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 Macromoléculaire

Par :

HAMMAME Mohammed Elamine

GUETTAF Belabes

Thème :

Evaluation des propriétés physico-chimiques d'une matrice à base de biomatériaux

Soutenu publiquement le : 13/06/2019

Devant le jury composé de :

FARCH Sabrina	(MCB)	Président
EULDJI Amel	(MAB)	Examinateur
GASMI Sara Nawel	(MCB)	Encadreur

Année universitaire : 2018/2019

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تصرف مستحلب من نوع زيت في الماء مستقر بتشتت الغروي مائي مشكلة من معقد متضاعف الكتروليتي الأغار و جيلاتين. تم تحديد درجة الحموضة المناسبة لتشكل المعقد حول 3,81 ثم تحضير مجموعتين من المحاليل بالتركيزات التالية 0,2, 0,5, 0,7, 1, 1,2 و 1,5 غ/ل للأغار و الجيلاتين , كانت قيمة الناقلية و درجة الحموضة ثابتتين للمجموعتين و ثبات نسبة العكورة لمحاليل الجيلاتين و ارتفاعها لمحاليل الأغار بسبب تشكل لولبيات مزدوجة أثناء البرود.تم إعداد مجموعة من المحاليل بتركيزات متزايدة لمعقدات الأغار/الجيلاتين بنفس التركيزات السابقة, و كانت الناقلية أقل من تلك الموجودة في المحاليل المنفصلة بسبب نقص الأيونات في المحلول, و كانت نسبة الحموضة ثابتة وزادت نسبة العكورة بسبب تشكل راسب.بعد تحديد التركيز في 1غ/ل, تم إعداد مجموعة من المحاليل للبوليمارات الحيوية بنسب متزايدة من الأغار 10,25, 50, 75 و 90 ٪, ازدادت درجة عكورة المجموعة تدريجيا ثم ثبت بنسبة 50٪ أغار, لذالك تم اختيار صيغة 50٪ 1غ/ل للجزء التالي.

تم تحضير مجموع من المستحلبات بنسب متزايدة من الأطوار المائية و الزيتية حسب النسب التالية:50،40،20، 60 و 80٪ من الطور المائي حيث تم تقسيمها إلى مجموعتين من المستحلبات تبقى في درجة حرارة الطبيعية وعند 4 درجات مئوية, القياسات الأولية لنسبة الحموضة كانت مشابهة للقيمة المثالية, الناقلية انخفضت مع انخفاض ارتفاع نسبة الطور الزيتي, و انخفضت نسبة اللزوجة مع ارتفاع سرعة الدوران, حيث أظهرت سلوك للسوائل الغير النيوتونية.

تمت مراقبة ثبات المستحلبات لمدة 30 يومًا،حيث كانت الناقلية ثابتة دون ظهور انقسام أو انعكاس الأطوار،وأظهرت المجموعة الأخرى انخفاض الناقلية بسبب تأثير درجة الحرارة.امتصاصية عينة المستحلب(80%طور مائي و 20%طور عضوي)F1 ذات درجة الحرارة الطبيعية أظهرت انخفاضا سريعا خلال الأيام العشرة الأولى ثم ثبتت لباقي مدة المراقبة, فاستنتجنا أنها اقل المستحلبات استقرارا.القيمة المنخفضة لامتصاص عينة المستحلبات F3(50%طور مائي و 50%طور عضوي) و (60%طور مائي و 40%طور عضوي)F2 ذات درجة الحرارة 4 درجة مئوية تدل على تحلل خلال الأيام القليلة الأولى بسبب درجة الحرارة الغير اللائقة لتشكل المذيلات.بعد عملية الطرد المركزي لعينات المستحلبات ذات درجة الحرارة الطبيعية أظهرت انخفاض سريع للامتصاص بعد اليوم ال23 بسبب تجلط قطرات الزيت و الانقسام بسبب الطرد المركزي.لم يتم إجراء القياسات للمستحلبات ذات درجة الحرارة 4 درجة مئوية بسبب نقص المادة و التحلل.

يمكن الاستنتاج أن أكثر صيغ المستحلبات استقرارا هما الصيغتان F2و F3ذات درجة الحرارة الطبيعية لمدة لا تقل عن 30 يوما.

الكلمات الدالة: أجار ، جيلاتين ، مركب متضاعف الكتروليتي ، مستحلب.

Résumé

Le but de ce travail est d'étudier le comportement d'une émulsion de type huile / eau stabilisée par une dispersion colloïdales aqueuse formée d'un complexe polyélectrolyte de AGR/GLT. La valeur de pH idéal a été déterminée autour de 3,81 ensuite la préparation de deux ensemble de solutions de concentrations suivantes: 0,2, 0,5, 0,7, 1, 1,2, 1,5 $g.L^{-1}$ pour l'agar et gélatine, conductivité et pH étaient stables pour les ensembles et la stabilité de la turbidité des solutions gélatine et son augmentation pour les solutions agar à cause de la formation des doubles hélices durant le refroidissement. Un ensemble de concentrations croissantes de complexes AGR/GLT a été préparé avec la même concentration qu'auparavant, la conductivité était inférieure à celle des solutions séparées en raison du manque d'électrolytes dans la solution et le pH était stable, et la turbidité accrue en raison de la formation d'agrégats insolubles. Après avoir fixé la concentration à $1g.L^{-1}$, on a préparé un ensemble de solutions à proportion croissante de biopolymère selon les proportions suivantes : 10, 25, 50, 75 et 90% en AGR, la turbidité de l'ensemble a augmenté progressivement avant la stabilisation à la solution 50% d'agar, donc la formule à 50% d'agar $1g.L^{-1}$ a été choisie pour la partie suivante. Un ensemble d'émulsions de proportions de phase aqueuse croissante a été préparé selon les proportions suivantes : 20, 40, 50, 60, 80% (Aq), la conductivité diminue avec augmentation de la proportion de phase huileuse et diminution de la viscosité avec augmentation de la vitesse de cisaillement présentant un comportement rhéofluidifiant non newtonien, les émulsions ont été divisées en deux séries d'émulsions maintenues à la température ambiante et à 4°C.La stabilité des émulsions a été contrôlée pendant 30 jours, la conductivité était stable et ne présentait pas de déphasage ou d'inversion de phase, l'autre série a montré des valeurs de conductivité inférieures en raison de l'effet de la température, la transmittance des échantillons d'émulsion ambiante a montré une diminution rapide pour l'émulsion F1(80%phase aqueuse20%phase organique) au cours des 10 premiers jours et était donc la moins stable des trois. Les faibles valeurs de la transmittance des échantillons des émulsions F2 (60% phase aqeuse40%phase organique) et F3 (50%phase aqueuse50%phase organique) maintenues à 4°C indiquent une dégradation au cours des premiers jours en raison de la température défavorable à la formation de micelles, après centrifugation, les émulsions à température ambiantes ont présentées une diminution rapide de transmittance après le $24^{ème}$ jour à cause de la coagulation des goulettes d'huile et déphasage par centrifugation, les mesures des émulsion à 4°C ont étaient pas effectuées à cause du manque de produit et dégradation.

Ont peut conclure que les émulsions F2 et F3 sont les plus stables à température ambiantes pour une durée d'au moins 30jours.

Mots clés: Agar, gélatine, complexe polyélectrolyte, émulsion.

Abstract

The aim of this work is to study the behavior of oil / water type emulsion stabilized by an aqueous colloidal dispersion formed of a polyelectrolyte complex of AGR / GLT. The ideal pH value was determined around 3.81 then the preparation of two sets of solutions of concentrations: 0.2, 0.5, 0.7, 1, 1.2, 1.5 gL-1 for Agar and gelatin, the conductivity and pH were stable for the sets and the turbidity stability of the gelatin solutions and its increase for the agar solutions due to the formation of the double helices during cooling. A set of increasing concentrations of AGR / GLT complexes were prepared with the same concentration as before, the conductivity was lower than that of the separated solutions due to the lack of electrolytes in the solution, and the increased turbidity due to the formation insoluble aggregates. After setting the concentration at 1 µL-1, a set of biopolymer increasing proportion solutions was prepared in the following proportions: 10, 25, 50, 75 and 90% in AGR, the overall turbidity increased progressively before stabilization at the 50% agar solution, therefore the formula at 50% agar 1g.L-1 was chosen for the following part.A set of emulsions of increasing aqueous phase proportions was prepared in the following proportions: 20, 40, 50, 60, 80% (Aq), the conductivity decreases with increasing proportion of oily phase and decrease in viscosity with increased shear rate exhibiting non-Newtonian shear-thinning behavior, the emulsions were divided into two sets of emulsions held at room temperature and at 4 ° C. The stability of the emulsions was monitored for 30 days, the conductivity was stable and did not show phase shift or phase inversion, the other series showed lower conductivity values due to the effect of temperature, the transmittance of ambient emulsion samples showed a rapid decrease for the F1 emulsion (80% aqueous phase 20% organic phase) during the first 10 days and was therefore the least stable of the three. The low values of the transmittance of the samples of the F2 emulsions (60% phase 40% organic phase) and F3 (50% aqueous phase 50% organic phase) maintained at 4 ° C indicate a degradation during the first days due to the unfavorable temperature. After centrifugation, the emulsions at room temperature showed a rapid decrease in transmittance after day 24 due to the coagulation of the oil pan and phase shift by centrifugation, the emulsion measurements at 4 ° C. were not performed due to lack of product and degradation.

It can be concluded that the emulsions F2 and F3 are the most stable at room temperature for duration of at least 30 days.

key words: Agar, gelatin, polyelectrolyte complex, emulsion.

Dédicaces et remerciements

Nous dédions ce travail modeste à nos **parents** bien-aimés afin qu'ils puissent être fiers de nous et de notre dur labeur au cours des années qui s'achèvent glorieusement, car ce n'est qu'avec leur amour et leur soutien que nous avons réussi jusqu'à présent.

Sans oublier bien sûr nos **frères** et **sœurs** bien-aimés, **membres de la famille** et amis proches qui nous ont accompagnés tout aussi souvent

Et le dernier mais non le moindre, la fondation et notre travail et nos efforts, notre cher conseiller et guide: **GASMI Sarah Nawel**, qui nous a aidés tout au long du travail et nous a permis de terminer notre parcours universitaire ainsi que tous les enseignants et membres du jury : **FARCH Sabrina et EULDJI Amel**

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de physico-chimie de la faculté des sciences à l'université de Médéa,

Alors, merci beaucoup aux **ingénieurs et personnels de laboratoire**.

Sommaire

Résumé

Dédicaces et remerciements

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des symboles

Liste des abréviations

Introduction générale……..……1

Chapitre I : Généralités sur l'émulsification

1. Emulsification……....3

1.1. Généralités sur l'émulsification……...3

1.1.1. Définition…….3

1.1.2. Classification des émulsions.....5

1.2. Emulsifiants…….……9

1.2.1. Définition d'un émulsifiant…….……9

1.2.2. Structure d'un émulsifiant…….….10

1.2.3. Principe de fonctionnement de l'émulsifiant….……11

1.3. Stabilité des émulsions……..13

1.4. Procédé d'émulsification……..…….18

1.4.1. Etapes de fabrication d'une émulsion……...…….19

1.4.2. Emulsification par agitation mécanique……19

1.5. Technique d'analyse de la stabilité des émulsions…….…….….22

1.5.1. Analyse visuelle……..…22

1.5.2. Analyse granulométrique……..……23

1.5.3. Comportement rhéologique……...……25

Chapitre II : Généralités sur l'agar et la gélatine

1. Généralité sur l'agar…….28

1.1. Définition de l'Agar……28

1.2. Histoire de l'Agar……..…..29

1.3. Sources de l'Agar……....30

1.3.1. Algues sources de l'Agar…….……30

1.3.2. Agar dans les parois des algues……...……..31

1.4. Structure chimique de l'Agar…….……32

1.4.2. Agaropectine…….32

1.4.3. Composants inorganiques de l'agar……..33
1.5. Gel de l'agar……33
1.5.1. Gélification de l'agar…….33
1.5.2. Propriétés du gel agar……36
1.6. Applications de l'Agar……38
1.6.1. Industrie agroalimentaire……..……..…38
1.6.2. Biotechnologie…….…40
2. Généralités sur la gélatine……..……..43
2.1. Définition de la gélatine……..……43
2.2. Composition chimique de la gélatine…….……43
2.3. Transformation du collagène en gélatine……..……...…44
2.4. Structure moléculaire de la gélatine…….……...45
2.5. Gel de la gélatine…….…46
2.6. Propriétés physico-chimiques de la gélatine……..……..…47
2.6.1. Point isoélectrique…….……...48
2.6.2. Solubilité et gonflement……...49
2.6.3. Viscosité…….……..…49
2.6.4. Pouvoir gélifiant ou force de gel…….……..…50
2.7. Critères de choix de la gélatine en chimie pharmaceutique…….……..53
2.7.1. Pouvoir épaississant ……..53
2.7.2. Pouvoir filmogène …….…….…..53
2.7.3. Pouvoir émulsifiant ……..53
2.7.4. Pouvoir foisonnant …….…..53
2.7.5. Pouvoir stabilisant ……..…..53
2.7.6. Pouvoir moussant ……...…..54
2.8. Applications pharmaceutiques……..……..……..54
2.9. Exemples des applications……54
2.9.1. Capsules de gélatine……..…….54
2.9.2. Substituants du plasma…….…….……55
2.9.3. Encapsulation des vitamines…...……..55
Chapitre III : Partie expérimentale
1. Introduction…….…56
1.1. Matériel utilisé…….……..56
1.2. Produits utilisés…….……....57

2. Phase préliminaire……..…..58
2.1. Analyses Infra rouge pour l'Agar, la gélatine et le complexe AGR/GLT...58
2.1.1. Principe…….……..….58
2.1.2. Mode opératoire…….……59
3. Caractérisation des biomatériaux…….…61
3.1. Dosage ph-métrique de l'Agar…….……..…61
3.2. Dosage pH-métrique de la gélatine…….……..62
4. Concentration optimale d'Agar et de gélatine…….…….65
4.1. Préparation de la gamme de concentration de l'Agar…….……..…65
4.1.1. Mesures conductimétriques des solutions AGR……..…67
4.1.2. Mesures pH-métrique des solutions AGR …….……68
4.1.3. Turbidité des solutions AGR…….…..68
4.2. Mesures pour les solutions GLT……...……69
4.2.1. Mesures conductimétriques des solutions GLT……..……69
4.2.2. Mesures pH-métriques pour les solutions GLT……..69
4.2.3. Mesures de turbidité des solutions GLT……...……..70
4.3. Préparation de la gamme de concentrations AGR/GLT……..…….…71
4.3.1. Mesures conductimétriques des mélanges AGR/GLT……..…..……71
4.3.2. Mesures pH-métrique des mélanges AGR/GLT……..…..….72
4.3.3. Mesures de turbidité des mélanges AGR/GLT……..…….73
4.4. Mesures de turbidité des solutions pourcentages mélangées AGR/GLT…..74
5. Phase de préparation des émulsions…….....75
5.1. Préparation de la gamme des émulsions…….……..76
5.2. Analyses physico-chimiques des émulsions……...……78
5.2.1. Paramètres physico-chimiques initiaux des émulsions fraiches……....79
5.2.2. Mesures de la viscosité apparente des émulsions les plus stables……80
5.2.3. Mesures conductimétriques des émulsions……....81
5.2.4. Mesures quotidiennes de transmittance des sols des émulsions……...84
5.2.5. Mesures hebdomadaires de transmittance des sols des émulsions…..86
Conclusions générale
Références bibliographiques

Liste des figures

Fig.1. Schéma simple du principe d'émulsion.....4
Fig.2. Mayonnaise est faite en combinant du jus de citron ou du vinaigre avec des jaunes d'œufs.....5
Fig.3. La lumière brille à travers une solution d'hydroxyde de sodium (à gauche) et un mélange colloïdal. La taille des particules colloïdales donne l'impression que le mélange, qui n'est ni une solution ni une suspension, est trouble.....5
Fig.4. Schéma simplifié des types d'émulsion.....6
Fig.5. Schéma représentant la différence de taille entre une particule de microémulsion et une particule de macroémulsion…….....7
Fig.6. Schéma représentant le phénomène de coalescence.....8
Fig.7. Gouttelette microscopiques entouré par un tensioactif.....9
Fig.8. Schéma d'une Particule dans la nanoémulsion.....10
Fig.9. Schéma de la méthode d'inversion de phase.....10
Fig.10. Principe de la fonction d'un tensioactif.....11
Fig.11. Schéma de la structure d'une molécule amphiphile (tensioactif).....11
Fig.12. (Haut)Tension de surface en fonction de la concentration d'un tensioactif. (Bas) Effet de la concentration sur le rôle d'un tensioactif.....13
Fig.13. Schéma du phénomène de coalescence, cependant, l'effet de ce phénomène peut être contré en utilisant un tensio-actif qui renforce la résistance du film interfacial afin de limiter au maximum la formation de gouttelettes.....15
Fig.14. Schéma de phénomène de sédimentation et crémage.....16
Fig.15. Micrographie de la floculation d'asphaltène d'une émulsion d'asphaltène dans le toluène et le n-heptane.....17
Fig.16. Phénomène de mûrissement d'Ostwald.....18
Fig.17. Hélice turbine de Rushton.....20
Fig.18. Principe d'un disperseur.....21
Fig.19. Dispositif rotor-stator.....21
Fig.20. Moulin à colloïde.....22
Fig.21. Composants principaux d'un moulin colloïdal.....22
Fig.22. Émulsion par techniques ultrasoniques.....23
Fig.23. Analyse visuelle d'une solution.....24

Fig.24. Schéma de principe d'une DLS« classique »....25
Fig.25. Photomicrographie d'une émulsion....25
Fig.26. Photo par MAF d'une microémulsion....26
Fig.28. Viscosimètre vibrant....27
Fig.27. Viscosimètre capillaire d'Ostwald....27
Fig.29. Rhéomètres rotatifs....28
Fig.30. Poudre d'Agar....30
Fig.31. Algues rouges *Gelidium*et *Gracilaria*....30
Fig.32. Carte de la distribution géographique des Agarophytes....33
Fig.33. Structure chimique de l'agarobiose....34
Fig.34. Structure chimique de l'agaropectine.R : H ou SO_3....35
Fig.35. Gel d'agar....36
Fig.36. Mécanisme de gélification de l'agar....36
Fig.37. (a) Représentation schématique de la structure du réseau d'agarose composée de faisceaux de doubles hélices, (b) Microphotographie de 2% en poids du gel d'agarose....37
Fig.38. Stockage et module de perte G', G'' (axe gauche) et tangente de perte (δ) = G'' / G' (axe droit) en fonction de la fréquence oscillatoire ω pour les gels d'agar-BM1 à différentes concentrations : 0.5% (a), 1.5% (b) et 3% en poids....39
Fig.39. Principales applications de l'agar....40
Fig.40. Agar utilisée pour donner un aspect gel pour les crèmes et yaourt....41
Fig.41. Utilisation de l'agar et la gélatine dans les préparations alimentaires....41
Fig.42. Boisson au jus de pamplemousse et agar....42
Fig.43. Culture bactérienne incolore sur l'agar au sang....43
Fig.44. Utilisation de l'agar comme excipient dans les comprimées et les gélules....44
Fig.45. Structure fibreuse du collagène....45
Fig.46. Etapes de formation de la triple hélice de la gélatine à partir du collagène....47
Fig.47. Représentation chimique de la structure typique de la gélatine....47
Fig.48. Modèle du processus de formation du gel de la gélatine....48
Fig.49. Micrographie MEB de gélatine extraite d'écailles de poisson....49

Fig.50. (Gauche) Influence du pH sur la distribution du poids moléculaire de la gélatine, **(droite)**Influence de la température sur la distribution du poids moléculaire de la gélatine.....50
Fig.51. Effet du pH sur la distribution des charges électriques pour les types A et B de gélatine…….....51
Fig.52. Variation du gonflement en fonction du temps et en fonction de la taille des particules de la gélatine.....51
Fig.53. Effet du pH sur la variation de la viscosité pour la gélatine pure et pour la gélatine additionnée au sel.....52
Fig.54. (Gauche) Influence de la température sur la viscosité, **(droite)**Influence de la concentration sur la viscosité.....52
Fig.55. Etapes de gélification de la gélatine…….....54
Fig.56. Modèle de l'encapsulation des principes actifs par une couche d'enrobage.....57
Fig.57. Spectres FTIR de : (haut) solution Agar;(milieu) solution gélatine;(bas) solution mélange 50%(Agar) 50%(Gélatine).....63
Fig.58. Dosage pH-métrique de l'Agar.....65
Fig.59. Dosage pH métrique de la gélatine.....66
Fig. 60. Taux d'ionisation des deux fonctions -COOH et -NH_2 de la gélatine GLT en fonction du pH.....67
Fig.61. Taux d'ionisation de l'agar AGR et de la fonction amine -NH_2 de la gélatine GLT en fonction du pH.....68
Fig.62. Conductivité des solutions AGR en fonction des concentrations.....70
Fig.63. pH des solutions AGR en fonction des concentrations.....71
Fig.64. Turbidité des solutions AGR en fonction de la concentration.....72
Fig.65. Conductivité des solutions GLT en fonction des concentrations.....72
Fig.66. pH des solutions GLT en fonction des concentrations.....73
Fig.67. Turbidité des solutions GLT en fonction des concentrations.....74
Fig.68. Agitateur de tubes.....75
Fig.69. Conductivité des différents systèmes étudiés en fonction de la concentration du concentration d'agar.....75
Fig.70.pH des différents systèmes étudiés en fonction de la concentration du polymère dans le milieu : AGR (rouge), GLT (vert) et AGR/GLT (bleu).....76
Fig.71. Turbidimètre**.**.....77

Fig.72.pH des différents systèmes étudiés en fonction de la concentration du polymère dans le milieu : AGR (rouge), GLT (vert) et AGR/GLT (bleu).....77
Fig.73. Turbidité des solutions AGR/GLT en fonction des pourcentages d'AGR.....78
Fig.74. Solutions d'Agar 10g.L^{-1}(gauche) et de gélatine 10g.L^{-1}(droite).....80
Fig.75. Homogénéiseur Ultra-turrax IKA T25 (gauche), tableau de vitesses de l'homogénéiseur (droite).....80
Fig.76. Emulsions préparées divisées en deux séries d'émulsions à température ambiante et à 4 ° C.....81
Fig.77. Viscosimètre rotatif utilisé dans la mesure.....85
Fig.78. Viscosité apparente en fonctions de vitesse de cisaillement pour les émulsions ambiantes.....85
Fig.79. Conductivité des émulsions ambiantes en fonction du temps (jours).....86
Fig.80. Conductivité des émulsions à4°C en fonction du temps (jours).....87
Fig.81. Transmittance des solutions des émulsions ambiantes en fonction du temps.....89
Fig.82. Transmittance des solutions des émulsions à 4°C en fonction du temps.....89
Fig.83. Transmittance des solutions des émulsions ambiantes après centrifugation en fonction du temps.....91

Liste des tableaux

Tableau.1. Classes des Tensioactifs.....12
Tableau.2. Distribution géographique de la récolte de *Gelidium* et *Gracilaria*.....32
Tableau.3. Taux des éléments inorganiques dans la cendre de l'agar.....35
Tableau.4. Classification commerciale des agars selon leur force de gel.....38
Tableau.5. Composants principaux de la gélatine.....45
Tableau.6. Nombre d'acides aminés (×1000 résidus) présents dans les deux types de gélatine et dans le collagène.....46
Tableau.7. Conditions de normalisation selon British Standard.....53
Tableau8: Matériels utilisés.....60
Tableau.9. Masses correspondantes à chaque concentration de solutions l'agar et gélatine.....69
Tableau.10. Gamme de pourcentages de solutions l'agar et gélatine étudiées.....78
Tableau.11. Pourcentages des phases aqueuses et huileuses dans les différentes formules……..….....81
Tableau.12. Résultats de mesure du pH, de la conductivité de l'ensemble d'émulsion.....83
Tableau 13 : Résultats de la méthode de trapèze de la conductivité des émulsions stockées à température ambiante et à 4°C en fonction du temps.....88
Tableau 14 : Résultats de la méthode de trapèze de la transmittance des émulsions stockées à température ambiante et à 4°C en fonction du temps.....90

Liste des abréviations

DDS : Drug **D**elivery **S**ystem.

