. 185-196, 2006

[65]Tsotetzo H. "Valorisation des polysaccharides marins : élaboration de nanocomposites et synthèse de graphène dopé». Thèse de doctorat en chimie organique Université de Français. ,2017.

[66]Rees D. A, Steele I. W, and Williamson F. B, "Conformational analysis of polysaccharides. III. The relation between stereochemistry and properties of some natural polysaccharide sulfates (1)," in Journal of Polymer Science Part C : Polymer Symposia, vol. 28, no. 1, pp. 261–276, 1969

[67]Greer C. W, Shomer I, Goldstein M. E, and Yaphe W, "Analysis of carrageenan from Hypnea musciformis by using κ-and ι-carrageenanases and 13C-NMR spectroscopy," Carbohydrate research, vol. 129, pp. 189–196, 1984.

[68]Kloareg B and Quatrano R. S, "Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides," Oceanography and Marine Biology: an Annual Review., vol. 26, pp. 259–315, 1988.

[69]Asare S. O and SO A, "Seasonal changes in sulphate and 3, 6-anhydrogalactose content of phycocolloids from two red algae," Botanica marina, vol. 23, no 9, pp. 595–598, 1980.

[70] Anderson, N. S., Dolan, T. C., & Rees, D. A. Carrageenans. Part VII. Polysaccharides from Eucheuma spinosum and Eucheuma cottonii. The covalent structure of ι-carrageenan. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1 vol 1pp 2173-2176.

[71] Verhaeghe, E. Carraghénanes et cancer du côlon : étude expérimentale chez des rats à flore humaine ; mécanismes d'action (Doctoral dissertation) ,Université Paul-Sabatier de Toulouse.2002

[72]Martin G, Evaluation toxicologique des carraghénanes. Definition, structure, fabrication, propriétés et applications. – Science des aliments, 4, 335-346, 1984,

[73] Anderson, N. S., Dolan, T. C., & Rees, D. A. Carrageenans. Part VII. Polysaccharides from Eucheuma spinosum and Eucheuma cottonii. The covalent structure of ι-carrageenan. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 2173-2176 .1973.

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

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

[76] Multon, J. L. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaires. B. de Reynal (Ed.). Technique et Documentation-Lavoisier. pp. 331-332, 1992.

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

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

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

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

[81]Prasad K, Meena R, and Siddhanta A. "Microwave-induced rapid one-pot synthesis of κ-carrageenan-g-PMMA copolymer by potassium persulphate initiating system," J. Appl. Polym. vol. 101, no. 1, pp. 161–166,2006

[82]Pourjavadi A, Barzegar S, and Zeidabadi F. "Synthesis and properties of biodegradable hydrogels of κ-carrageenan grafted acrylic acid-co-2-acrylamido-2-

methylpropanesulfonic acid as candidates for drug delivery systems," React. Funct. Polym., vol. 67, no. 7, pp. 644–654,2007

[83] President, M. L. C., El mellouki, M. W., Lahlou, M. I. A., & Alaoui, M. A. E. Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. Médecine Interne. Universite mohammed v.1984.

[84] Carraghénanes : agents gélifiants, épaississants et stabilisant sti700-f5080.pdf (Objet application/pdf) [En ligne]. Disponible sur : < http://www.techniquesingenieur.fr.ezproxy.unilim.fr/res/pdf/encyclopedia/ti700-f5080.pdf > (consulté le 18 août 2011)

[85] Zamorano, J. Carraghénanes: agents gélifiants, épaississants et stabilisants. Techniques de l'ingénieur. Agroalimentaire, 3(F5080). 2006

[86]Benkiar A., La formulation et la caractérisation physico-chimique et rhéologique, mémoire en génie de procédé .Université de Médéa, 2002.

[87] Toumis. S, BoukhelkhalL.A Synthèse et caractérisation physicochimique d'un biopolymeres », Mémoire de Master en Chimie pharmaceutique, Université de Médéa, 2018.

[88]Wuryandari .T, **Sugihartini .N, and Kintoko .K,** "Emulgel Formulation of Purified Extract of Moringa (Moringa oleifera L.) Leaf," FMI, vol. 55, no. 1, p. 17, Apr. 2019,

[89] Seta, L. Baldino .N, Gabriele .D, Lupi. F. R., and de Cindio .B, "The influence of carrageenan on interfacial properties and short-term stability of milk whey proteins emulsions," Food Hydrocolloids, vol. 32, no. 2, pp. 373–382, 2013.

[90] Marshall, T. C., Slate, J. B. K. E., Kruuk, L. E. B., & Pemberton, J. M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. Molecular ecology, vol7pp 639-655. 1998.

[91] Pharmacopée européenne 2010