CMC : **C**oncentration **M**icellaire **C**ritique.

HLB: Hydrophilic-**L**ipophilic **B**alance.

DLS: Dynamic **L**ight **S**cattering.

AFM: Atomic **F**orce **M**icroscope.

GCCS : **G**énéralement **C**onsidéré **C**omme **S**ure.

BS757: British **S**tandard757.

E/W: **E**au/**W**ater

H/O: **H**uile/**O**il

AGR: **A**gar.

GLT : **G**élatine.

CPX AGR/ GLT : Complexe Agar/Gélatine.

Fx : Formule /émulsions numéro x.

FNU:Formazine**N**ephelometric **U**nit.

FTIR: **F**ourier-**T**ransform **I**nfrared **S**pectroscopy

kDa: **K**ilo **Da**lton.

Ppm : Partie **P**ar **M**illion.

Mh : Masse moléculaire de la partie hydrophile.

M : Masse moléculaire de la molécule entière.

Liste des symboles

γ : Tension interfaciale O/W ($N.m^{-1}$)

r : Rayon de la gouttlette (m)

υ : Vitesse de migration ($m.s^{-1}$).

g : Accélération due à la pesanteur ($m.s^{-2}$),

Δρ : Différence entre les masses volumiques des phases ($kg.m^{-3}$),

r : Rayon de la goutte (m)

η : Viscosité dynamique de la phase continue (Pa.s)

ηc : Rhéologie de la phase continue.

G' : module de stockage.

G'' : module de perte.

δ: Tangente de perte.

ω : Fréquence oscillatoire.

S : **S**iemens.

Pa.s : **Pa**scal*__s__econde.

ΔP : Différence de pression entre intérieur et extérieur d'une gouttelette (N)

Introduction générale

Les polymères tels que les protéines et les biopolymères faisaient partie de l'industrie pharmaceutique, médicale et alimentaire depuis leur découverte, on peut citer un nombre incalculable d'applications, où l'utilisation de ces polymères domine tous les autres produits, un exemple de ces biopolymères est le collagène, utilisé traditionnellement dans les industries alimentaire et cosmétique, le collagène peut être utilisé comme biomatériau lorsqu'il est réticulé dans une solution aqueuse à 5-10%, il forme un hydrogel transparent à haute perméabilité à l'oxygène, cet hydrogel peut être transformé en lentille de contact souple [1],le collagène est également utilisé par les sociétés pharmaceutiques comme système de dilution de médicaments (DDS) pour la libération lente de médicaments. Des sociétés telles que Sumitomoopharmaceutical Co et Koken Co ont conjointement développé un DDS utilisant l'atélocollagène comme agent hémostatique sous forme de fibres et de poudre en tant que système de libération de médicaments[2]. L'agar est largement utilisé dans le domaine microbiologique en tant que milieu de culture pour pratiquement toutes les bactéries et champignons pathogènes et non pathogènes en raison de la fermeté de son gel[3], de son élasticité, de sa clarté et de sa stabilité qui le rend difficile à digérer, ainsi que de son origine végétale qui le rend une matrice naturelle non toxique pour le processus de culture[4], il est utile comme laxatif, une fois hydraté, il forme un volume lisse et non irritant dans le tube digestif[5], il est également utilisé dans la préparation d'émulsions[6], de suspensions[7] et de capsules[8].Tout cela en raison de leur compatibilité incroyable avec d'autres produits et avec le corps vivant, de leur intérêt économique ainsi que leur disponibilité qui les rendent indispensables dans le domaine industriel. Ces biopolymères, étant des polymères, sont connus sous le nom de composés polyélectrolytiques qui est une molécule possédant un grand nombre de sites ioniques, une fois dissous dans un solvant polaire tel que l'eau, les charges apparaissent sur son squelette, ces charges étant en fonction des groupes chimiques présents et le pH de la solution.

Deux de ces biopolymères, dont l'un est une protéine, sont classés parmi les polymères les plus utilisés et les plus fiables, l'un est extrait de l'algue de mer rouge, tandis que l'autre, après divers procédés chimiques, est extrait de tissus d'animaux vivants, ces polymères réputés sont: l'Agar et la gélatine. Chacun de ces polymères a ses propriétés et ses utilisations caractéristiques, mais peu d'applications combinent leurs propriétés respectives pour créer une matrice polymère qui pourrait ouvrir un nouveau champ d'activités industrielles, les crèmes et les émulsions sont une

application parfaite d'un mélange Agar/gélatine en raison de leurs excellentes propriétés aqueuses et de leur compatibilité, le but de ce travail est d'utiliser ces biopolymères pour créer une formule de crème (émulsion stable) à base de l'agar et la gélatine.

Dans le travail suivant, Noun nous intéresserons à créer une formule d'émulsion à base d'agar et de gélatine avec le procédé d'émulsification standard après une phase initiale de caractérisation des produits, ils sont ensuite soumis à une phase de test de 30 jours où nous surveillerons sa stabilité à travers diverses mesures physico-chimiques afin d'établir une formule de crème stable à base d'Agar et gélatine.

Le manuscrit de cette étude est divisé en trois chapitres: dans les deux premiers chapitres, nous étudions la technique d'émulsification et donnons des informations générales sur l'agar et la gélatine nécessaires pour mieux comprendre l'étude, le dernier chapitre comprend la phase expérimentale de l'étude contenant toutes les manipulations. , les résultats ainsi que l'interprétation et la conclusion du travail.

Chapitre I

Généralités sur l'émulsification

1. Emulsification

1.1. Généralités sur l'émulsification

1.1.1. Définition

Les émulsions sont, dans leur définition la plus élémentaire, deux liquides non miscibles rendus miscibles par un agent amphiphile et avec agitation, les deux liquides étant une phase aqueuse et une phase huileuse, le mélange résultant apparaît à l'œil nu (ou macroscopiquement) homogène, où en réalité (ou au microscope) c'est hétérogène[9].

Les émulsions résultent de la dispersion de l'un des liquides marqués "la phase dispersée" dans les deuxièmes liquides marqués "la phase continue" sous forme de gouttelettes sphériques microscopiques invisibles suspendues à l'intérieur de la phase continue.

Le processus utilisé pour créer des émulsions à partir de deux liquides est appelé "émulsification".[10]

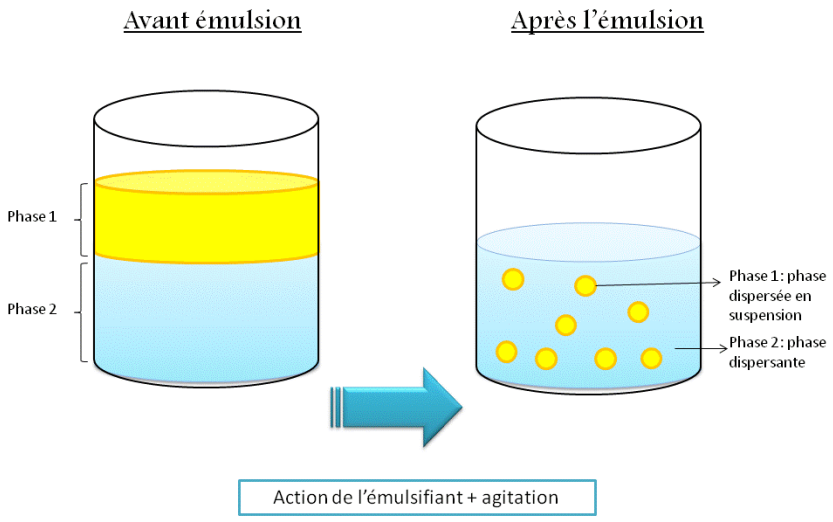


Fig.1. Schéma simple du principe d'émulsification. [11]

Le mot "émulsion" provient du mot latin "mulgeo" ou "mulgere" qui veut dire "au lait", ce mot désigne le fait que le lait est une émulsion naturelle de lipides dans l'eau, ainsi que d'autres composants non-solubles dans l'eau.



Fig.2. Mayonnaise est faite en combinant du jus de citron ou du vinaigre avec des jaunes d'œufs. [12]

Une émulsion est généralement à un état thermodynamiquement instable, bien que cinétiquement stable où l'état le plus stable d'une émulsion donnée est mesuré par la séparation macroscopique entre les deux liquides qui composent l'émulsion où la vitesse d'évolution des émulsions est presque zéro.

Les émulsions font partie d'une classe plus générale de systèmes bi-phasiques de matière appelés colloïdes, c'est un mélange dans lequel une substance de particules microscopiques insolubles dispersée dans une autre substance[13].



Fig.3. La lumière brille à travers une solution d'hydroxyde de sodium (à gauche) et un mélange colloïdal. La taille des particules colloïdales donne l'impression que le mélange, qui n'est ni une solution ni une suspension, est trouble.[14]

Les émulsions sont divisées en différents types en fonction de la quantité de chaque liquide utilisé pour le créer, en utilisant l'exemple de l'huile (phase huileuse) et de l'eau (phase aqueuse), on peut citer les différents types en modifiant la quantité de chaque liquide :

1. Si la teneur en eau dépasse la teneur en huile dans les émulsions, les émulsions obtenues sont appelées émulsions "huile dans eau", où l'eau est la phase continue.

2. Si la teneur en huile dépasse la teneur en eau de l'émulsion, il en résulte une émulsion "eau dans huile", l'huile étant alors la phase continue.

Outre le contenu d'un liquide, le nombre de liquides composant l'émulsion affecte ses propriétés. Par conséquent, nous distinguons deux types d'émulsions en modifiant le nombre de solutions huileuses et aqueuses :

1. Deux solutions aqueuses et une huile donnent une émulsion "eau dans huile dans eau".
2. Deux solutions huileuses et une solution aqueuse donnent une solution "huile dans eau dans huile".

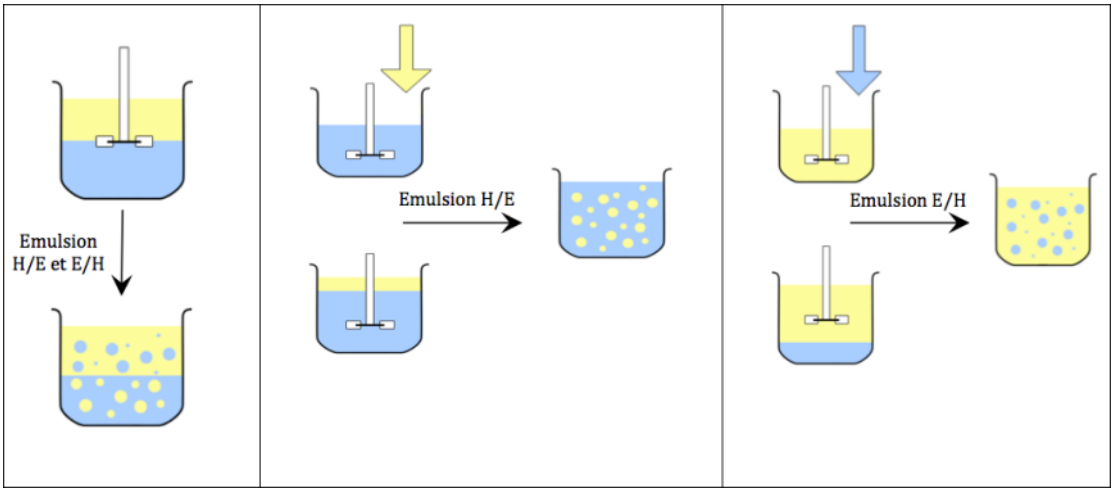


Fig.4. Schéma simplifié des types d'émulsion.[15]

1.1.2. Classification des émulsions

Les émulsions étant classées en fonction de la taille des gouttelettes ou des particules qui la composent, on peut distinguer trois classes d'émulsions : la "macroémulsion", la "microémulsion" et la "nanoémulsion", le préfixe de chaque classe se référant à l'échelle de taille des particules.

Dans chaque émulsion. Les deux mots miniémulsion et nanoémulsion sont souvent interchangeables lorsqu'ils les utilisent pour décrire des émulsions dont la taille des particules est inférieure à celle des macroémulsions.

Chaque classe est expliquée ci-dessous :

a) Macroémulsions

Les macroémulsions sont des systèmes homogènes de haute viscosité, souvent d'aspect blanc laiteux, où la taille des particules sphériques constituant cette classe d'émulsions est supérieure à 500 nm (entre 1-100 μm).

Ces émulsions restent stables en raison de leur état cinétique quelque peu stable, elles sont thermodynamiquement instables, peuvent être préparées avec des

méthodes à haute ou basse énergie et peuvent être stabilisées par des applications à énergie cinétique.

La stabilité des macroémulsions est assurée par les émulsifiant utilisés pour la préparation, où ils jouent le rôle de réduction de la tension superficielle entre les deux couches pour éviter le déphasage, les émulsions dans leur ensemble sont maintenues plus longtemps stables.[16]

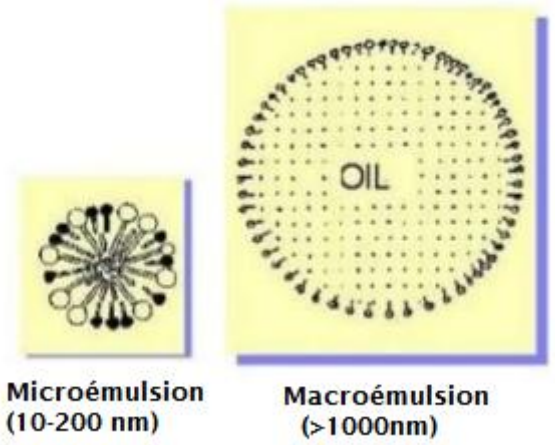


Fig.5. Schéma représentant la différence de taille entre une particule de microémulsion et une particule d'une macroémulsion.[17]

La taille des particules constituant les macroémulsions est directement liée à son apparence à l'œil humain, ayant une taille si grande, supérieure à la longueur d'onde de la lumière traversant les solutions, ce qui la rend opaque et blanche.

L'évolution d'une macroémulsion donne naissance à un phénomène qui se traduit par une augmentation progressive de la taille des gouttelettes en suspension dans les émulsions, "la coalescence" est le terme utilisé pour décrire la cause de cette augmentation de taille, un terme plus officiel est : " le murissement d'Ostwald ".

Ce phénomène est dû à la différence de pression qui existe entre les gouttelettes de taille différente dans les émulsions, ce qui conduit finalement, avec le temps, à une migration des molécules comprenant une gouttelette de taille inférieure à une gouttelette de taille supérieure qui finit par les fusionner.

La "pression de Laplace" définit la différence de pression entre l'intérieur et l'extérieur d'une gouttelette sphérique dans l'émulsion, elle est définie par l'équation suivante :

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{r}$$

γ : est la tension interfaciale O/W ($N.m^{-1}$)

r : est le rayon de la gouttelette (m)

On peut déduire de l'équation ci-dessus qu'une taille de gouttelettes affecte sa pression Laplace, c'est-à-dire que plus sa taille est petite, plus la pression Laplace est grande, et donc plus grande est sa chance de migrer et de se fondre avec une plus grande gouttelette qui conduit à un déphasage apparent de l'émulsion.

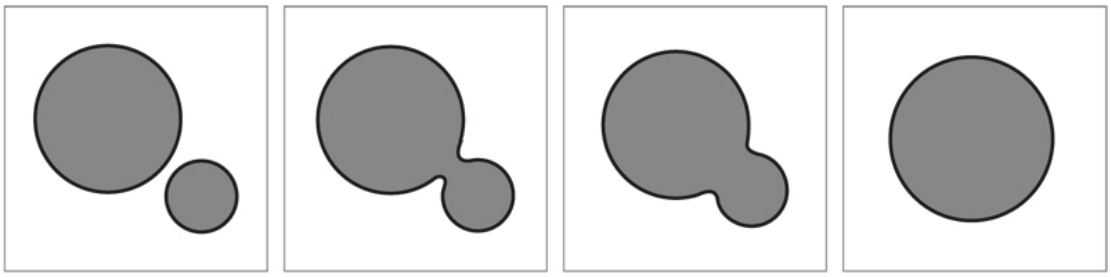


Fig.6. Schéma représentant le phénomène de coalescence.[18]

b) Microémulsion

Une microémulsion est décrite comme un liquide transparent, légèrement visqueux et thermodynamiquement stable, résultant d'une combinaison d'eau, d'huile et d'un tensioactif et d'un Co-tensioactif (alcool par exemple). Cette classe d'émulsions est composée de particules d'une taille comprise 3-50nm.Une microémulsion est généralement préparée avec une procédure à ultrasons ou une homogénéisation à haute pression.

Les microémulsions sont fondamentalement différentes des macroémulsions habituelles, cette différence est principalement due à leur stabilité thermodynamique qui leur confère une durée de vie plus longue par rapport à une macroémulsion beaucoup moins stable thermodynamiquement.[19]

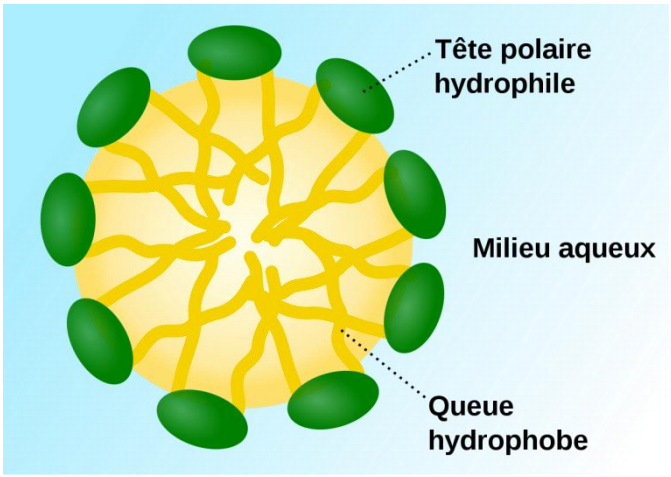


Fig.7. Gouttelette microscopiques entouré par un tensioactif.[20]

L'intérêt porté aux microémulsions tient à leur fort pouvoir de solubilisation et aux propriétés de grande surface de contact et de confinement de ce milieu finement dispersé.

Les microémulsions ont été utilisées à des degrés divers des décennies avant la connaissance précise de leur structure et de leurs propriétés dans le développement de cires liquides, d'huile de coupe pour le travail des métaux, les cosmétiques, les peintures.[21]

Parmi les applications récentes, on notera que les microémulsions sont employées pour la préparation de grains très fins bien calibrés (taille ~ 100 Å) comme des catalyseurs métalliques, des microlatex ou des colloïdes magnétiques.

Enfin, elles peuvent être utilisées pour améliorer le rendement de certaines réactions chimiques qui font intervenir des constituants non miscibles.[22]

c) Nanoémulsions

Les nanoémulsions sont décrites comme des liquides clairs ou transparents comprenant un tensioactif et un co-tensioactif ayant une stabilité thermodynamique et cinétique élevé. Il n'existe pas de définition précise de ce qu'est une échelle nanométrique pour une particule considérer comme nanométrique. 20-500nm.

Leur petite taille en gouttelettes confère aux nanoémulsions une apparence transparente ou nette à l'œil nu, elles sont également très stables à la sédimentation ou au crémage.

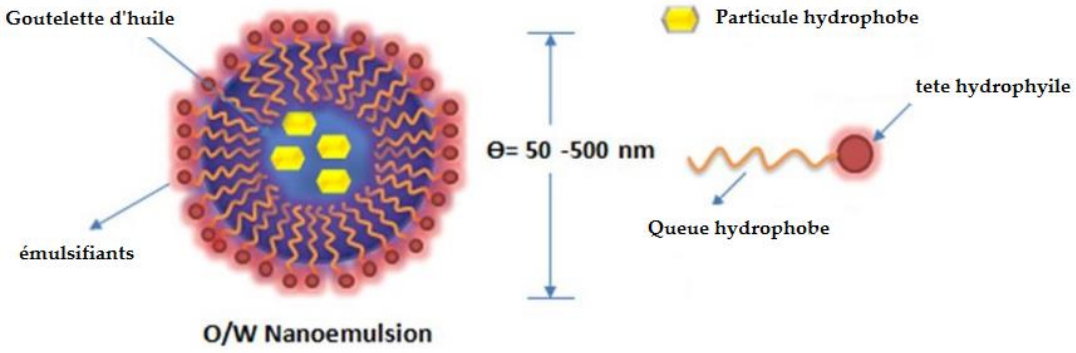


Fig.8. Schéma d'une Particule dans la nanoémulsion. [23]

La nanoémulsion, comparée aux deux autres classes d'émulsions, est généralement beaucoup plus précieuse et coûteuse en raison de sa propriété remarquable de stabilité élevée et de résistance aux processus de vieillissement et de dilution.

Le processus de préparation des nanoémulsions nécessite souvent l'utilisation de méthodes à haute énergie comme la "microfluidisation" qui est un processus d'homogénéisation, mais d'autres méthodes non conventionnelles pourraient également être utilisées avec une consommation d'énergie beaucoup plus faible pendant le processus, comme la "méthode d'inversion de phase" qui fait référence à un phénomène qui se produit lorsque l'émulsion huile dans eau agitée redevient une eau dans l'huile et inversement.

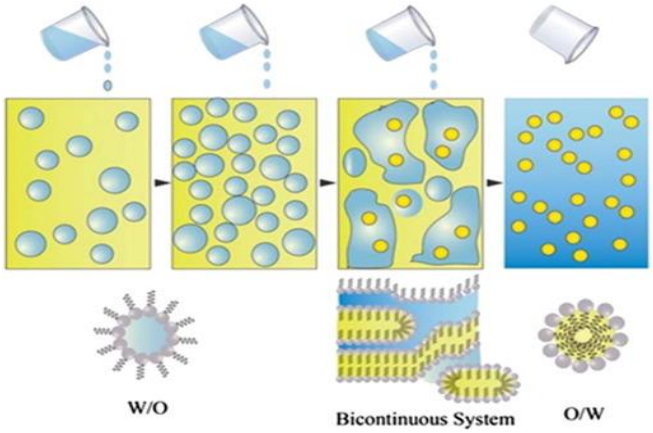


Fig.9. Schéma de la méthode d'inversion de phase.[24]

1.2. Emulsifiants

1.2.1. Définition d'un émulsifiant

Les tensioactifs, parfois appelés émulsifiants ou émulsionnants, sont généralement des composés organiques amphiphiles, c'est-à-dire qu'ils contiennent à

la fois des groupes hydrophobes (leurs queues) et des groupes hydrophiles (leurs têtes).

Les tensioactifs sont des agents de surface, ce qui signifie qu'ils ont la propriété de s'adsorber sur des interfaces entraîne une diminution de la tension intersurface entre la phase huileuse et la phase aqueuse, ce qui conduit à la fusion ou à la dispersion des deux liquides non miscibles formant une émulsion de l'un dans l'autre.

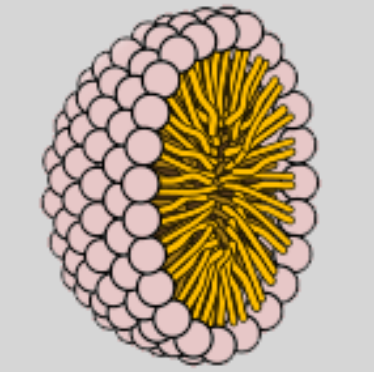


Fig.10. Principe de la fonction d'un tensioactif.[25]

1.2.2. Structure d'un émulsifiant

La structure de base de chaque tensioactif est composée de deux parties qui lui confèrent ses propriétés : une partie polaire et une partie apolaire appelées« tête » et « queue » du tensioactif.

Le côté polaire de la molécule est décrit comme hydrophile, ce qui signifie qu'il a une affinité avec l'eau (soluble dans l'eau), le côté apolaire est un groupement hydrophobe, autrement dit un lipophile, ce qui signifie qu'il a une affinité avec les substances huileuses (solubilité dans les huiles).

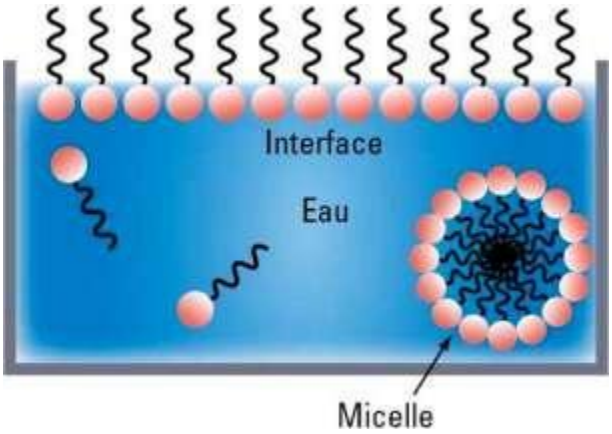


Fig.11. Schéma de la structure d'une molécule amphiphile (tensioactif).[26]

Le nombre d'atomes de carbone dans la molécule tensioactif détermine sa propriété hydrophobe, par contre le nombre de groupements de polaires de l'autre côté de la molécule détermine son caractère hydrophile, ces groupements peuvent être soit ioniques, soit non ioniques.

Les agents de surface sont classés en différentes classes en fonction de la nature de leur côté hydrophile, car c'est le côté qui donne à la molécule ses propriétés globales (tableau 1) : On distingue les tensioactifs ioniques (anioniques, cationiques, zwitterioniques ou amphotères) et les non ioniques.

Tableau.1. Classes des Tensioactifs[27]

Partie lipophile	**Tète hydrophile**
Apolaire Chaine hydrocarbonée C4 – C30	Polaire Ionique ou non ionique
Aliphatique : -linéaire -ramifiée -insaturée	Anionique : $-CO2^-M^+$ $-OSO3^-M^+$ $-SO3^-M^+$ $-(RO)n\ PO4\text{-}n^{(3-n)}\ -(3-n)M^+$
Aromatique Alklylarmoatique Origine : -Pétrochimie -huiles végétales -graisses animales.	Cationique : $-(R)nNH^{+(}4\text{-}n)\ ,\ X^-$ $-R4N^+,\ X^-$
	Zwitterionique: $-N^+\text{-----}CO2^-$ $-N^+\text{-----}SO3^-$
	Non ionique: -OR, -OH, -CO2R, -CONHR $-(CH2\text{-}CH2\text{-}O)n^-$ polyol

1.2.3. Principe de fonctionnement de l'émulsifiant

Lorsqu'un tensioactif est présent dans un mélange de deux liquides non miscibles dans une concentration adéquate, les molécules s'associent automatiquement à des agrégats appelés "micelles", ces micelles enfermeront l'un des deux liquides à l'intérieur de lui-même avec la face respective du tensioactif en contact. Avec l'un des liquides en raison de leur affinité, l'autre côté sera bien sûr en contact avec les autres liquides qui lui conviennent. La concentration exacte d'un agent tensioactif nécessaire pour former les micelles après auto-association est appelée "la concentration micellaire critique"[28]

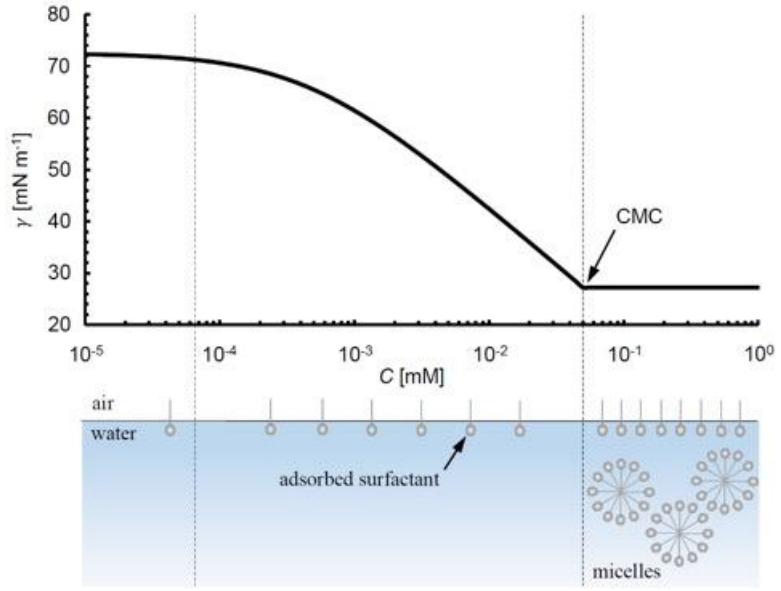


Fig.12. (Haut)Tension de surface en fonction de la concentration d'un tensioactif. (Bas) Effet de la concentration sur le rôle d'un tensioactif.[29]

La CMC est différente pour différents tensioactifs, pour un tensioactif donné, la CMC dépend de la longueur de sa chaîne lipophile ainsi que de la nature de son côté polaire, par exemple, la CMC des tensioactifs non ioniques est inférieure à celle des tensioactifs ioniques (même avec une longueur de chaîne similaire) en raison de leur haute polarité à l'état ionique. Outre la nature des composants moléculaires, la CMC dépend également de l'environnement physico-chimique de la molécule telle que la température et l'abondance d'électrolytes. Sur la base de ces conditions, différentes émulsions nécessitent le choix d'un surfactant spécifique compatible avec les composants des émulsions afin d'induire une diminution de la tension interfaciale entre les phases pour avoir une émulsion dans un état optimale.

De manière générale, l'affinité ou la compatibilité d'un tensioactif avec une phase comprenant une émulsion est la base de la préparation d'une émulsion de stabilité optimale, la phase continue dans une émulsion décide du type de tensioactif à utiliser, par exemple : Émulsion de type (H / E) où la phase continue est de l'eau, le tensioactif doit avoir un caractère très hydrophile et inversement avec une émulsion de type (E / H)[30].

La nature hydrophile et lipophile d'un surfactant est déterminée par plusieurs concepts de formulation qui nous permettent de connaître précisément les propriétés et les caractéristiques de la molécule pour les émulsions en question, l'un des concepts les plus utilisés étant le "équilibre / différence hydrophile / lipophile (HLB).

La HLB est déterminée en calculant les valeurs pour les différentes régions de la molécule, telles que décrites par Griffin en 1949 et 1954, ainsi que par d'autres comme Davis en 1957[31], la méthode de Griffin pour les tensioactifs non ioniques est décritepar l'équation ci-dessous :

$$HLB = 20 * \frac{mh}{M}$$ où :

Mh : masse moléculaire de la partie hydrophile.

M : masse moléculaire de la molécule entière.

Donnant un résultat sur une échelle de 0- 20, une valeur HLB de 0 correspond à une molécule complètement lipophile / hydrophobe, et une valeur de 20 correspond à une molécule complètement hydrophile / lipophobe. La valeur HLB peut être utilisée pour prédire les propriétés du surfactant d'une molécule :

<10 : Soluble dans les lipides

>10 : Soluble dans l'eau

1-3 : Agent anti-mousse

3-6 : émulsifiant (E/H)

7-9 : agent mouillant et épandeur

13-16 : détergent

8-16 : émulsifiant (H/E)

16-18 : solubilisant

1.3. Stabilité des émulsions

L'une des différences entre les macroémulsions et la miniémulsion est l'instabilité thermodynamique qui caractérise le premier type en raison de la diminution de l'énergie libre au cours du processus de déphasage.

Cependant, les mécanismes cinétiques impliqués dans le processus de déphasage de ces émulsions sont remarquablement lents pour pouvoir être considérés comme presque stables dans la plage de temps de leur utilisation.

Cette stabilité dépend de sa stabilité physique, chimique et biologique. Chaque domaine de stabilité comporte de nombreux phénomènes qui influent sur le processus de déphasage d'une émulsion. Ces phénomènes sont énumérés ci-dessous :

- **Stabilité physique**

L'évolution ou le processus de déphasage d'une émulsion implique de nombreux phénomènes physiques, les plus communs modifiant souvent les propriétés rhéologiques ainsi que sa granulométrie des émulsions sont énumérés ci-dessous :

a). Coalescence

Signifiant "fusion", ce problème courant résulte de la rupture du film interfacial entre les petites gouttelettes de l'émulsion donnant naissance à une grosse gouttelette après leur "coalescence".L'air interfacial entre les gouttelettes continuera à diminuer, entraînant la fusion des gouttelettes dans l'émulsion, ce qui aboutira finalement à la séparation complète d'une phase à l'autre créant l'effet que nous appelons "déphasage", créant ainsi les deux liquides non miscibles de départ.

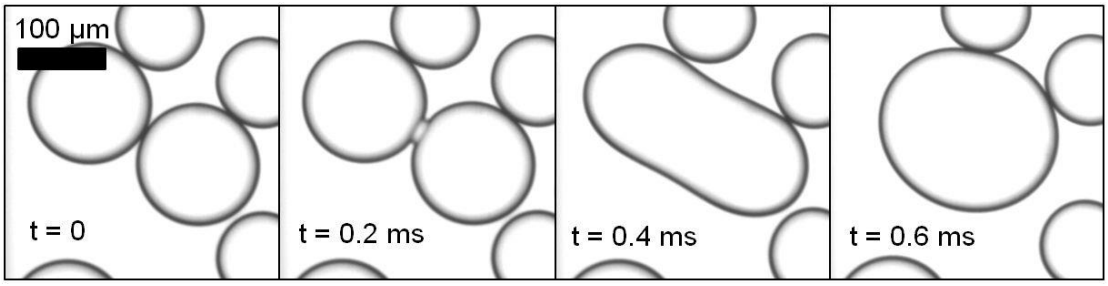


Fig.13. Schéma du phénomène de coalescence.

Cependant, l'effet de ce phénomène peut être contré en utilisant un tensio-actif qui renforce la résistance du film interfacial afin de limiter au maximum la formation de gouttelettes.[32]

d) Sédimentation et crémage

La différence de densité entre les deux phases des émulsions joue un rôle important dans le maintien de la stabilité, il existe deux situations à considérer dans une émulsion diphasique : la première est lorsque la phase dispersée monte, l'effet est appelé dans ce cas "crémage". Ensuite, lorsque la phase dispersée descend pour créer le phénomène appelé "sédimentation" (figure 14).

Ces effets sont complètement réversibles simplement en agitant l'émulsion pour redéposer les phases de l'émulsion à son état initial.

La vitesse de migration des gouttelettes v ($m.s^{-1}$) (par crémage ou par sédimentation) est décrite par la loi de Stokes :

$$v = \frac{2}{9} * \frac{\Delta \rho g r 2}{\eta c}$$ Où :

g : est l'accélération due à la pesanteur ($m.s^{-2}$),

Δρ : est la différence entre les masses volumiques des phases ($kg.m^{-3}$),

r : est le rayon de la goutte (m)

η : c'est la viscosité dynamique de la phase continue (Pa.s).

Le rayon de gouttelettes a donc l'effet le plus important sur la vitesse de la séparation gravitationnelle. La différence de densité entre les deux phases joue aussi un rôle favorable à la séparation, de l'autre côté, la viscosité de la phase continue à un effet limitant sur la séparation gravitationnelle.

Pour limiter ce phénomène, on a plusieurs possibilités :

a) Réduire la taille des gouttes de phase dispersée.

b) Ajouter un agent qui augmente la viscosité.

c) Diminuer la différence de densité entre les deux phases.

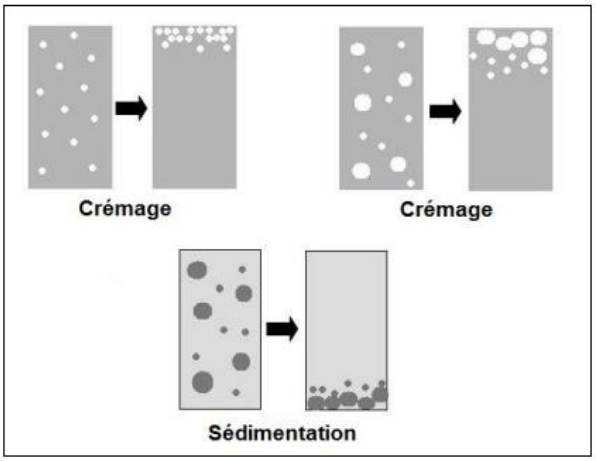


Fig.14. Schéma de phénomène de sédimentation et crémage.[33]

e) Floculation

La floculation se produit lorsque les interactions attractives des gouttelettes dans une émulsion provoquent leur agrégation, ce phénomène est dû à l'énergie résultant des forces de répulsion électrostatique entre les gouttelettes ainsi que des attractions de type Van der Walls.

Ce phénomène pourrait être réversible si les attractions sont à basse énergie, mais irréversible si les activités sont très énergétiques.

La floculation est considérée comme l'une des raisons pour lesquelles une émulsion peut perdre sa stabilité au cours de son évolution.

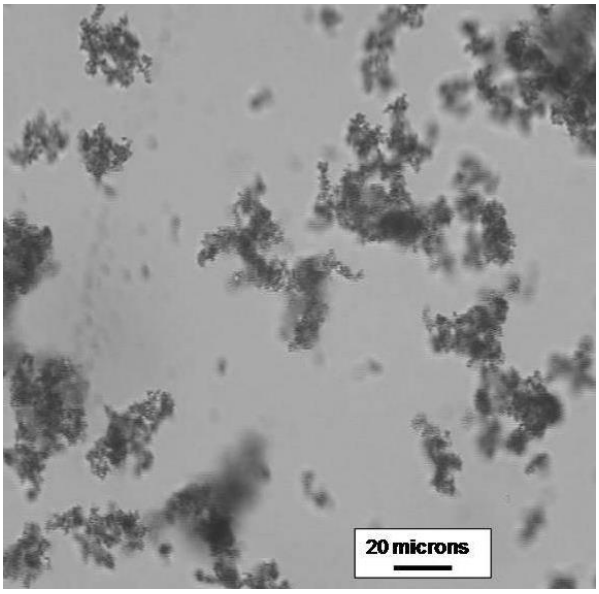


Fig.15. Micrographie de la floculation d'asphaltène d'une émulsion d'asphaltène dans le toluène et le n-heptane.[28]

Pour éviter ce phénomène, il faut :

a) Réduire les risques de crémage et de sédimentation pour maintenir les gouttelettes dans les émulsions séparées.

b) Augmenter les répulsions stériques et électrostatiques dans les émulsions en utilisant des tensioactifs ioniques

f) Mûrissement d'Ostwald ou diffusion moléculaire

Le mûrissement d'Ostwald est un phénomène qui a presque le même effet sur une émulsion que la coalescence, car, comme la dernière, de petites gouttelettes migrent vers des gouttelettes de taille plus grande où elles se confondent, créant ainsi des gouttelettes encore plus grosses. Cela continue jusqu'à ce que les deux phases se séparent. La granulométrie de l'émulsion change en raison de la modification de la taille moyenne des gouttelettes en raison de l'extinction des gouttelettes de petite taille.

Le murissement Ostwald semble très familier à la coalescence, mais ils sont différents, la condition qui se produit dans une émulsion donnée étant déterminée, les différentes structures des tensioactifs à l'interface huile / eau sont responsables de l'apparition de différents mécanismes de déstabilisation.[34]

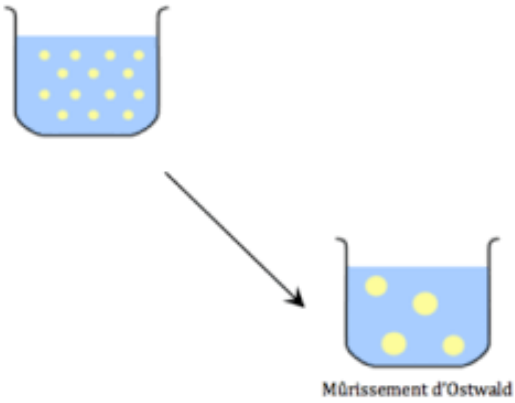


Fig.16. Phénomène de mûrissement d'Ostwald.[35]

Bien que ce phénomène ait peu ou pas d'effet dans la plupart des émulsions, il est très courant dans les microémulsions. Ce phénomène peut être évité par :

1. 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.
2. Tensioactifs faisant barrière à la diffusion de molécules de la phase dispersée.

g) Rhéologie d'une émulsion

Les propriétés rhéologiques d'une émulsion sont l'une des méthodes les meilleures et les plus utilisées pour déterminer l'influence du procédé de formulation ainsi que la qualité des produits utilisés. C'est également un excellent moyen de déterminer la reproductibilité d'une émulsion donnée, ainsi que ses paramètres de conservation.

La viscosité d'une émulsion est déterminée par la fraction la plus abondante de l'émulsion, c'est-à-dire le liquide prédominant utilisé, appelé phase continue, la viscosité d'une émulsion s'approche de celle de cette phase. Sinon, lorsque la plus grande fraction est la phase dispersée, les émulsions résultantes ont une viscosité qui augmente progressivement jusqu'à créer une crème épaisse.

Les différentes formes des gouttelettes composant l'émulsion pourraient théoriquement en déterminer la fraction. Si toutes les gouttelettes étaient sphériques, le total de la phase dispersée représenterait environ 74% du volume total de l'émulsion. En effet, les gouttelettes ont de nombreuses formes différentes et ont donc des fractions différentes ; elles peuvent même atteindre 95 à 99% de la phase dispersée. Les émulsions contenant de telles fractions sont appelées "émulsions à haute concentration" ou "émulsions en gel".

La viscosité d'une émulsion est modifiée soit en modifiant la proportion de la phase dispersée, soit en modifiant la viscosité de la phase continue, il est également possible de moduler le HLB. Ces méthodes modifient toutefois considérablement les propriétés et la stabilité de l'émulsion.

En général, la viscosité d'une émulsion dépend des paramètres suivants :

a. La fraction volumique de la phase dispersée.

b. La taille et la distribution des gouttelettes comprenant l'émulsion.

c. La tension interfaciale entre les deux phases (E / H).

d. La viscosité de la phase continue bien plus que la phase dispersée.

e. La rhéologie interfaciale.

- **Stabilité chimique**

Elle repose entièrement sur la réactivité des composants de l'émulsion, de sorte qu'aucun d'entre eux ne doit être chimiquement réactif sur l'autrepour éviter des réactions chimiques inutiles et non contrôlées qui pourraient perturber la stabilité de l'émulsion ; toute réaction chimique peut être détectée par toute modification physique visible que ce soit la couleur, l'odeur, la viscosité ou l'efficacité des composants.

- **Stabilité microbiologique**

La stabilité microbiologique d'une émulsion dépend, comme son nom l'indique, de la présence de micro-organismes dans le milieu, ce qui signifie que l'émulsion ne doit pas être un milieu de culture pour les bactéries, levures, moisissures ou autre micro-organisme qui peuvent perturber la stabilité par ingestion des composants.

1.4. Procédé d'émulsification

La procédure d'émulsification nécessite de puissantes techniques d'agitation, de nombreuses techniques actuellement utilisées utilisent l'énergie mécanique, d'autres méthodes sont également utilisées, telles que l'émulsification sonique et électrique, ces méthodes étant classées selon le mécanisme qu'elles utilisent, qu'elles génèrent un cisaillement ou le phénomène de « la cavitation » (création d'un vide)

Les deux groupes dans lesquels sont divisées les méthodes d'émulsion sont les suivants : le premier groupe comprenant les dispositifs rotor-rotor et les broyeurs

colloïdaux, le second groupe contenant les techniques d'ultrasonores et d'homogénéiseurs à haute pression.

1.4.1. Etapes de fabrication d'une émulsion

L'émulsification se décompose en deux étapes successives :

1. Dispersion-mélange :qui est essentiellement la mise en suspension des gouttelettes de la phase dispersée dans la phase continue par une technique d'émulsification adaptée
2. Homogénéisation :en d'autres termes, réduire la taille des gouttelettes en suspension pour augmenter la stabilité de l'émulsion et lui donner les paramètres souhaités.

Ces deux opérations s'effectuent dans des cuves agitées ou dans des conduites munies d'outils appelés respectivement « disperseurs » et « homogénéiseurs »

1.4.2. Emulsification par agitation mécanique

1.4.2.1. Disperseurs

Ces dispositifs créent un cisaillement qui rompt les gouttelettes en suspension et mélange l'émulsion de manière à assurer une bonne circulation[14]afin de fournir une distribution étroite, car lorsque les gouttes s'éloignent de l'agitateur elles ont tendance à coalescer.

L'un des dispositifs de dispersion les plus utilisés est la turbine Rushton, également appelée "turbine à ventes inclinées", ce dispositif crée un cisaillement puissant avec un bon taux de pompage. Lorsque la dispersion est facile à mettre en œuvre, l'utilisation de mobiles axiaux, comme les hélices est suffisante.

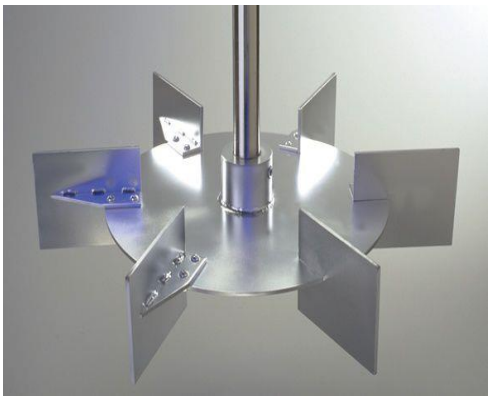


Fig.17. Hélice turbine de Rushton. [36]

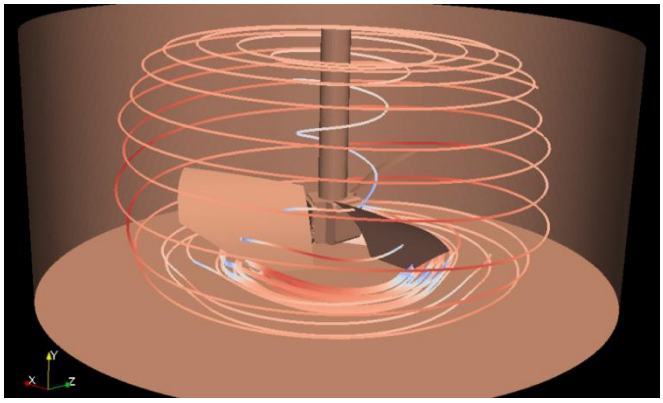


Fig.18. Principe d'un disperseur.[34]

1.4.2.2. Homogénéiseurs

Ces dispositifs sont les plus utilisés dans la création d'émulsions en raison de leur remarquable aptitude à conférer une excellente granulométrie et stabilité à une émulsion avec un fort cisaillement, la taille des gouttes passant de l'ordre de 10-100 µm à une valeur inférieure au micromètre.[37]

1. <u>Rotor-stator</u>

C'est le système le plus couramment utilisé, il est constitué d'un stator percé d'orifices ou de fentes plus ou moins serrées et d'un rotor tournant à grande vitesse (figure 19).



Fig.19. Dispositif rotor-stator.[37]

Le produit est aspiré dans la tête de travail, puis expulsé après avoir traversé les lames du rotor et du stator, où il subit de très forts cisaillements (du fait de l'entrefer entre le rotor et le stator) et de la vitesse très élevée.

2. <u>Moulin colloïdal</u>

Celui-ci, à la différence des rotors-stators, dispose d'un entrefer progressif et variable, le fluide est contraint à passer dans un espace confiné entre un stator et un

rotor (généralement de forme tronconique), tournant à très grande vitesse[38] (figure 20).



Fig.20. Moulin à colloïde[39]

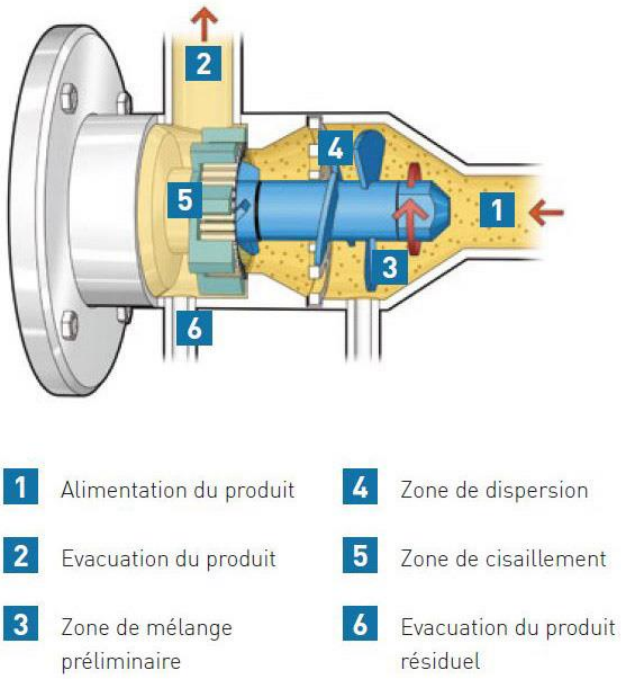


Fig.21. Composants principaux d'un moulin colloïdal[40]

Le fluide pénètre dans le système par la partie supérieure où il subit un cisaillement, puis circule dans l'entrefer, où il est soumis à des contraintes de cisaillement très fortes, provoquées par la rotation du rotor et le faible espace, il est enfin éjecté par le bas de l'appareil, les surfaces internes de l'entrefer peuvent être lisses ou rugueuses.

1.4.2.3. Procédé ultrasonore

Deux mécanismes permettent d'expliquer l'effet des ultrasons sur l'émulsification :

1. L'onde génère des instabilités à l'interface liquide-liquide, qui vont induire la formation de gouttes.
2. L'implosion des bulles de cavitation près des gouttes de liquide va casser ces gouttes et on observe une réduction progressive du diamètre moyen de l'émulsion.

On génère des ultrasons de 2 façons : par action mécanique (sifflet) ou en transformant un signal électrique en vibration de même fréquence (transducteur). Les émulsions générées par ultrasons sont très fines et très stables (figure 22), la quantité de tensioactif nécessaire est généralement plus faible qu'avec les autres techniques, la cavitation favoriserait la formation de charges qui s'absorberaient à l'interface et stabiliseraient l'émulsion.

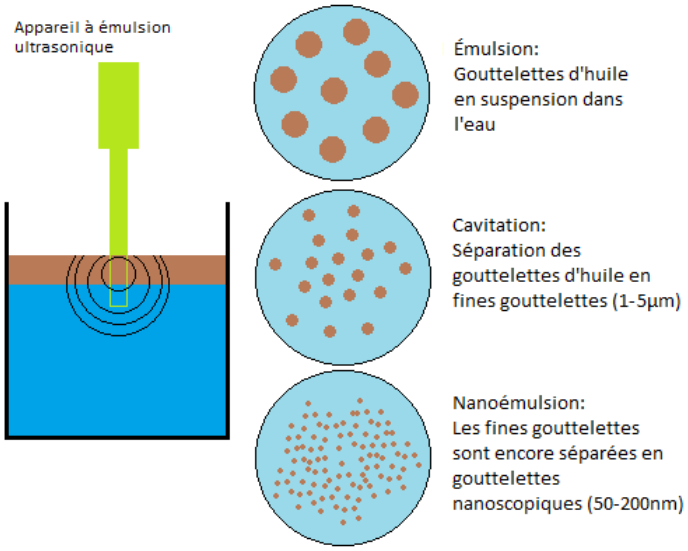


Fig.22. Émulsion par techniques ultrasoniques.[41]

1.5. Techniques d'analyse de la stabilité des émulsions

La stabilité des émulsions est analysée par plusieurs méthodes qui reposent sur les caractéristiques physico-chimiques de l'émulsion comme la granulométrie, la diffusion de la lumière, le comportement rhéologique, la couleur, la séparation des phases. On va détailler ces méthodes :

1.5.1. Analyse visuelle

Le test le plus utilisé, l'échantillon est placé dans un récipient transparent et observé à l'œil nu à intervalle de temps régulier (figure 23), le temps de mesure est directement lié à l'application et peut être de quelques minutes (vinaigrette) à plusieurs mois ou années (crème cosmétique).



Fig.23. Analyse visuelle d'une solution.[42]

Si les observations visuelles mettent en évidence une variation de l'homogénéité (changement de couleur, séparation de phase, migration…) supérieur à un niveau acceptable, alors le produit est jugé comme instable et devra être reformulé ou soumis à un changement du procédé de fabrication.

1.5.2. Analyse granulométrique

La taille et la distribution de taille des gouttelettes d'une émulsion sont des paramètres importants parce qu'elles influencent la stabilité de l'émulsion, ses propriétés rhéologiques et optiques, la libération des Principes actifs encapsulées, l'interaction des gouttelettes avec les membranes biologiques, etc.

La mesure de taille submicronique nécessite l'utilisation de techniques adaptées à la taille nanométrique telles que la diffusion dynamique de la lumière, la microscopie électronique ou la microscopie à force atomique.

1.5.2.1. Diffusion dynamique de la lumière

Le principe de la diffusion dynamique de la lumière DLS « Dynamic Light Scattering » repose sur le mouvement brownien des gouttelettes et la diffusion de la lumière par celles-ci, on peut le résumer comme suit : es petites gouttelettes se déplacent plus rapidement que les grosses gouttelettes sous l'effet du mouvement brownien, les appareils basés sur la DLS projettent un faisceau laser sur l'échantillon. Puis, des dispositifs optiques adaptés mesurent la fluctuation de l'intensité de la lumière diffusée. (Figure 24) :

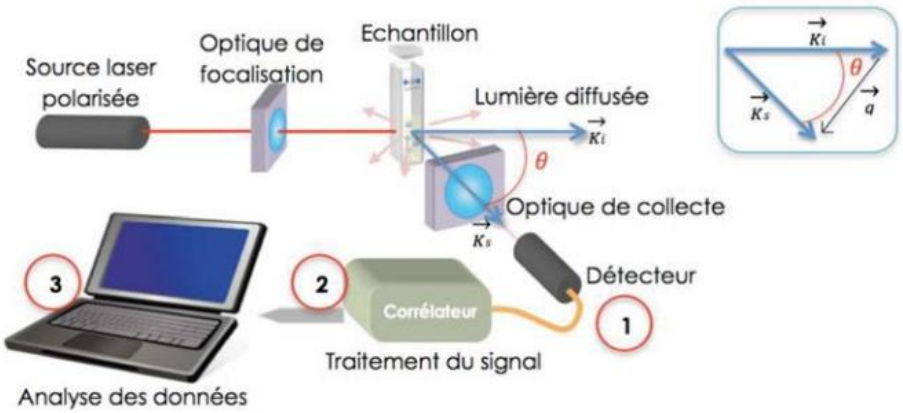


Fig.24. Schéma de principe d'une DLS« classique »[43]

La DLS nécessite de diluer l'échantillon pour éviter la diffusion multiple, ce qui peut fausser les résultats. Pour cette raison les phénomènes de déstabilisation réversibles tels que la floculation ne sont pas détectés par cette méthode.

La DLS, à cause de ses limites de résolution (2 - 3 nm) ne peut également pas distinguer les structures présentes dans les émulsions autres que les gouttelettes telles que les agrégats des tensioactifs et les micelles[44].

1.5.2.2. Microscopie électronique

Les microscopes optiques ne permettent pas de visualiser les gouttelettes de moins de 500 nm. Seuls les microscopes électroniques peuvent être utilisés pour cela. (Figure 25) :

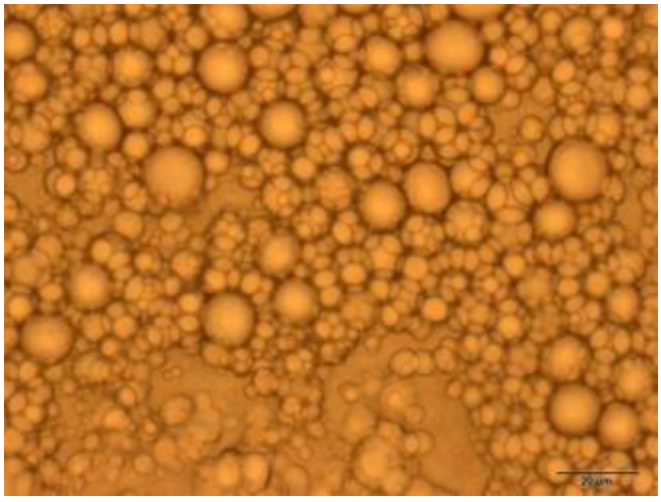


Fig.25. Photomicrographie d'une émulsion.[45]

Ces méthodes microscopiques donnent des informations sur la taille des gouttelettes et aussi sur leur morphologie et leur structure. L'analyse des émulsions par ces méthodes est faisable sans préparation préalable de l'échantillon.

Cependant, la comparaison des images avant et après une étape de préparation permet de gagner plus d'information la cryo-préparation est la méthode préférée la coloration négative avec les sels des métaux lourds tels que le tungstène est la méthode la plus simple.

Toutes ces méthodes de préparation risquent de modifier la structure de l'échantillon.[46]

1.5.2.3. Microscopie à force atomique

Le principe de la microscopie à force atomique AFM (Atomic Force Microscope) est basé sur l'interaction attraction/répulsion entre les atomes de la surface de l'échantillon et une sonde constituée d'une pointe nanométrique. Le balayage de l'échantillon par la pointe permet d'établir sa topographie sous forme d'image tridimensionnelle. La microscopie à force atomique a été utilisée avec succès pour l'analyse des émulsions[47, 48,49]

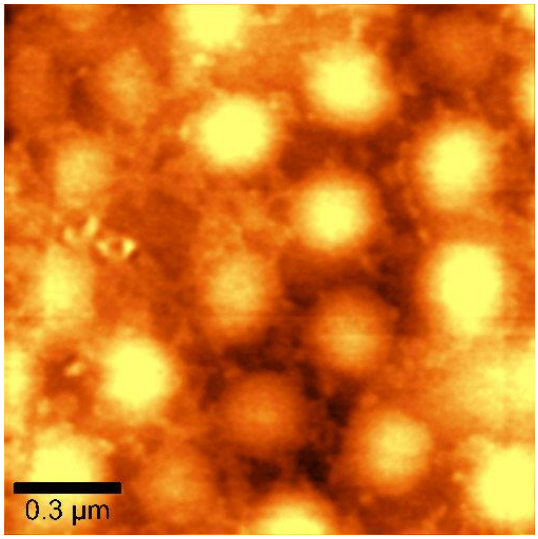


Fig.26. Photo par MAF d'une microémulsion.[50]

1.5.3. Comportement Rhéologique

Le comportement rhéologique des émulsions en général est un aspect très important de leurs propriétés et leurs applications. La rhéologie des émulsions dépend de la rhéologie de la phase continue (ηc) de la granulométrie des gouttelettes et de leurs interactions. Les émulsions présentent des propriétés rhéologiques différentes en comparaison avec des émulsions classiques ayant la même teneur en huile en raison de la très petite taille des gouttelettes[51], Cependant, les mêmes techniques peuvent être utilisées pour caractériser les émulsions classiques et nanométriques.

Différents types de viscosimètres classiques ont été utilisés pour la mesure de viscosité des émulsions tels que le viscosimètre capillaire d'Ostwald[52](Figure27), ou le viscosimètre vibrant(Figure 28).



Fig.27. Viscosimètre capillaire d'Ostwald. [53]



Fig.28. Viscosimètre vibrant[54]

Les viscosimètres classiques supposent que les émulsions sont des liquides newtoniens et permettent donc seulement de mesurer la viscosité apparente à une contrainte fixe qui n'est pas un caractère absolu. L'étude plus approfondie du comportement rhéologique des émulsions nécessite l'utilisation d'une autre gamme d'appareillages dits rhéomètres, cela permet de réaliser la courbe d'écoulement ou le rhéogramme d'une émulsion.

Les rhéomètres les plus fréquents pour la caractérisation des émulsions sont les rhéomètres rotatifs tels que le rhéomètre à cylindres coaxiaux[55] à plateaux parallèles ou à cône-plan (Figure 29).

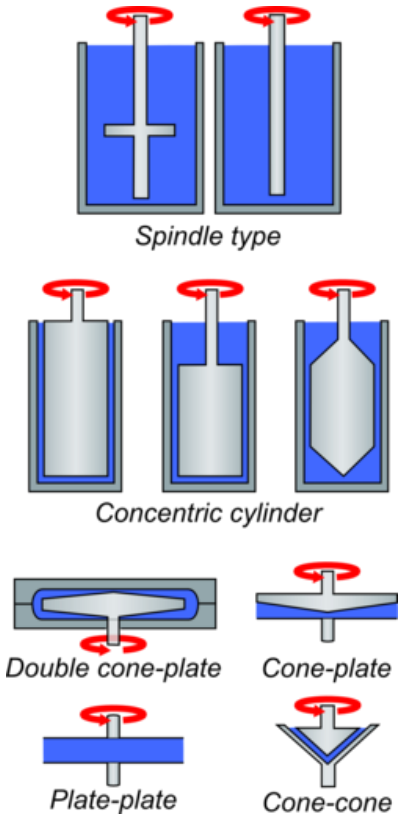


Fig.29. Rhéomètres rotatifs.[56]

Chapitre II

Généralités sur l'agar et la gélatine

1. Généralité sur l'Agar

1.1. Définition de l'Agar

L'agar, également connu sous son nom alternatif agar-agar est un produit blanc jaunâtre (figure 30), le mot « Agar » est un terme malaisien qui veut dire « algue rouge » d'où l'agar est produit, la mot « agar-agar » est utilisé pour décrire la gelée produite



Fig.30. Poudre d'Agar.[57]

L'Agar extrait des algues rouges connues sous le nom de "*Gelidium*" et "*Gracilaria*" (figure 31) de la division de "*Rhodophyta*"[58], il s'agit généralement poudre inodore et sans goût connue sous le nom de "colloïde hydrophile".

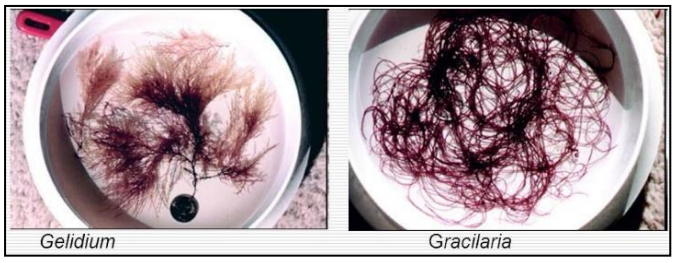


Fig.31. Algues rouges *Gelidium*et *Gracilaria.*[59]

L'agar est extrait des algues rouges car elle est abondamment présente dans la forme d'un constituant de leurs parois cellulaires contenant de l'agarose polysaccharidique avec des traces de sulfate et de calcium.

Après l'extraction des algues rouges, l'agar se présente généralement sous la forme d'un produit amorphe, translucide, inodore, qui est ensuite vendu sous forme de poudre (généralement) ou de blocs, il est isolé des algues sous forme de produit amorphe et translucide vendu sous forme de poudre ou blocks.

La *Gracilaria* et *Gelidium* sont les algues principales utilisée pour la production commerciale de l'Agar, ces algues sont appelées « agarophytes » et appartiennent au phylum des *Rhodophyta* (algues rouges) [60], la *Gracilaria* est devenue la plus préférée à cause de son succès de culture au chili et en Indonésie[61], la Gelidium continue d'être l'algue favorable pour la production de l'agar bactériologique et de l'agarose.

L'Agar est insoluble dans l'eau froide mais soluble dans l'eau bouillante. Une solution à 1,5% est limpide et, une fois refroidie à 34-43 C°, elle forme un gel qui ne fond pas en dessous de 85 °C.[62]

1.2. Histoire de l'Agar

La découverte de la méthode d'extraction de l'agar et purification a été par hasard au milieu du 17ème siècle au japon, par Minoyatarazamon, Il est également connu sous le nom de « Kanten »(japonais :寒天), c'est qu'a la fin du 19ème siècle que l'agar est connu dans le monde occidental, sa découverte a précédé l'alginate et le carraghénane d'environ 200 ans[63].

La production d'agar par les techniques modernes de congélation industrielle a été initiée en Californie par Matsuoka en 1921 et 1922 aux États-Unis. La méthode de fabrication actuelle par congélation est la méthode classique et dérive de la méthode américaine mise au point en Californie au cours des années précédant la Seconde Guerre mondiale par H.H. Selby et C.K. Tseng.

Le seul producteur de l'Agar jusqu'à la Seconde Guerre mondiale était l'industrie japonaise, dotée d'une structure industrielle très traditionnelle reposant sur de nombreuses petites usines (environ 400 usines étaient exploitées simultanément). Ces usines étaient familiales et affichaient un taux d'emploi élevé, la production n'étant pas mécanisée. Pour cette raison, et malgré l'installation récente de certaines usines de taille moyenne à petite, le Japon n'exploite que récemment des installations industrielles modernes.

Aujourd'hui, la récolte de l'Agar se localise principalement en Espagne, Portugal et au Maroc, mais aussi de quantité moindre en Corée du sud, japon et en Mexique.

Tableau.2. Distribution géographique de la récolte de *Gelidium* et *Gracilaria*[64]

Localisation géographique	Poids sec (t)
Gelidium	
Mexique	800
Espagne/Portugal/France	4000
Maroc	6000
Japon/Corée/Indonésie	4000
Total	14800
Gracilaria	
Espagne/Portugal	200

Namibie	300
Chili/Pérou/Argentine	30000
Indonésie/Chine/Vietnam	27000
Total	57500

1.3. Sources de l'Agar

1.3.1. Algues sources de l'Agar

Les différentes algues utilisées comme matière première dans la production de l'Agar ont donné naissance à des produits présentant des comportements différents, même si elles peuvent toutes être incluses dans la définition générale de l'agar. Pour cette raison, lorsque l'agar est mentionné, il est habituel d'indiquer sa matière première originale car cela peut affecter ses applications.

Nous parlons donc de l'Agar *Gelidium*, de l'agar *Gracilaria*, de l'agar *Pterocladia*, etc. Pour décrire le produit avec plus de précision, il est courant de mentionner l'origine des algues, car l'agar *Gracilaria* du Chili possède des propriétés différentes de l'agar *Gracilaria* d'Argentine et de l'agar *Gelidium* de L'Espagne diffère de l'agar *Gelidium* du Mexique.

À l'origine, l'Agar *Gelidium* constituait ce que nous considérons comme un véritable agar, en attribuant le terme « agaroïdes » aux produits extraits d'autres algues. Bien que ces agaroïdes n'aient pas les mêmes propriétés que l'agar *Gelidium*, ils peuvent être utilisés comme substituts dans certaines conditions. Après la Seconde Guerre mondiale, l'industrie japonaise a été obligée d'utiliser des quantités croissantes de matières premières autres que le traditionnel *Gelidium pacificum* ou *Gelidium amansii* en raison de la demande croissante de l'industrie alimentaire internationale.

Une amélioration de la résistance du gel de l'agar été obtenue grâce aux améliorations apportées au processus industriel au cours des années 50, et les différences entre l'agar *Gelidium*original et les agaroïdes alors disponibles sont devenues plus nettes. La force du gel est passée de 400 g / cm^2 (maximum pour l'agar naturel produit par l'industrie artisanale) à 750 g / cm^2 ou plus pour l'agar produit de manière industrielle. Les données sur la force du gel se rapportent à la méthode Nikan-Sui qui a remplacé la méthode primitive de Kobe utilisée dans le passé. La méthode Nikan est plus précise et plus facile à reproduire.

De nos jours, l'industrie mondiale de l'agar utilise essentiellement les algues suivantes :

1. Différentes espèces de *Gelidium* récoltées principalement en Espagne, au Portugal, au Maroc, au Japon, en Corée, au Mexique, en France, aux États-Unis, en République populaire de Chine, au Chili et en Afrique du Sud.

2. *Gracilaria* de différentes espèces récoltées au Chili, Argentine, Afrique du Sud, Japon, Brésil, Pérou, Indonésie, Philippines, République populaire de Chine.

3. *Pterocladia capillace*des Açores (Portugal) et *Pterocladia lucida* de la Nouvelle-Zélande.

4. *Gelidiella* différentes espèces récoltées en Egypte et l'inde.

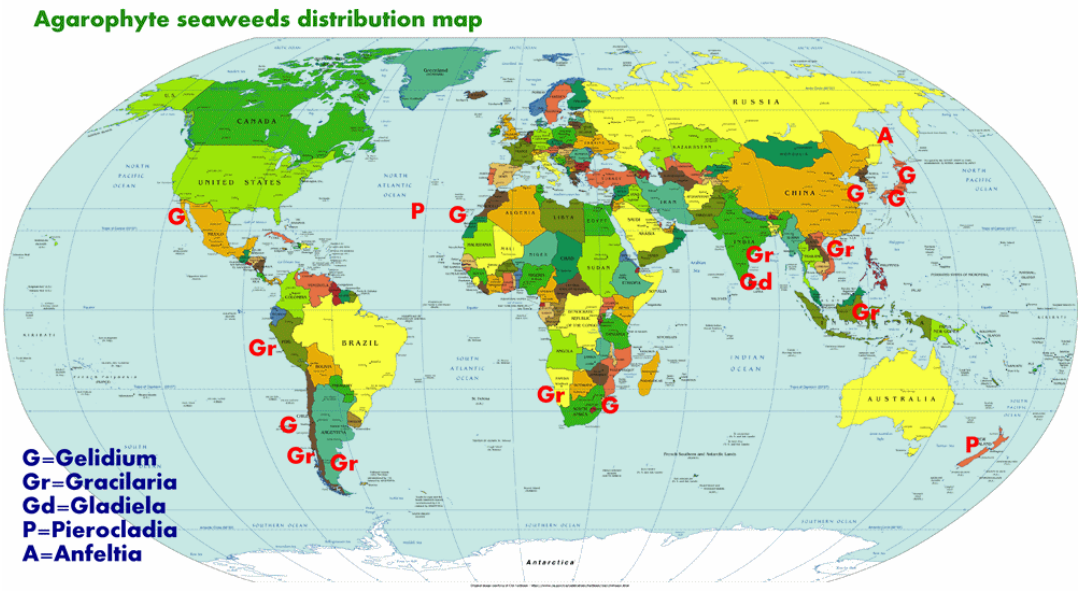


Fig.32. Carte de la distribution géographique des Agarophytes.

1.3.2. Agar dans les parois des algues

Comme les algues vertes et brunes et les plantes supérieures, la paroi des algues rouges est composée des polysaccharides, des protéoglycans, des peptides, des protéines, des lipides et des éléments inorganiques [65].

La paroi est constituée de deux phases :

1. La phase cristalline : elle est constituée des microfibrilles de cellulose qui joue un rôle structural important en permettant à l'algue de résister à l'hydrodynamisme du milieu.

2. La phase amorphe : elle représente la majeure partie du poids sec des algues, elle est composée de polysaccharides anioniques portant des groupements sulfates (carraghénane, agars, flucanes et groupements carboxylés (alginates) [7].

L'Agar est présent dans tous les tissus, aussi bien dans les cellules corticales que dans celles de la zone médullaire[66].

1.4. Structure chimique de l'Agar

L'Agar est constitué d'un mélange de deux polymères de galactose : l'agarose qui est un polymère fortement gélifiant, et l'agaropectine, qui est un polymère faiblement gélifiant[67].

Ces deux monomères sont liés en une séquence par une liaison oxygène formant la molécule d'agar[66].

1.4.1. Agarose

L'agarose est le constituant majoritaire de l'agar avec un pourcentage entre 50-90%[70], c'est un polymère linéaire composé d'unités d'agarobioseliée en (1-3) (figure 33), ces unités sont β–d-galactose lié en (1-4) au 3,6-anhydro-α-L-galactose[68]. Le D-xylose et 6-O-galactose entrent également dans la composition de l'agarose avec des concentrations variables selon l'espèce[70].

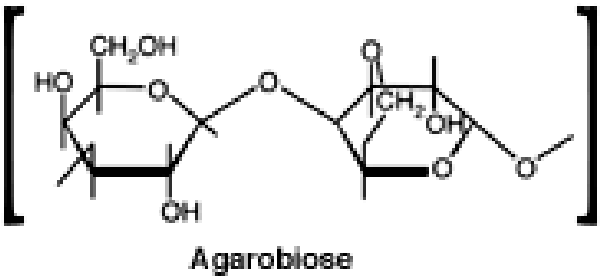


Fig.33. Structure chimique de l'agarobiose.[71]

Le pourcentage de l'agarobiose est influencé par les facteurs génétiques et écologiques (disponibilité des nutritifs, composition du substrat et l'hydrodynamisme de l'habitat.[68], son poids moléculaire de l'agarose est environ 120KDa équivalant à une chaine de 400 unités d'agarose.

1.4.2. Agaropectine

L'agaropectine (figure 34) est présente en faible fraction dans l'agar, il est constitué de la même unité structurale que l'agarobiose sauf que l'agaropectine possède des chaines ou groupements latéraux qui incluent des groupements sulfates, méthyles, pyruvates, acétyl et de l'acide gluconique.

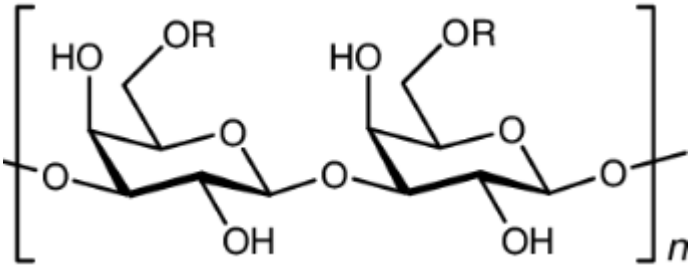


Fig.34. Structure chimique de l'agaropectine.

R : H ou SO_3.[72]

Les espèces de l'agarophytes utilisée dans la fabrication de l'agar ont généralement les substituants mentionnées, ces groupements sont influencées par le cycle de croissance de l'algue, la saison de collecte ou des facteurs écologiques, leur présence empêche l'agaropectine d'adopter une structure régulière de sorte que ce polymère ne contribue pas significativement dans la formation du gel.

1.4.3. Composants inorganiques de l'agar

L'agar est composé des éléments inorganiques et n'est pas seulement des sucres, ceci est prouvé par analyse de la cendre de l'agar qui a montré qu'il contient les éléments suivants :

Tableau.3. Taux des éléments inorganiques dans la cendre de l'agar.[73]

Elément	Pourcentage/ppm
Sulfate inorganique	1-8%
Sodium	0,6-1,2%
Calcium	0,15-0,25%
Magnésium	400-1200 ppm
Potassium	100-300 ppm
Phosphate	10-80 ppm
Fer	5-20 ppm
Manganèse	1-5 ppm
Strontium	10-50 ppm

1.5. Gel de l'agar

1.5.1. Gélification de l'agar

L'agar forme un gel thermoréversible (figure 35) dont le mécanisme de gélification est proche de celui du carraghénane, il forme un gel rigide à une concentration de 1% et c'est la fraction agarose qui est responsable de sa gélification.

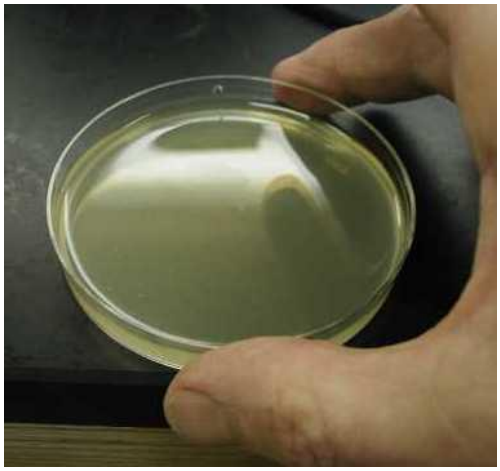


Fig.35. Gel d'agar.[74]

En solution, et à haute température, il forme de simples hélices allongées[75], ces hélices se contractent et s'associent entre elles pour former des doubles hélices de pas 1.9 nm lors de refroidissement, ce phénomène est appelé « la transition des hélices », ces doubles hélices s'agrégèrent et formant un réseau tridimentionnel[76] (figure 36).

Le réseau 3D formé est stabilisée par des liaisons hydrogènes entre les groupements hydroxyles portés par le carbone 2 de l'unité galactose, et ceux portés par le carbone 5 des unités 3,6-anhydro-galactose positionnés vers l'intérieure de l'édifice.

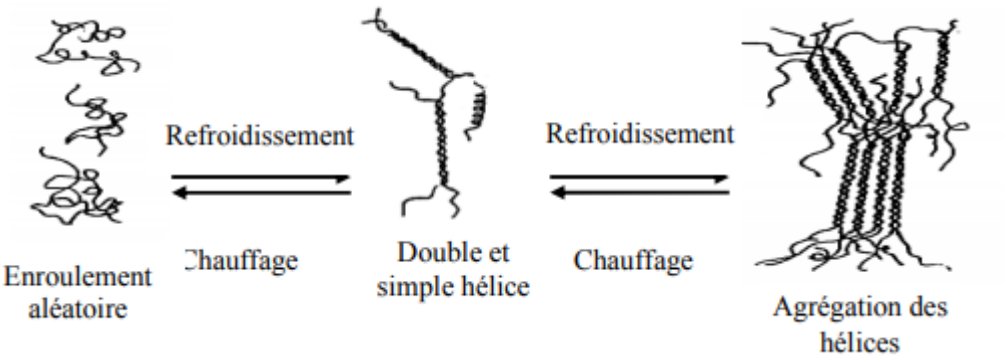


Fig.36. Mécanisme de gélification de l'agar.[77]

La gélification peut être induite par des variations de température, sans addition d'aucune autre substance. Insoluble dans l'eau froide, l'agar devient soluble dans l'eau bouillante. Une fois refroidi en dessous de la température de gélification, la Tgvarie entre 30 ° C et 40 ° C, principalement en fonction de la teneur en méthoxyle.

L'agar forme un gel thermoréversible qui ne fond pas en dessous80 ° C, un tel comportement hystérétique est reproductible et peut être répété un grand nombre de fois, La température de fusion plus élevée du gel résulte de la conformation très stable des structures ordonnées qui se forment lors de refroidissement). Notez que

l'hystérésis thermique est utilisée dans l'industrie alimentaire et rend l'agar bien plus adaptée aux applications en microbiologie que la gélatine à bas point de fusion (25 ° C à 30 ° C)[78]

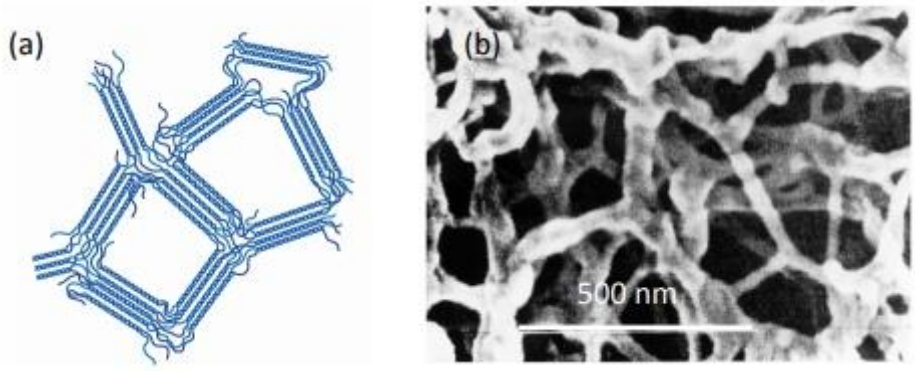


Fig.37. (a) Représentation schématique de la structure du réseau d'agarose composée de faisceaux de doubles hélices, (b) Microphotographie de 2% en poids du gel d'agarose.[79]

La gélification de l'agar (ose) commence par une séparation de phase liquide-liquide, appelée décomposition spiroïdale, qui correspond à la formation de régions riches en polymères et en solvants, ainsi qu'une modification conformationnelle des molécules d'agarose, qui s'auto-associent avec des liaisons hydrogène. Le scénario de formation exact du gel résulte d'une compétition entre ces processus distincts, qui dépend à son tour fortement de l'agarose (la concentration, le poids moléculaire de l'agarose et l'historique thermique).

La démixtion spiroïdale est privilégiée pour des concentrations d'agarose inférieures à 2% en poids, alors que la gélification se produit selon un scénario plus direct à des concentrations plus élevées. De plus, bien que la conformation exacte des molécules d'agarose au sein du réseau de gels soit encore débattue (hélices simples alignées vs doubles hélices), la microstructure des gels d'agar à une échelle plus grossière est généralement décrite comme un réseau poreux constitué de hélices d'agarose.

L'ensemble du réseau de polymères est rempli de molécules d'eau libre et les pores de la microstructure du gel présentent une large distribution de taille tandis que le maillage varie de quelques centaines de nanomètres à quelques micromètres en fonction de la concentration en agarose.

Enfin, les gels d'agar présentent une limite d'exclusion élevée, identifiée comme la plus grande taille de protéine globulaire capable de traverser le gel en

solution aqueuse. Par exemple, dans le cas de 2% en poids gel d'agarose, la limite d'exclusion est de $3,0 \times 10^7$ Da. La présence d'agaropectine réduit la limite d'exclusion car ces molécules ne participent pas au réseau de gel et ne bouchent pas les pores, ce qui explique pourquoi les gels d'électrophorèse sont préparés avec de l'agarose pur plutôt que de l'agar.

1.5.2. Propriétés du gel agar

1.5.2.1. Force du gel

La qualité de l'agar dépend par plusieurs facteurs internes et externes, interne comme le degré de polymérisation dans l'espèce utilisée, et externe comme le temps et lieu de récolte car la teneur et qualité de l'agar varie avec les saisons et l'endroit.

Cette force peut varier de 150-1200g/cm^2, seuls les *Gelidium* fournissent un gel dont la force de rupture est supérieure à 1000g/cm^2 grâce au taux élevé d'agarose, selon le tableau 4, on voit que les gels d'agar *Gelidium* correspond à 10 fois la force de gel des autres colloïdes à la même concentration.

Tableau.4. Classification commerciale des agars selon leur force de gel.[66]

Force de gel (g/cm^2)	Qualité	Espèce
1000 à 1200	EXTRA	*Gelidium sesquipedale* *Gelidium amansii*
600 à 900	HAUTE	*Gelidium matifolium* *Gelidium sesquipedale* *Pterocladia, Gelidiella*
400 à 600	MOYENNE	*Gracilaria gracilis* *Gracilariaverrucosa*
Moins de 350	Médiocre	*Gracilariaverrucosa* *Acanthopletis, porphyra*

1.5.2.2. Phénomène d'hystérèse :

Ce phénomène est décrit comme la différence entre la température de gélification et celle de fonte, pour l'agar *Gelidium*, le point de gélification est entre 28-32 C° et celui de fonte est entre 80 et 90C°, la valeur d'hystérèse est entre 50-60 C°, cette caractéristique aux solutions d'être liquides à 40C°et aux gels de rester stables jusqu'à 80C°.

L'hystérèse de l'agar est plus importante par rapport aux autres agents gélifiants à cause de la stabilité du réseau tridimensionnel[80].

Les propriétés mécaniques des gels d'agar Dans le régime de déformation linéaire, les gels d'agar présentent un module de cisaillement élastique assez

indépendant de la fréquence, comme illustré à la figure 38 pour trois gels de différentes concentrations d'agarose.

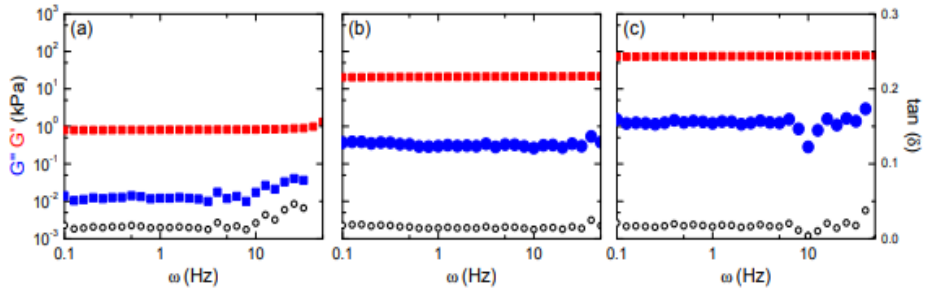


Fig.38. Stockage et module de perte G', G'' (axe gauche) et tangente de perte (δ) = G'' / G' (axe droit) en fonction de la fréquence oscillatoire ω pour les gels d'agar-BM1 à différentes concentrations : 0.5% (a), 1.5% (b) et 3% en poids.[81]

De plus, les gels d'agar se comportent comme des solides mous viscoélastiques, dont les propriétés mécaniques sont principalement déterminées par la quantité d'agarose introduite : le cisaillement élastique, le module G0 et le module élastique de compression E des gels d'agar sont proportionnels à la loi de puissance de la concentration en agarose.

1.5.2.3. Phénomène de synérèse :

C'est le processus dans lequel les gels s'affermissent, au cours du vieillissement, et exsudent une partie de la phase aqueuse emprisonnée, elle est influencée par la concentration du gel, le temps d'entreposage du gel, la force du gel et la teneur en ions sulfates.

1.5.2.4. Synergie :

La synergie est un phénomène par lequel plusieurs facteurs agissant en commun et créent un effet global. Pour l'agar, ils existent plusieurs produits qui peuvent modifier l'élasticité, sa force ou sa texture soit d'augmenter ou bloquer ces propriétés.

Une de ces produits est la gomme d'haricot de sauterelle, l'inclusion de cette gomme affect sa texture, les unités de mannane de la gomme peuvent s'aligner par des liaisons hydrogènes et produire des gels plus élastiques et plus cohésifs, ces effets existent seulement pour les gels d'agar *Gelidium.*

Une autre synergie de l'agar est obtenue avec des concentrations élevées des sucres (~ 60%), leur effet est l'augmentation de la force du gel d'agar.

1.5.2.5. Agents antagonistes de l'agar :

Certains agents tels que l'acide tannique (glucose pentadigaloyl) présents dans les fruits peut ralentir ou inhiber la gélification de l'agar. Cependant, l'effet de l'acide tannique peut être évité par l'ajout d'une quantité modérée de glycérol.

Ils existent d'autres produits qui peuvent bloquer la gélification comme : l'iodure de potassium, le thiocyanate de sodium, la guanidine et l'urée, mais ces éléments ne sont pas introduits dans les applications alimentaires.

1.6. Applications de l'Agar

L'Agar est un additif alimentaire d'usage universel « GCCS » 'généralement considéré comme sure) par la FAA (fédération américaine des produits alimentaire et médicaux) [82] L'Agar a plusieurs applications, la plus ancienne est celle en industrie alimentaire où 88% de la consommation de l'agar est consacré à ce domaine, les 18% restants sont comptabilisés par les autres applications (figure39)[66]

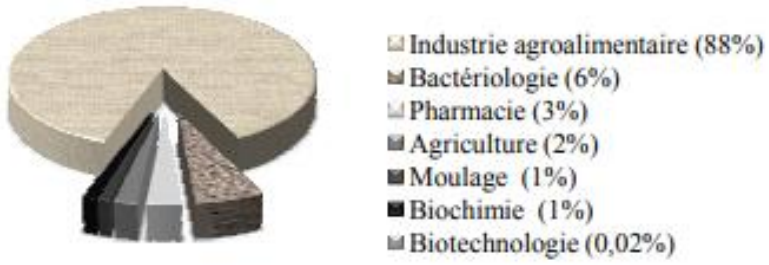


Fig.39. Principales applications de l'agar.[66]

1.6.1. Industrie agroalimentaire

En 2009, l'industrie agroalimentaire a consommé 8700 tonnes d'agar[80],l'agar a atteint une place importante dans le secteur agroalimentaire à cause de nombreux avantages qu'il présente :

1. L'agar est totalement insipide et indétectable dans les denrées alimentaires qui ont des saveurs délicates car, contrairement aux carraghénane et aux alginates, il n'a pas besoin des cations (calcium ou potassium) pour se gélifier. C'est pour cette raison que ces phycocolloides sont utilisés qu'avec les denrées alimentaires dont la saveur est forte pour masquée le gout caractéristique des cations[83].

2. Contrairement à l'amidon, l'agar est indigestible car le system digestif humaine no produit aucune agarase, qui contribue à la digestibilité de l'agar donc il n'augmente pas l'apport calorifique de l'aliment [66]

3. L'agar est résistant à l'hydrolyse à des pH normaux mais il peut être hydrolysé par l'acide à des hautes températures, dans le cas où le pH des aliments est inférieur à 5, la gélification de l'agar nécessite l'abaissement du pH juste avant le refroidissement [84].

Les applications alimentaires de l'agar concernent principalement les secteurs suivants :

- **Produits laitiers :** l'agar est utilisé pour stabiliser les sorbets et les glaces, il améliore la texture des produits laitiers comme le formage et la crème.



Fig.40. Agar utilisée pour donner un aspect gel pour les crèmes et yaourt.[85]

- **Pâtisserie :** l'agar est utilisé comme stabiliser dans les garnitures des tartes telles que les glaçages, les nappages, les mousses et les gelées, ils évitent les craquelures et donne une meilleure brillance.



Fig.41. Utilisation de l'agar et la gélatine dans les préparations alimentaires.[86]

- **Boissons :** l'agar est utilisé dans le collage des vins, des jus de fruits et des vinaigres, il est plus efficace que la gélatine puisqu'il retire moins de tanins. Les niveaux appropriés pour une telle application sont de 0,05-0,15% [87].



Fig.42. Boisson au jus de pamplemousse et agar.[87]

- **Charcuterie et produits de pèche :** à des concentrations de 0.54-2.0 %, l'agar est utilisé dans la préparation de viande tendre et dans les produits de pèche, évitant ainsi les dommages des tissus fragiles lors du transport et prévenir la perte de la texture. Dans les années 60, les japonais ont commencé à utiliser l'agar pour conserver les gros morceaux de thon exportés vers l'Europe occidentale. Il est aussi utilisé comme substituant de la matière grasse dans produits carnées. De plus, l'agar est utilisé dans la préparation du poisson déshydraté pour utilisation des soupes et les préparations aromatisants.

1.6.2. Biotechnologie

Les utilisations de l'agar en biotechnologie sont en forte progression, il constitue un matériel indispensable dans plusieurs spécialités telles que la microbiologie, la biologie cellulaire et moléculaire, la biochimie et l'immunologie et ceci grâce aux caractéristiques suivantes :

- L'agar est neutre du point de vue chimique et n'interfère pas avec les composants du milieu de culture des microorganismes et des tissues végétaux et animaux, il n'affecte ni la migration des molécules ni la croissance des cellules.
- Il possède une macroporosité qui convient parfaitement à la migration des grosses molécules. [90]
- L'agar forme un gel relativement transparent, ce qui facilite le repérage des colonies et des réactions antigène/anticorps.
- Contrairement à la gélatine, l'agar a l'avantage de ne pas être hydrolysé par les bactéries et les champignons [91].

Les applications de l'agar en biotechnologie concernent principalement les secteurs suivants :

- **Culture microbienne et cellulaire :** L'utilisation de l'agar dans les milieux de culture des microorganismes a commencé avec koch en 1882 et depuis lors, son

utilisation a été liée au développement de la microbiologie, de telle sorte qu'il n'a jamais été remplacé. Il présente aussi un support de culture des tissus animaux, telles que les cellules hépatiques et tumorales [92]de telle façon qu'il soutient les milieux de culture avec une pression osmotique adaptée aux exigences des cellules cultivées[83]



Fig.43. Culture bactérienne incolore sur l'agar au sang.[92]

- **Culture des tissus végétaux et animaux :** dans les pépinières d'orchidées, des gels de l'agar contenant des éléments nutritifs appropriés sont utilisés comme substrat de croissance pour obtenir des clones des plantes. De même, les méristèmes sont cultivés dans des milieux contenant de l'agar jusqu'à ce qu'il a eu le développement des racines pour prévoir être transplantés. L'avantage de ce système est que les plantes peuvent être cultivées dans un environnement stérile[82]

L'agar est aussi utilisé pour l'élevage des insectes, tels que les espèces de drosophiles utilisées dans les études génétiques, il fournit encore le support pour les aliments consommés par les larves pour la production son saisonnières des vers à soie.

L'agar est utilisé également pour l'immobilisation ou l'encapsulation de substances spécifiques, ces derniers pouvant alors diffuser à travers le gel par exemple le gel de séparation en électrophorèse, en chromatographie, technique immunologique…etc.

- **Pharmacologie :** La principale application de l'agar dans ce domaine reste en tant excipient des préparations pharmaceutiques : soit en tant que gélifiants (pommades, suppositoires…), soit en tant que stabilisants de solutions médicamenteuses. Puisqu'il est indigestible et infermentescible, il a été largement employé comme laxatif, en augmentant le volume et l'hydratation du bol fécal et en régularisant le transit [92]. Aujourd'hui, l'agar est inclus dans le formulaire national américain pour être utilisé comme un ingrédient à libération lente pour l'absorption

lente des agents pharmacologiques[83], il est aussi utilisé comme véhicule pour les antibiotiques hydrosoluble[93].



Fig.44. Utilisation de l'agar comme excipient dans les comprimées et les gélules.[94]

- **En médicine :** l'agar est un matériau possédant des caractéristiques acoustique similaires à celles de l'eau. Il peut servir comme fantôme pour les évaluations ultrasonores principalement en échographie [95].

De plus, si les polysaccharides possèdent de nombreuses applications sous leur forme native de haut poids moléculaire, ils en ont peu en tant que molécules actives. En effet, il nécessite de les dépolymériser afin de perdre leur propriété rhéologique. Récemment, les agaro-oligosaccharides issues de l'hydrolyse de l'agarose ont montré un large éventail d'activité biologiques tels que des effets antimicrobiennes, pré biotiques, anti-tumorale, anti-inflammatoires et des effets antioxydants.[96]

- **En cosmétologie :** Les agars servent d'excipient dans les dentifrices, ou encore de gélifiants dans les crèmes [97].
- **Autres :** l'agar trouve une application dans les domaines ou la haute précision de moulage est demandée. Il est utilisé pour préparer des moules dentaires, des moules de pièces archéologiques, des moules pour les sculptures ou pour préserver les empreintes dans le domaine de criminologie **[98]**.

En agriculture, les agars ont notamment un rôle de protection des semences en les enrobant. Il est envisageable actuellement de les utiliser pour recouvrir l'intérieur des boites de conserves et des conteneurs en carton destinée à transporter des liquides, de telle que le contenu ne soit pas en contact avec le métal ou le carton [66]

2. Généralités sur la gélatine

2.1. Définition de la gélatine

La gélatine est un composé protéique pur généralement dérivé d'une hydrolyse acide partielle (type A) ou d'une hydrolyse alcaline partielle (type B)des fibres de collagène, comme illustré sur la (figure 45) ci-dessous.[99]. Comme elle peut être constituée par un mélange des deux types. La gélatine peut couvrir une gamme de produits possédant des propriétés différentes.

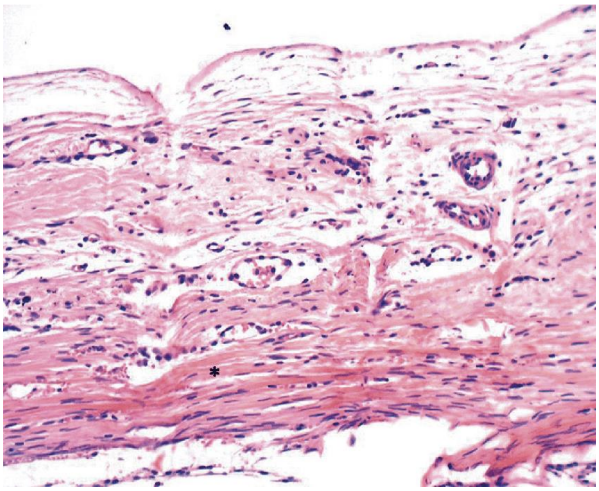


Fig.45. Structure fibreuse du collagène. [100]

2.2. Composition chimique de la gélatine

Les mesures analytiques effectuées sur la gélatine montrent que ce composé protéique contient des pourcentages de différents acides aminés, les pourcentages sont indiqués dans le tableau ci-dessous (tableau 5) :

Tableau.5. Composants principaux de la gélatine.[101]

Composant	Pourcentage (%)
Glycine	26,4-30,5
Proline	14,8-18
Hydroxyproline	13,3-14,5
Acide glutamique	11,1-11,7
Alanine	8,6-11,3

Les autres acides aminés sont en faibles pourcentages comme la tyrosine avec un pourcentage de 0,2% seulement[102]. Le tableau suivant donne les valeurs des acides aminés pour les deux types de gélatine et pour le collagène :

Tableau.6. Nombre d'acides aminés (×1000 résidus) présents dans les deux types de gélatine et dans le collagène[102]

L'acide aminé	Gélatine type A	Gélatine type B	Collagène
Alanine	112	117	114
Arginine	49	48	51
Aspartine	16	0	16
Acide aspartique	29	46	29
Cistéine	00	0	0
Acide glutamique	48	72	48
Glutamine	25	0	25
Glycine	330	335	332
Hystidine	4	4.2	4.4
Hydroxyproline	91	93	104
Hydroxylysine	6.4	4.3	5.4
Isolucine	10	11	11
Leucine	24	24.3	24
Lysine	27	28	28
Méthionine	3.6	3.9	5.7
Phénylalanine	14	14	13
Proline	132	124	115
Sérine	35	33	35
Theonine	18	18	17
Tryptophane	0	0	0
Tyrosine	2.6	1.2	4.4
valine	26	22	22

2.3. Transformation du collagène en gélatine

La procédure qui permet la transformation de la structure fibreuse organisée et non soluble dans l'eau de la gélatine nécessite tout d'abord le clivage de la matrice de tropocollagènes (précurseur du collagène), puis des unités de base qui permettent d'obtenir des molécules d'amorphes isolées totalement dispersé dans l'eau[99].

De nombreux procédés de clivage chimique utilisés pour la fabrication de gélatine à partir de collagène donnent de nombreuses variantes de gélatine

L'une de ces méthodes de clivage est le "clivage par action chimique modérée", cette méthode place le collagène dans un milieu légèrement acide dans une température d'environ 40 ° C pour ne pas dégrader ou dénaturer le collagène par la chaleur), cette procédure est expliquée dans les quatre étapes expliquées ci-dessous[53]:

2. Le tropocollagène est ouvert en trois chaînes alpha indépendantes et désorganisées (partie A).

3. Deux chaînes alpha indépendantes sont liées par une ou plusieurs liaisons covalentes qui entraîne la formation d'une chaîne double bêta (partie B).

4. Trois chaînes s'attachent avec des liaisons covalentes, créant ainsi une triple chaîne appelée chaîne gamma à triple hélice (Partie C).

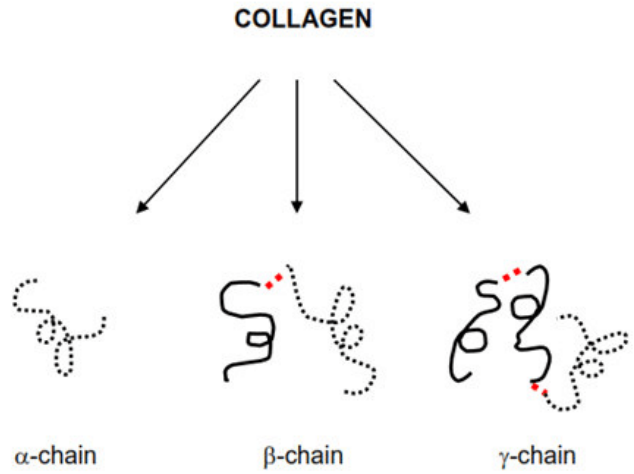


Fig.46. Etapes de formation de la triple hélice de la gélatine à partir du collagène.[104]

2.4. Structure moléculaire de la gélatine

Une chaîne polymérique standard de gélatine est une molécule simple ayant un motif de répétition basique d'acides aminés, une chaîne contient généralement entre 300 et 4000 acides aminés qui se répètent tous dans la séquence : -Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-Hyp -Gly-Pro-, une molécule de gélatine typique est représentée sur la figure suivante :

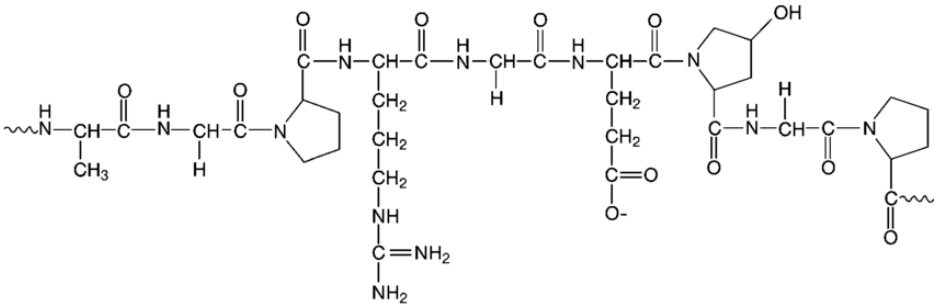


Fig.47. Représentation chimique de la structure typique de la gélatine[105].

La structure de base d'une molécule de gélatine provient entièrement d'une molécule de collagène dénaturée comme expliqué précédemment avec une formule standard de - (NH-CHR-CO) n- (R est la chaîne latérale ou le groupement d'un acide aminé), nombre de ces unités comprenant la chaîne suivent de nombreuses séquences

dont la plus fréquente est : (GlyX-Hys-Pro) où X est un autre acide aminé, la glycine apparaît régulièrement tous les trois résidus[106].

Chaque chaîne de la triple hélice est elle-même une hélice, la structure de la triple hélice est stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupements CO et NH des chaînes adjacentes. L'eau intervient dans la stabilisation de la triple hélice placée en position interstitielle, entre les trois chaînes, elle forme des liaisons hydrogène avec les chaînes protéiques. La masse moléculaire d'une chaîne est d'environ 100000 Dalton. Le bâtonnet de collagène en solution diluée se dénature par élévation de température vers 36°C. Au-dessus de cette température, les chaînes se trouvent en conformation pelote[59].

2.5. Gel de la gélatine

Bien qu'étant l'un des gels les plus connus et les plus utilisés dans divers domaines, de nombreuses propriétés bénéfiques ne sont généralement pas bien comprises, la formation du gel de gélatine est simple et dépend de la formation des triples hélices. En raison de sa nature cinétique, le processus commence par abaisser la température des hélices reliées tout au long de la chaîne, associant les brins trois à trois créant des jonctions. Cette action donne naissance à des boucles qui interrompent les séquences d'hélices, l'instabilité thermique de ces hélices (séquences courtes) rend les gels fluides lorsqu'ils sont dans des températures inférieures à 36 ° C.

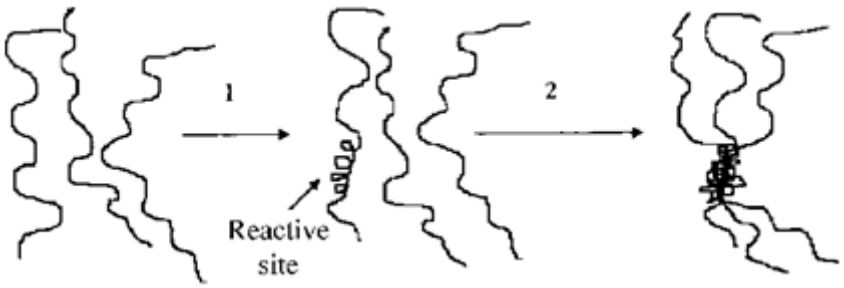


Fig.48. Modèle du processus de formation du gel de la gélatine.[107]

Bien que sa nature soit simple, le gel est dans un état thermodynamique déséquilibré, les hélices changeront leur état de désorganisation en une structure plus organisée, ce changement est le résultat de la restauration ou de la renaturation de la triple hélice du collagène.

La structure que l'on peut observer par microscopie électronique représentée par la figure suivante (figure 49), montre en effet des grains de dimensions très variables compris entre 10 et 100 μm[108].

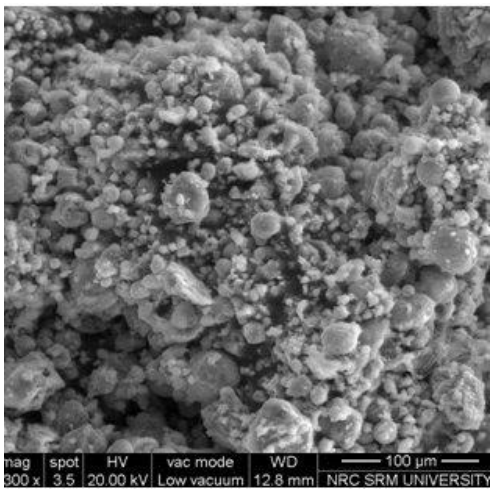


Fig.49. Micrographie MEB de gélatine extraite d'écailles de poisson.[109]

2.5.1. Effet de la température sur les gels de la gélatine :

La gélatine en forme gel est un système doux à la fois thermique et mécanique, très sensible aux changements de température et / ou au cisaillement sur la matrice, la gélatine en gel forme est un système doux à la fois chimique et mécanique, très sensible aux changements de température et de pression et / ou au cisaillement sur la matrice.

À haute température, le gel de gélatine est un liquide contenant peu de bobines aléatoires de petit rayon, la formation d'une hélice commence à une température d'environ 46 à 56 ° C au début de la gélification.

À faible température, la mobilité de la molécule diminue à mesure que celle-ci diminue, au début de la gélification, les interactions hydrophobes ont un effet mineur par rapport aux interactions dipolaires et ioniques conduisant à une réduction significative de la mobilité locale des acides aminés.[110]

2.6. Propriétés physico-chimiques de la gélatine

La nature et la masse moléculaire élevée de la gélatine aussi que ses chaînes rigides lui confèrent des propriétés assez similaires à celles de tout autre polymère synthétique aux caractéristiques assez proches, telles que les conformations à températures élevées appelées "spires"[111], qui signifie pelotes.

La gélatine permet d'obtenir de nombreuses confirmations du fait de sa grande flexibilité obtenue lorsque les conditions de pH, de solvant et de température adéquates sont présentes. Cette flexibilité permet donc à la matrice de gélatine de

prendre diverses propriétés fonctionnelles en raison de la large gamme de structures moléculaires[112, 113]. En plus, la gélatine qui est similaire à des hauts polymères synthétiques, montre une large distribution de poids moléculaire (figure 50)

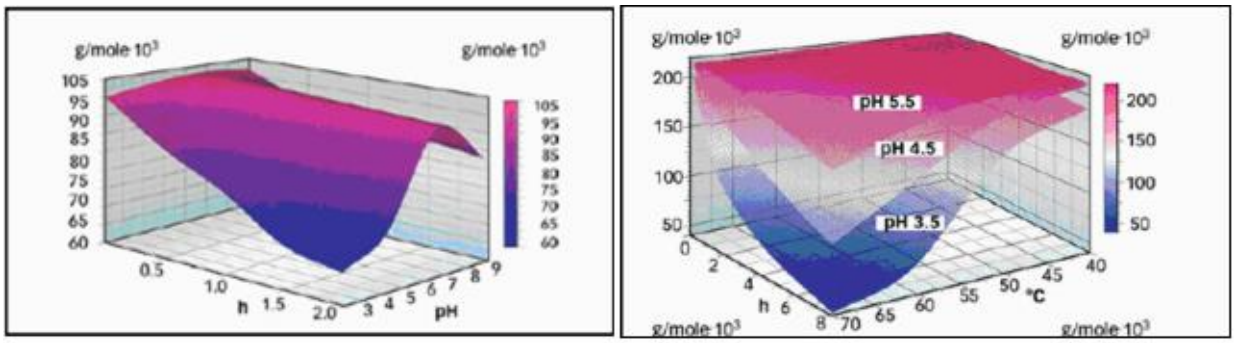


Fig.50.(Gauche) Influence du pH sur la distribution du poids moléculaire de la gélatine, **(droite)**Influence de la température sur la distribution du poids moléculaire de la gélatine.[87]

2.6.1. Point isoélectrique

Les transformations de gélatine ne sont pas tout à fait identiques en milieu alcalin et en milieu acide. La différence essentielle se situe dans la valeur du point isoélectrique de la gélatine obtenue. Le point isoélectrique de la gélatine A se trouve entre 8,5 et 9 du fait que le traitement acide conserve les groupements aminés de la glutamine ainsi que ceux des restes aspartiques. Le point isoélectrique de la gélatine B est de l'ordre de 4,8-5 du fait de l'élimination de ces groupements aminés par traitement alcalin (figure 51).

Cela a son importance d'une part parce qu'au point isoélectrique la solvatation des molécules est à son minimum et qu'il y a alors risque de floculation, et d'autre part parce qu'on ne peut mélanger deux polymères de charges différentes sans risque de précipitation.

- La gélatine A n'est utilisable qu'en milieu acide (tartrique par exemple)
- La gélatine B est utilisable à un pH voisin de la neutralité[103]

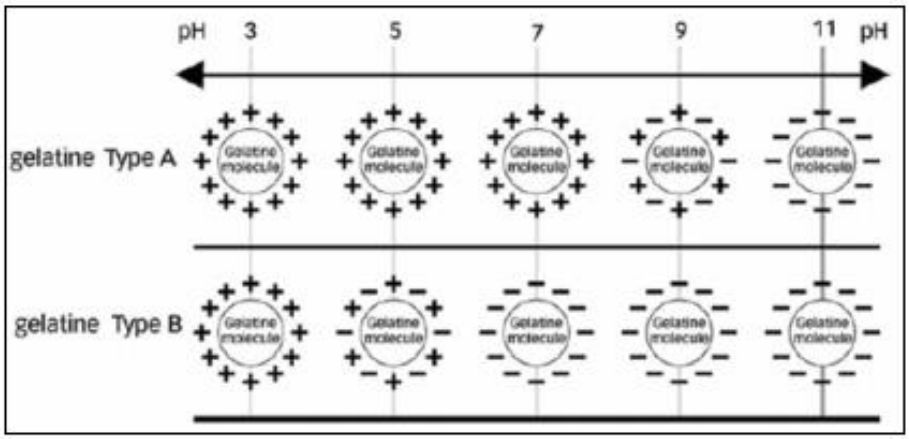


Fig.51. Effet du pH sur la distribution des charges électriques pour les types A et B de gélatine.[114]

2.6.2. Solubilité et gonflement

La gélatine est relativement insoluble dans l'eau froide. Lorsque ses grains sont ajoutés à l'eau froide (température ambiante), ils absorbent de l'eau jusqu'à 100 fois leur poids initial et se gonflent rapidement[103] (figure 52). Mais elle devient rapidement soluble dans l'eau chaude.

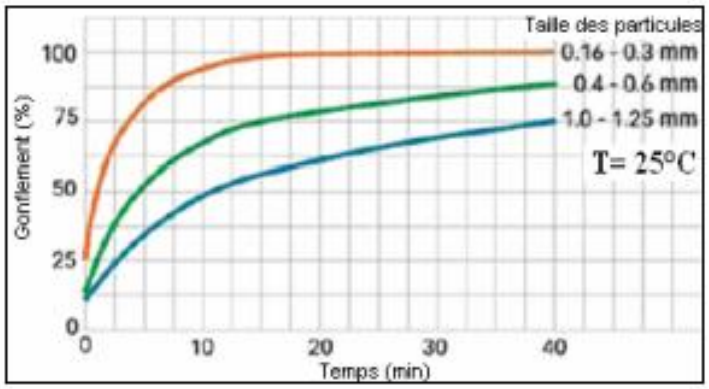


Fig.52. Variation du gonflement en fonction du temps et en fonction de la taille des particules de la gélatine.[115]

A T= 40°C, les grains se solubilisent jusqu'à la formation d'une solution homogène. La vitesse de solubilisation dépend de la température, de la concentration et de la taille des particules[116]. La gélatine est aussi soluble dans l'acide acétique, le trifuoroéthanol, le glycérol, l'éthane-1,2- diol et quelques autres solvants organiques.

2.6.3. Viscosité

La viscosité de la gélatine en solution augmente avec la concentration et diminue avec la température. La présence des sels libres dans la solution diminue la viscosité. Si le pH est le point isoélectrique de la gélatine, la viscosité passe par un

minimum, et c'est quel que soit la concentration de la solution utilisée, comme c'est représenté par les deux courbes suivantes (figure 53)

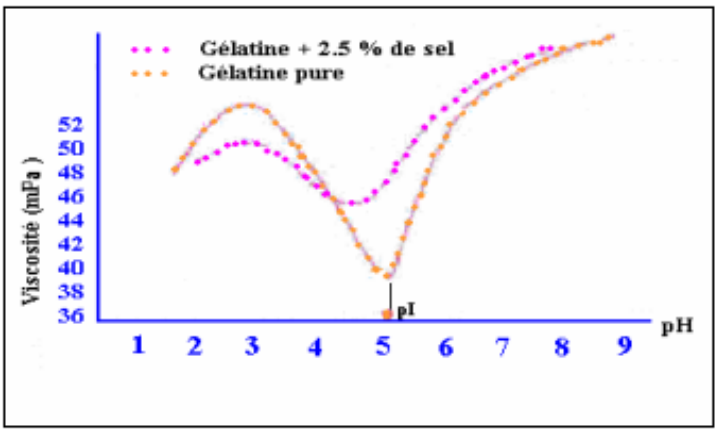


Fig.53. Effet du pH sur la variation de la viscosité pour la gélatine pure et pour la gélatine additionnée au sel.[115]

La nature macromoléculaire et la viscosité de la solution à différentes températures et concentrations (figure 54) exhibent des propriétés rhéologiques de nature Newtonienne qui sont initialement relatives à la distribution du poids moléculaire.

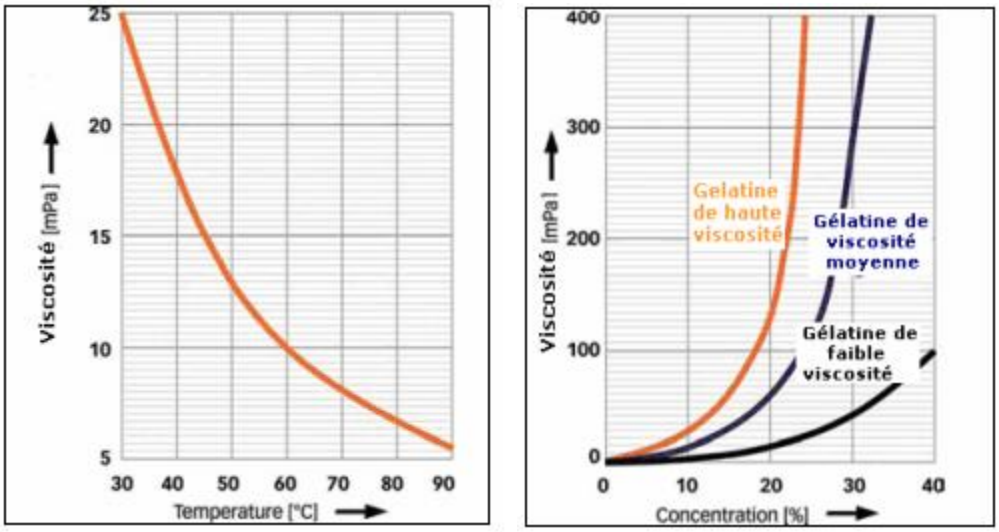


Fig.54. (Gauche) Influence de la température sur la viscosité, **(droite)**Influence de la concentration sur la viscosité.[115]

2.6.4. Pouvoir gélifiant ou force de gel

La gélatine présente des propriétés gélifiantes si ses particules sont capables de s'assembler pour former un réseau tridimensionnel poreux au sein duquel le liquide de dispersion est immobilisé. Pour former ce réseau, les molécules interagissent fortement entre elles dans des zones limitées appelées zones de fixation ou zones de

jonction. La solidité et le nombre de zones de fixation déterminent les caractères rigides et réversibles d'un gel[116, 117]

Parmi les critères les plus importants qui déterminent la qualité de la gélatine ; c'est le degré de bloom qui se trouve généralement entre 50 et 300. Il caractérise le filmogène et le pouvoir gélifiant de la gélatine (degré de bloom élevé implique pouvoir gélifiant élevé)[116]. Ce pouvoir dépend de la concentration et de la force intrinsèque de la gélatine qui a la capacité de former des gels thermoréversibles en fonction de la température. Cette propriété est très importante pour étudier les applications de la gélatine[118].

2.6.4.1. Signification du degré de bloom

C'est la force maximale mesurée lors de la pénétration d'un cylindre standardisé de ½ pouces de diamètre à une profondeur de 4 mm avec une vitesse de 1 mm/seconde pour un gel de 6,67% pendant 18 heures à 10°C dans un flacon spécifique de gélatine. C'est l'essai préconisé par la pharmacopée mais on peut aussi faire des solutions de concentrations croissantes de la gélatine à étudier et noter à partir de quelle concentration il y a prise en gel[99].

Cette définition et ces conditions sont normalisées sous référence BS757 du British Standard, la gélatine est alors graduée et marquée en grades ou force de bloom décrit par le tableau suivant :

Tableau.7. Conditions de normalisation selon British Standard.[119]

	Gélatine type A	**Gélatine type B**					
Bloom ou rigidité	100-120	125-140	150-170	175-190	200-220	225-240	250-270
Viscosité (mPa)	19.23	20-27	30-38	39-41	41-48	42-50	42-50
pH	5,4-6.2	5,4-6,2	5,4-6,2	5,4-6,2	5,4-6,2	5,4-6,2	5,4-6,2
Humidité (%)	12max	12max	12max	12max	12max	12max	12max
Clarté	>94	>94	>94	>94	>94	>94	>94
Point isoélectrique	7-9	4,7-5,1	4,7-5,1	4,7-5,1	4,7-5,1	4,7-5,1	4,7-5,1

2.6.4.2. Mécanisme de gélification de la gélatine

La pénétration du soluté à l'intérieur de la matrice du gel de gélatine forme ce qu'on appelle gel colloïdal semi solide. Ce phénomène dépend des conditions de

l'environnement comme le pH, la température, le champ électrique, la lumière, la pression, la force ionique et la nature du solvant[119].

Le mécanisme de gélification peut être exprimé par les étapes suivantes : (figure 55) :

a) Diffusion du solvant.

b) L'agrégation des particules au sein du solvant.

c) La gélification par formations des amas et des réseaux réticulés

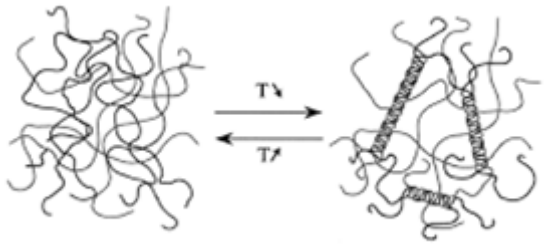


Fig.55. Etapes de gélification de la gélatine.[120]

2.6.4.3. Conditions d'une gélification complète

Les principales conditions sont indiquées au-dessous :

- **La durée :** le gel se forme immédiatement à 10°C, mais il faut environ 16 heures pour atteindre la gélification maximale.
- **La concentration qui doit dépasser 0,8% au minimum** : Cette dernière est appelée la concentration critique de gélification. D'autre part, la force de gel est une fonction non linéaire de la concentration.
- **Le pH et la température** : plus le pH est bas et la température est élevée, plus la formation de gel est faible. Par contre, une fois le gel est formé, il est peu sensible à l'acidité.
- **Le cisaillement, avant gélification :** il diminue la force de gel.
- **La présence de soluté :** le sel diminue légèrement la force du gel, alors que la présence de sucre l'augmente.

2.7. Critères de choix de la gélatine en chimie pharmaceutique

2.7.1. Pouvoir épaississant

La gélatine présente des propriétés épaississantes lorsque ses molécules ne peuvent pas s'associer fortement entre eux. Leur simple présence gêne la mobilité du liquide dans lequel elles sont dispersées et conduit à une augmentation de la viscosité de la solution. Ainsi ses molécules peu déformables rigides forment au repos des édifices stabilisés par des interactions faibles (liaisons hydrogène, forces de Van der Waals). En dessous de la concentration critique (0,8 %), la gélatine peut être utilisée comme agent épaississant.[116, 117]

2.7.2. Pouvoir filmogène

Lorsqu'une solution de gélatine est étalée en fine couche sur une surface et passe de l'état sol à l'état gel, elle forme un film. Cette propriété est mise à profit dans la fabrication de capsules dures et molles et en micro-encapsulation des principes actifs.

2.7.3. Pouvoir émulsifiant

En tant que protéine, la gélatine s'adsorbe à l'interface des gouttelettes d'huiles et ainsi stabilise l'émulsion de type huile/eau. Cette stabilisation est accentuée par la propriété de gélification à l'interface. Ce pouvoir émulsifiant de la gélatine lui permet d'obtenir, par brassage, une dispersion homogène dans un mélange de constituants naturellement non miscibles.

2.7.4. Pouvoir foisonnant

Le pouvoir foisonnant de la gélatine permet d'augmenter, dans de fortes proportions, le volume d'un mélange d'ingrédients, à condition qu'il comporte de l'eau. La phase gazeuse ou les bulles d'air créées par battage du mélange sont capturées dans des microbilles de gélatine et maintenues dans un état de dispersion stable.

2.7.5. Pouvoir stabilisant

La prise en gel permet la stabilisation et la protection des solutions colloïdales et des émulsions. Le pouvoir stabilisant de la gélatine est souvent supérieur à celui des autres polymères naturels.

2.7.6. Pouvoir moussant

La gélatine possède également des propriétés tensioactives qui vont la conduire à s'adsorber à l'interface gaz/ eau, puis à stabiliser la mousse par gélification en surface.

2.8. Applications pharmaceutiques

A cause de ses propriétés technologiques et biologiques, la gélatine est considérée comme un très bon excipient pharmaceutique pour la synthèse des capsules, des suppositoires, comme épaississant pour les formes liquides, comme agent collant pour l'augmentation de l'adhésion et de la viscosité, pour l'enrobage des tablettes en combinaison avec les sucres, comme excipient pour les préparations dentaires, dans la préparation des gels de protection des membranes de la muqueuse buccale, pour l'encapsulation des vitamines, pour la synthèse industrielle des éponges hémostatiques...etc.[121,122]

Et grâce à sa biodégradabilité et sa biocompatibilité avec les milieux physiologiques, Elle peut être utilisée en cas d'urgence et en opérations chirurgicales pour la préparation du sérum sanguin. Comme elle peut être utilisée, aussi, en photographie médicale (scanner). Et jusqu'à présent il n'y a aucun biopolymère qui a remplacé la gélatine dans ses applications pharmaceutiques et médicamenteuses[108]

2.9. Exemples des applications

2.9.1. Capsules de gélatine

Presque 90% de la gélatine pharmaceutique se dirige vers la fabrication des capsules et des gélules. D'une part elle protège les médicaments des effets néfastes de la lumière et de l'oxygène atmosphérique, la contamination et le développement microbien[123.124]

D'autre part, la gélatine permet de lier les principes actifs du médicament et de prolonger leur durée de conservation. Grâce à une sélection et un dosage rigoureux, la gélatine peut même contrôler la vitesse de libération des principes actifs, soit en l'accélérant, soit en la ralentissant (effet retard)[124].

Les comprimés enrobés de gélatine représentent un nouveau progrès technologique, l'enrobage de gélatine facilitant l'ingestion du comprimé par les patients[125]

2.9.2. Substituants du plasma

Les substituants du plasma ont été utilisés en urgence médicale pour le remplacement du sang perdu, jusqu'à ce que le corps puisse lui-même régénérer le sang. Cette gélatine utilisée est de bloom élevé, d'un poids moléculaire de 160 à 180000 g.mol-1. Elle subit un traitement thermique, puis plusieurs modifications en utilisant différents réactifs chimiques comme le glyoxal qui réagit avec l'amine terminale de la lysine, l'acide succinique anhydride qui conduit à la formation de l'acide carboxylique des amides par la réaction du groupement amine de la lysine avec les succinates, et le phényldiisocyanate suite à une réticulation des peptides avec la formation des structures uréiques[125]

2.9.3. Encapsulation des vitamines

La vitamine A et la vitamine E doivent être utilisées sous forme liquide ou poudre. Donc elles sont protégées par encapsulation de la gélatine contre l'effet de la lumière et de l'oxygène atmosphérique qui agissent sur la stabilité des acides aminés[126]. On utilise la gélatine de type A ou de type B de bloom égale à 90 à 140.

On obtient des formes galéniques sous forme de poudre dont les diamètres des particules sont de 200 à 300 micromètres. (Figure 56) La présence de gélatine rend ces formes stables qu'on peut les transformer en tablettes avec ou sans d'autres additifs[118].

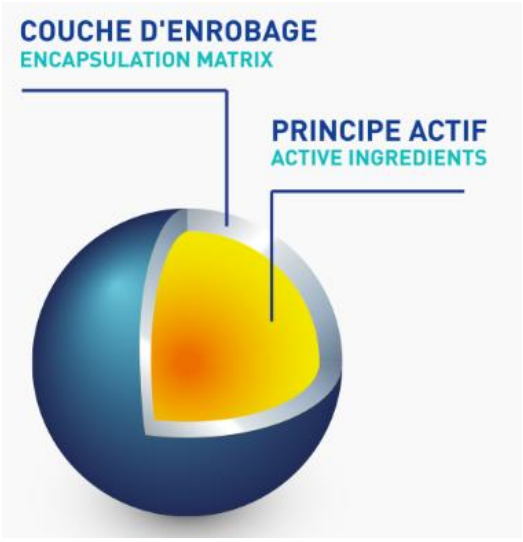


Fig.56. Modèle de l'encapsulation des principes actifs par une couche d'enrobage.[127]

Chapitre III

Partie Expérimentale

1. Introduction

L'objectif principal de notre étude est de réaliser un système réservoir ayant un intérêt thérapeutique. Ce système sera un complexe polyélectrolyte formé par l'électro-association d'un polymère anionique qui sera de l'agar (AGR) et une protéine qui, dans notre cas, est la gélatine (GLT). Les propriétés physico-chimiques de ces biopolymères sont fortement influencées par de nombreux facteurs environnementaux tels que le pH du milieu et la concentration, mais également par leurs caractéristiques intrinsèques telles que leur taux d'ionisation et leur masse molaire. Pour déterminer avec précision la formule la plus stable d'un tel complexe, il faut tenir compte de ces facteurs au cours de nos travaux.

Dans le présent chapitre de notre étude, le but de la procédure expérimentale expliquée ci-dessus sera mis à l'épreuve, plus précisément, l'effet et les influences des paramètres physico-chimiques importants mentionnés ci-dessus seront étudiés pour mieux contrôler la stabilité de la formule cible, après que le complexe AGR / GLT le plus stable sera utilisé dans la préparation d'un ensemble d'émulsions (H / E) de différentes proportions de phases (aqueuse et huileuse) dont une émulsion signalétique sera le candidat pour encapsuler un principe actif hydrophobe dans la crème finale hypothétique.

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de physico-chimie de la faculté des sciences à l'université de Médéa.

Nos objectifs sont divisés en trois études principales :

1. Caractérisation physico-chimique préliminaire des biopolymères (agar et gélatine) utilisés.

2. Détermination du complexe polyélectrolyte optimal (le plus stable) d'un ensemble de tels mélanges formés entre de l'agar et de la gélatine après la caractérisation physico-chimique afin de déterminer une phase aqueuse appropriée pour l'étape suivante.

3. Surveiller et étudier les variations et l'évolution des paramètres physico-chimiques (stabilité) d'un ensemble d'émulsions pendant un mois (30 jours).

1.1. Matériel utilisé

Toutes les manipulations expérimentales de cette étude ont été réalisées avec l'utilisation des équipements et produits énumérés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau8: Matériels utilisés

Matériels	Marques
Balance électrique	KERN ALS 220-4N
Agitateur magnétique	SELECTR ®
pH-mètre	SELECTR ®
Conductimètre	SELECTR ®
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	FTIR-8400 SHIMADZU
Spectrophotomètre UV visible	SELECTR ®
Homogénéiseur	Ultra-TuraxT25
Turbidimètre	Milwaukee – Mi415 Turbiditymeter
Centrifugeuse	Hettich ZENTRIFUGEN EBA 20
Etuve	Memmert

1.2. Produits utilisés

Les produits chimiques utilisés dans cette étude sont énumérés ci-dessous avec leur intérêt :

1. Gélatine : une gélatine de grade pharmaceutique sous la forme de feuilles a été utilisée comme l'un des deux composants polyélectrolytes de la phase aqueuse des émulsions ainsi que dans la phase de caractérisation préliminaire.

2. Agar : on a utilisé de l'agar de grade pharmaceutique sous forme de poudre comme l'un des deux composants polyélectrolytes de la phase aqueuse des émulsions ainsi que de la phase de caractérisation préliminaire.

3. Acide chlorhydrique (HCl) et hydroxyde de sodium (NaOH) à utiliser dans les dosages pH métrique des biopolymères dans la phase préliminaire.

4. Polysorbate 80 (TWEEN® 80) : un tensioactif non-ionique utilisé dans le processus d'émulsification.

2. Phase préliminaire

Avant de procéder à la formation du complexe AGR / GLT, une phase primordiale de la plus haute importance doit être accomplie, la phase que nous appelons "la pré-formulation" consiste en une étude approfondie des propriétés physico-chimiques des matières premières (biopolymères). Afin de déterminer la meilleure forme pharmaceutique en stabilité et avec une biodisponibilité maximale, ainsi que le milieu physicochimique optimal, essentiel à la stabilité et à l'effet thérapeutique de la substance active dans la formule finale.

2.1. Analyses Infra rouge pour l'Agar, la gélatine et le complexe AGR/GLT

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transforme Infra Red Spectroscopy) est basée sur la détection de la vibration d'une liaison chimique induite par l'absorption du matériau du rayonnement infrarouge, ces vibrations sont caractéristiques à la liaison qui les a émises après avoir absorbé le rayonnement infrarouge entrant, nous permettant de détecter les fonctions chimiques présentes dans un matériau.

2.1.1. Principe

La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est une technique d'analyse moléculaire qui nous donne des informations sur la structure moléculaire de la matière en identifiant les liaisons chimiques entre ses groupes fonctionnels après leur absorption et leur émission de rayons infrarouges quantifiés dans un spectre infrarouge. Elle est utilisée pour l'identification des liants (colles, cires, huiles etc.) rencontrés dans les peintures ainsi que pour l'identification de certains pigments déterminer la nature des sels et produits d'altération.

Les atomes constitutifs des molécules chimiques sont liés à des liaisons ayant une énergie intrinsèque et caractéristique, C-H, C-OH, C=O, C=C, etc. Ces énergies de liaison sont sensibles aux rayonnements électromagnétiques ayant des niveaux d'énergie très spécifiques, ce mouvement induit par les radiations (vibration) entre les atomes constitutifs faisant vibrer la molécule sous différents aspects (déformation, rotation, étirement etc.), la liaison chimique est identifiée par sa fréquence de vibration après absorption d'énergie par le rayonnement reçu.

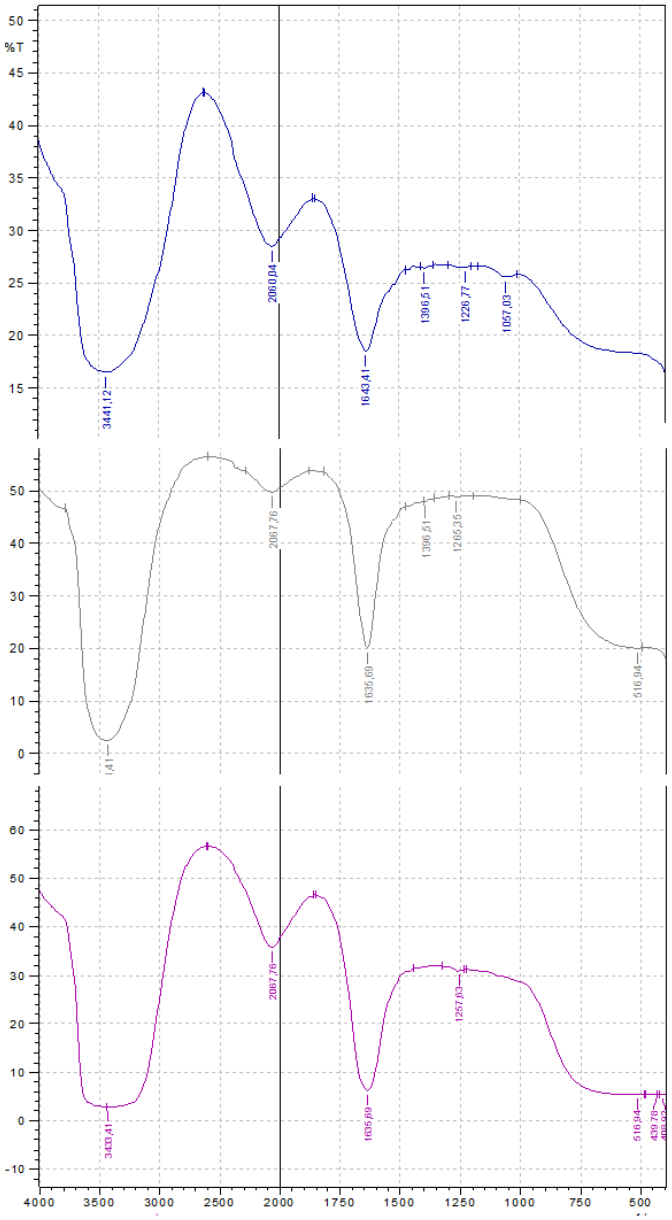
Pour une molécule donnée qui ne peut avoir que certains états de vibration, plusieurs bandes d'absorption de ces vibrations peuvent être présentées dans un spectre et ainsi identifier la molécule après avoir comparé les bandes de spectre à des

spectres de référence de fonctions et de molécules. Cette technique est un accès rapide aux informations moléculaires de base d'une molécule, à sa nature chimique et à son organisation conformationnelle.

2.1.2. Mode opératoire

Les spectres FTIR ont été obtenus pour des solutions de polymère de 0,1%. Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 8 cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 128.

Les graphiques de mesure résultants sont présentés ci-dessous avec leurs interprétations respectives :



Spectre FTIR de l'Agar en solution C=1g/L

Spectre FTIR de la gélatine en solution C=1g/L

Spectre FTIR du mélange 50%(A)50%(G), C=1g/L

Fig.57. Spectres FTIR de : (haut) solution Agar;(milieu) solution gélatine;(bas) solution mélange 50%(Agar) 50%(Gélatine).

a) Interprétation du spectre FTIR de l'agar en solution (1g.L^{-1})

- On observe une bande moyenne de longueur d'onde 1643 cm^{-1} caractéristique à la vibration d'élongation de la liaison C=C des alcènes monosubstituées.
- On observe une bande moyenne de longueur d'onde 2060cm^{-1} caractéristique de la vibration d''élongation de la liaison C=O des carbonyles.
- On observe une bande large et intense de longueur d'onde 3441cm^{-1} caractéristique de la vibration d'élongation de la liaison O-H des alcools primaires.

b) Interprétation du spectre FTIR de la gélatine en solution ($1g.L^{-1}$)

- On observe une bande moyenne de longueur d'onde $1635cm^{-1}$ caractéristique à la vibration d'élongation des liaisons C-O des carbonyles.
- One observe une bande large et intense de longueur d'onde 3441 cm^{-1} caractéristique à la vibration d'élongation de la liaison N-H des amines secondaires.

c) Interprétation du spectre FTIR du mélange 50%(A) 50%(G) ($1g.L^{-1}$)

Le spectre du complexe AGR/GLT ne montre aucune bande de la fonction amine dans GLT et hydroxyle dans AGR, ceci en raison de la faible bande (ou invisible) de la liaison électrostatique entre les fonctions hydroxyles et amine dans AGR et GLT, la bande n'a pas été détecté ainsi il n'apparaît pas dans le spectre.

3. Caractérisation des biomatériaux

Pour obtenir des complexes stables, il est important d'identifier les conditions idéales pour la formation des complexes entre le polyanion AGR et le GLT zwitterionique.

Le taux d'ionisation des biopolymères est un paramètre influencé par la valeur du pH de leur milieu, il est donc essentiel pour notre étude d'identifier un pH permettant d'obtenir un taux d'ionisation acceptable pour les deux biopolymères, pour faire cela on va déterminer le pKa de l'agar et de la gélatine par un dosage pH métrique.

3.1. Dosage pH-métrique de l'Agar

La détermination de la constante d'acidité (pKa) de l'Agar est faite par un dosage pH-métrique qui se déroule selon le protocole expérimental suivant :

1. 135 mg d'Agar est solubilisé dans 10 mL d'HCl 0,1N

2. Cette solution est ajustée avec l'eau distillée jusqu'à 200mL dans une fiole de 200mL.

3. Après solubilisation, on met la solution dans un bécher avec la sonde d'un pH-mètre sur un agitateur.

4. En l'agitant, en titre la solution dans le bécher avec une solution NaOH 0,05N.

5. En prélève la valeur du pH sans ajout de NaOH, on prend ensuite la valeur du pH de la solution après chaque ajout de NaOH.

Les résultats de la manipulation permettent de tracer la courbe (figure 58) du pH et du dpH/dV en fonction du volume de NaOH ajouté :

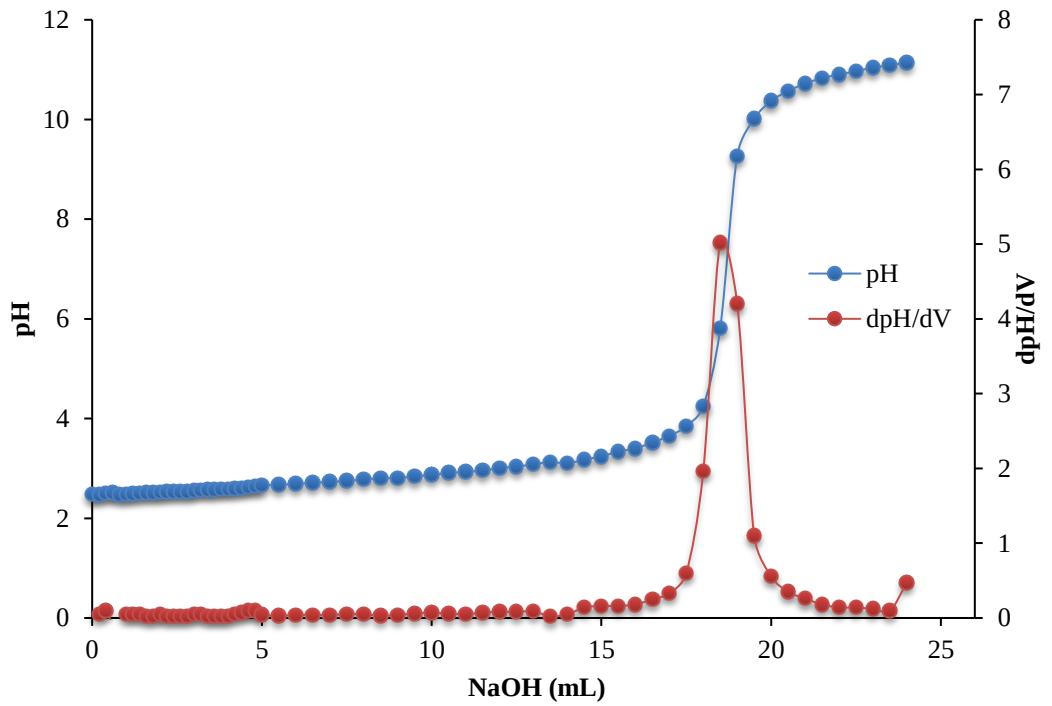


Fig.58. Dosage pH-métrique de l'Agar.

La figure ci-dessus montre la variation du pH en fonction du volume de NaOH ajouté lors du dosage métrique de l'agar, on observe un saut de pH d'environ 18-20 mL de NaOH indiquant le point d'équivalence ou le point de neutralisation du fonction hydroxyle dans la chaîne du polymère, pour déterminer avec précision cette valeur de pH, nous utiliserons la méthode dérivée (en rouge) indiquée dans la figure ci-dessus (dpH/dV = f (pH)), la courbe atteint un maximum pour un volume de NaOH de 18,5 mL pour un pH de 7,6; le point de ph de demi-équivalence est donc égal à 3,81, c'est valeur du pKa pour l'agar.

3.2. Dosage pH-métrique de la gélatine

La détermination de la constante d'acidité (pKa) et le point isoélectrique (pI) de la gélatine est faite par un dosage pH-métrique qui se déroule selon le protocole expérimental suivant :

1. 135 mg de gélatine est solubilisé dans 10 mL d'HCl 0,1N

2. Cette solution est ajustée avec l'eau distillée jusqu'à 200mL dans une fiole de 200mL.

3. Après solubilisation, on met la solution dans un bécher avec la sonde d'un pH-mètre sur un agitateur.

4. En l'agitant, en titre la solution dans le bécher avec une solution NaOH 0,05N.

5. En prélève la valeur du pH sans ajout de NaOH, en prend ensuite la valeur du pH de la solution après chaque ajout de NaOH.

Les résultats de la manipulation permettent de tracer la courbe du pH en fonction du volume NaOH ajouté (mL).

Les résultats de la manipulation permettent de tracer la courbe (figure 59) du pH en fonction du volume de NaOH ajouté :

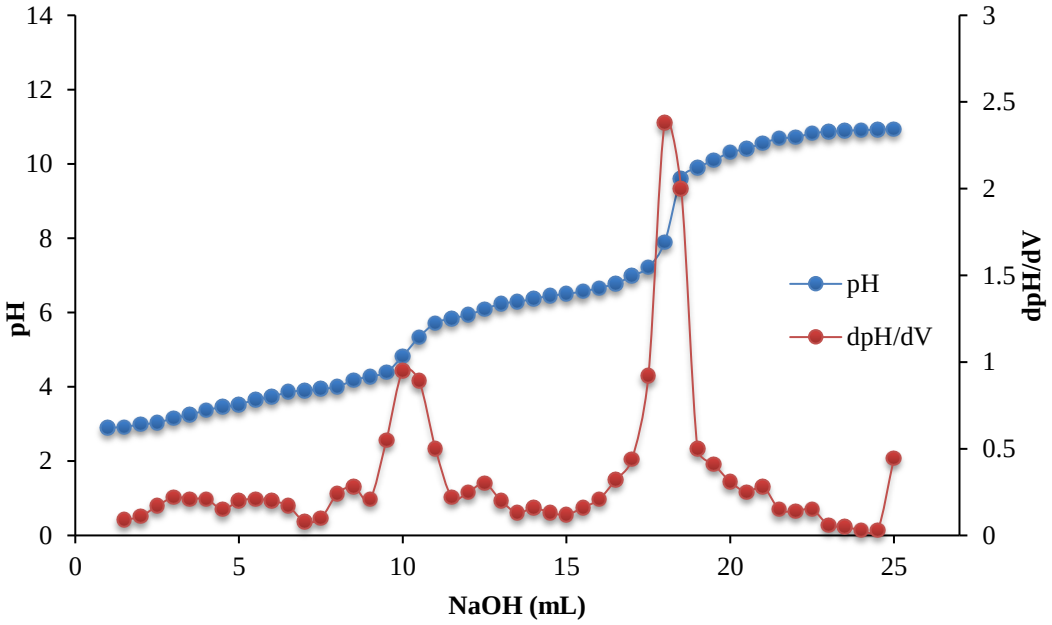


Fig.59. Dosage pH métrique de la gélatine.

La figure ci-dessus montre la variation du pH en fonction du volume de NaOH ajouté pendant le dosage pH métrique de gélatine, nous observons deux variations de pH d'environ 10 et 18 mL de NaOH respectivement, ces deux sauts indiquent les points de neutralisation des deux fonctions présentes dans la chaîne de gélatine : la fonction acide carboxylique (-COOH) et la fonction amine (-NH2) respectivement. En utilisant à nouveau la méthode dérivée, on constate que le pKa de la fonction carboxylique est égal à 3,5 et celui de la fonction amine à 4,2.

La gélatine contient à la fois des fonctions acides et des fonctions basiques, l'agar, quant à elle, est un polyacide faible présentant de multiples fonctions hydroxyles, ces paramètres sont caractérisées par la constante de dissociation α qui indique que la réaction acide/basique n'est pas totale en milieu aqueux, cette constante

est définie comme étant le pourcentage d'acide et de base dans leur forme dissociée représentée par l'équation suivante:

$$\alpha = \frac{x}{n}$$

x: nombre de moles dissociées.

n: nombre de moles totales.

Ainsi, le calcul du pourcentage d'AGR et de GLT sous leur forme dissociée se fait en calculant alpha à chaque instant du dosage, en effet, le ph du milieu réactionnel définit la charge électrique des radicaux des acides aminés de la GLT, de sorte qu'on va représenter graphiquement les taux d'ionisation de la fonction carboxylique et la fonction amine de la GLT en fonction du pH dans la figure suivante:

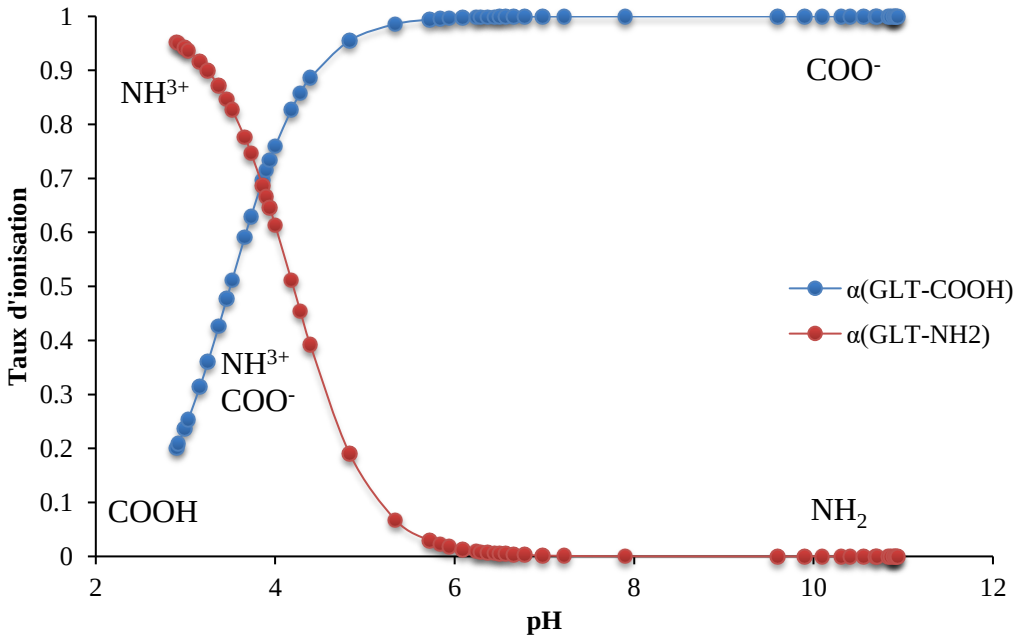


Fig. 60. Taux d'ionisation des deux fonctions -COOH et -NH_2 de la gélatine GLT en fonction du pH.

La figure ci-dessus montre que les fonctions carboxyliques et amines changent d'état d'ionisation au cours du dosage métrique du pH. Les variations sont divisées en trois niveaux :

1. A des pH extrêmement acides inférieurs à 3,86, les deux finitions ionisables des radicaux sont protonées en forme de -COOH et de -NH_3^+ typiques des protéines.
2. A des pH supérieurs à 3,86, les deux fonctions ionisables des radicaux sont déprotonées sous forme de COO- et de NH2.

3. Aux niveaux de pH autour du point isoélectrique de la protéine (3,86), les deux fonctions ionisables des radicaux sont toutes chargées, cet état permet la formation des liaisons électrostatiques entre les composants.

Nous pouvons maintenant suivre la variation du taux d'ionisation de la fonction hydroxyle de l'AGR et de la fonction amine de la GLT en fonction du pH dans la figure suivante :(figure 61) :

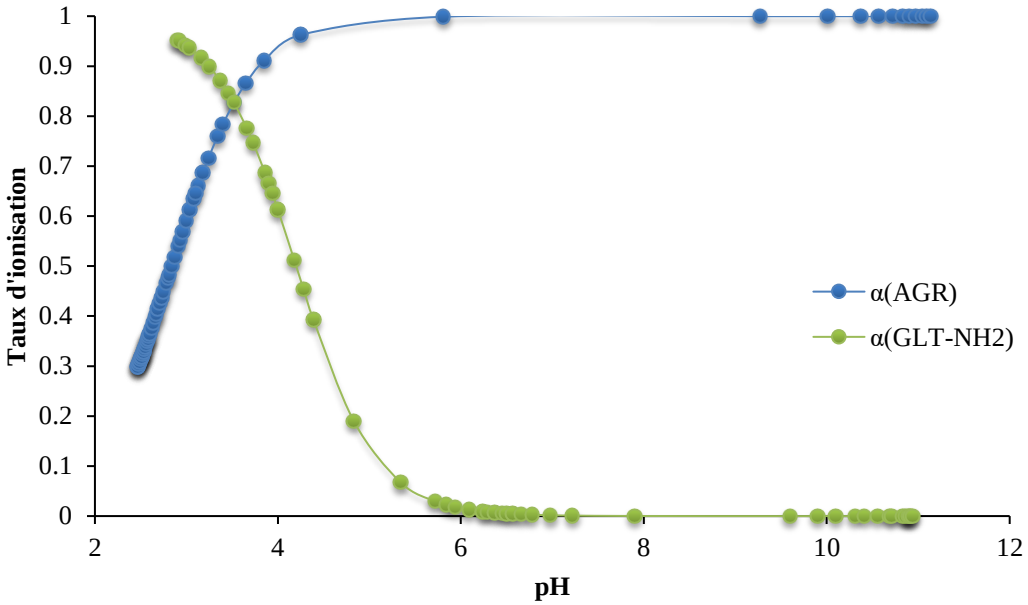


Fig.61. Taux d'ionisation de l'agar AGR et de la fonction amine -NH_2 de la gélatine GLT en fonction du pH.

La figure ci-dessus montre la variation du taux d'ionisation de la fonction hydroxyle de l'AGR et de la fonction amine de la GLT en fonction du pH, le point d'intersection entre leurs courbes respectives indique la valeur du pH à laquelle AGR et la fonction amine de la GLT sont à un taux d'ionisation identique en solution, nous concluons donc que le pH idéal du milieu dans lequel nous introduisons nos biopolymères doit être stable à un pH autour de 4.

4. Concentration optimale d'Agar et de gélatine

4.1. Préparation de la gamme de concentrations de l'Agar

Afin de déterminer les concentrations idéales de solutions d'agar et de gélatine qui, une fois mélangées, donnent le mélange de concentration optimal que nous allons utiliser comme phase aqueuse dans la phase de préparation de l'émulsion, il est nécessaire de préparer pour chaque biopolymère un ensemble de solution à concentrations croissantes où leurs propriétés telles que la conductivité, le pH, la

viscosité et l'absorption de la lumière seront testées afin que nous puissions déterminer le meilleur mélange de concentration. Outre la concentration, nous déterminerons également la proportion parfaite de chaque biopolymère dans la formule de la phase aqueuse finale. Pour ce faire, nous utiliserons cinq solutions avec des pourcentages croissants de proportion de polymère dans les mêmes mesures que celles de la phase de test précédente.

Ce travail nécessite que certaines quantités d'agar et de gélatine soient parfaitement solubilisées, les étapes d'une telle procédure sont détaillées ci-dessous :

1. Premièrement, on pèse une certaine quantité de l'Agar et de gélatine en fonction du volume final de solution qui est 50 mL de chaque solution avec sa concentration respective, les masses pour chaque concentration de l'Agar et de gélatine pour une solution de 50 mL de chaque biopolymère sont énumérées dans le tableau ci-dessous :

Tableau.9. Masses correspondantes à chaque concentration de solutions l'agar et gélatine.

Concentration ($g.L^{-1}$)	0,2	0,5	0,7	1	1,2	1,5
Masse de biopolymère (g)	0,010	0,025	0,035	0,05	0,06	0,075

2. Les masses correspondantes de chaque solution sont placées chacune dans une fiole jaugée de 50 mL et remplies d'une l'eau distillée jusqu'à atteindre trait de jaugée.
3. Les fioles jaugées contenant les masses d'agar sont placées sur une plaque chauffante, où elles subissent également une agitation d'environ 500 à 600 tr / min, jusqu'à atteindre 80 ° C (une température plus basse ne permettrait pas à l'agar de se solubiliser, une température plus élevée dégraderait l'agar)
4. Avec la température appropriée atteinte, la solubilisation de l'agar est contrôlée pendant 20-30 minutes jusqu'à solubilisation complète.
5. Les solutions contenues dans les fioles jaugées sont ensuite transférées dans des flacons étiquetés en verre.
6. Les fioles jaugées contenant les masses de gélatine sont placées sur une plaque chauffante, où elles subissent une agitation de 500 tr / min également, jusqu'à ce qu'elles atteignent 40 ° C (une température plus basse ne permettrait pas à

la gélatine de se dissoudre, une température plus élevée dénature la gélatine étant une protéine).

7. La même procédure de stockage est appliquée aux solutions de gélatine après solubilisation complète.

Avec les solutions préparées, nous allons procéder aux tests de conductivité, pH, absorbance et viscosité.

À ce stade de notre étude, il est essentiel de déterminer les conditions physico-chimiques idéales permettant une interaction ionique entre le AGR polyanionique et la GLT polyamphotère, non seulement dans le but de réussir la formation de complexes stables, mais également pour la formulation d'émulsions conditionnées de manière idéale avec une efficacité topique maximale, différents paramètres physicochimiques ayant un impact direct sur la stabilité de nos émulsions seront étudiés, ces paramètres sont: le pH, la turbidité et la conductivité de deux ensembles de solutions de concentrations et de fractions variables des deux biopolymères, d'abord séparé, puis mélangé.

4.1.1. Mesures conductimétriques des solutions AGR

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la figure62 :

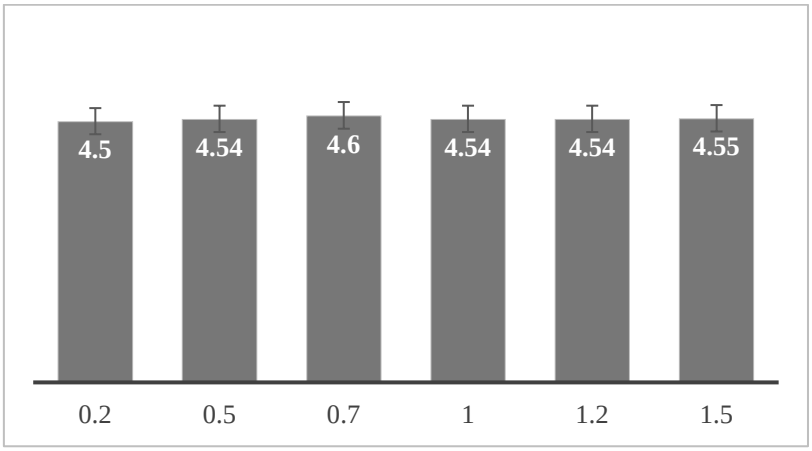


Fig.62. Conductivité des solutions AGR en fonction des concentrations.

La figure ci-dessus représente la conductivité des solutions d'AGR en fonction de la concentration croissante de AGR, nous pouvons observer la conductivité quasi stable de l'ensemble de solutions, de sorte qu'il n'ya pas ou peu de variation significative de la conductivité avec le changement de la concentration d'AGR, la conductivité moyenne des solutions se situant autour de 4,5 $mS.cm^{-1}$ pour une gamme de concentrations de AGR allant de 0,2 à 1,5 $g.L^{-1}$

4.1.2. Mesures pH-métrique des solutions AGR

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la figure suivante (fig.63) :

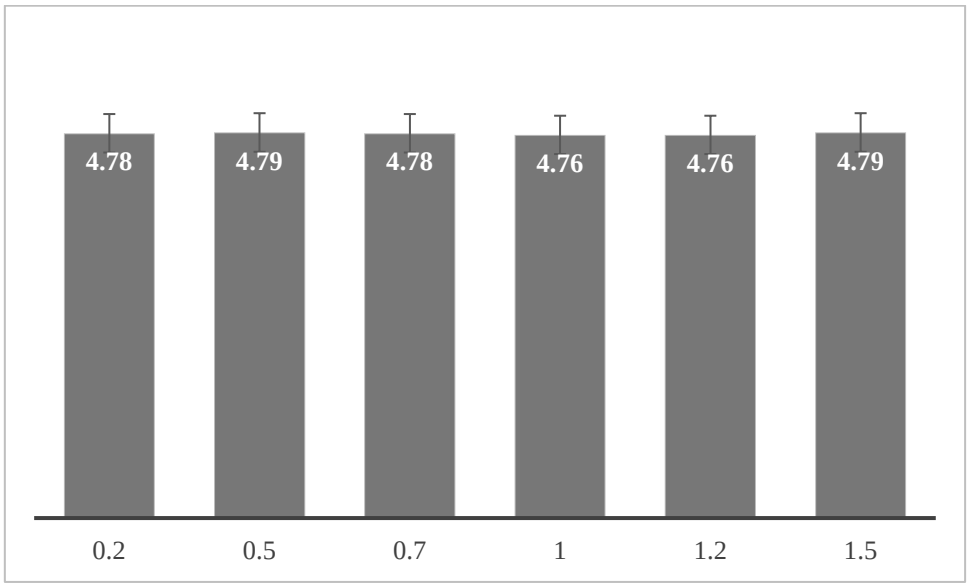


Fig.63. pH des solutions AGR en fonction des concentrations.

La figure ci-dessus montre la variation du pH en fonction de la concentration de l'ensemble d'émulsions d'AGR, nous pouvons observer la valeur de pH constante de l'ordre de 4,7 pour l'ensemble étudié, nous pouvons donc en conclure que le pH est stable dans la plage de concentrations d'AGR étudiée, nous observons également que le ph de la gamme se situe approximativement autour de la valeur de ph requise de 4,2 pour la formation de complexes AGR / GLT stables.

4.1.3. Turbidité des solutions AGR

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la figure suivante (fig. 64) :

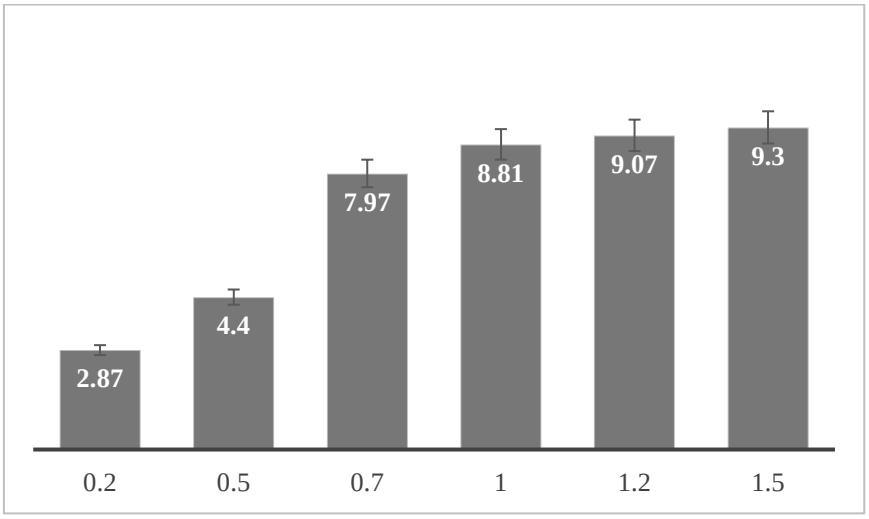


Fig.64. Turbidité des solutions AGR en fonction de la concentration.

La figure ci-dessus représente la variation de la turbidité en fonction des suites de l'ensemble de solutions AGR, on peut observer une augmentation constante de la turbidité de la solution allant de 2,87 à 8,81 FNU pour les solutions allant de 0,2 à 1g.L^{-1}, nous observons ensuite une stabilité de la turbidité pour les solutions restantes; la raison peut-être la transition des hélices comprenant le polymère en doubles hélices en s'associant au processus de refroidissement, cette transformation plus dense des hélices pourrait former des agrégats suffisamment gros qui élèvent la turbidité du milieu avec une concentration accrue.

4.2. Mesures pour les solutions GLT

4.2.1. Mesures conductimétriques des solutions GLT

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la figure au-dessous :

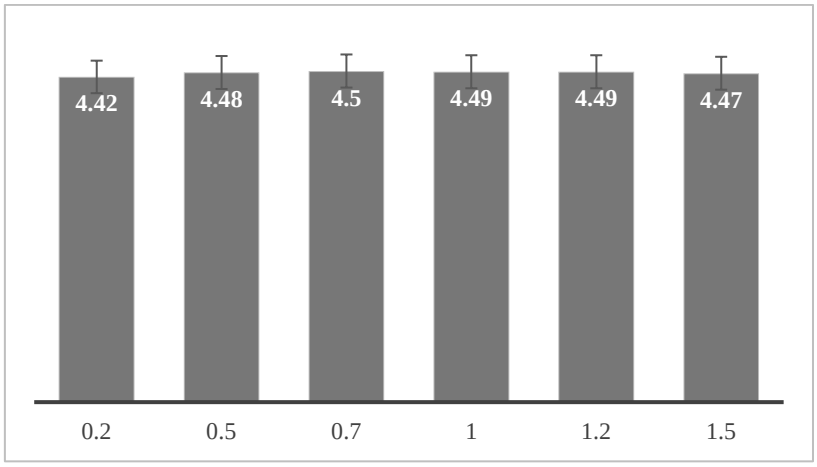


Fig.65. Conductivité des solutions GLT en fonction des concentrations.

La figure ci-dessus montre la variation de la conductivité en fonction de la concentration des solutions GLT, nous observons la stabilité de la conductivité pour toutes les solutions du l'ensemble, la valeur moyenne se situant autour de 4,5 mS.cm^{-1} pour la plage de concentrations allant de 0,2 à 1,5 g.L^{-1}

4.2.2. Mesures pH-métriques pour les solutions GLT

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la figure66 :

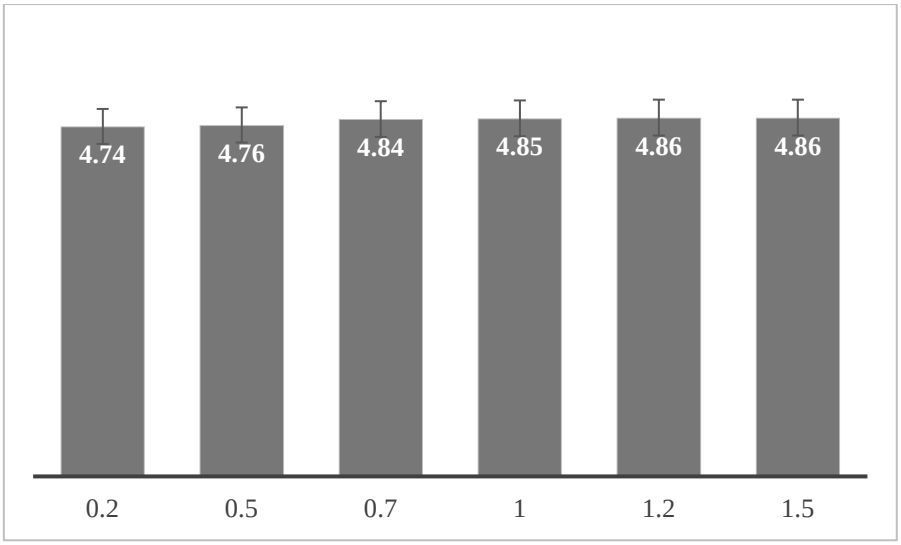


Fig.66. pH des solutions GLT en fonction des concentrations.

La figure ci-dessus montre la variation des niveaux de pH en fonction du pourcentage de la GLT, nous avons de très légères variations de pH pour la plage de concentration de la GLT, la valeur moyenne étant d'environ 4,8, cette valeur de pH étant similaire au pH des solutions de AGR qui nous permet de travailler dans des conditions stables et favorables pour la formation des complexes AGR et GLT

4.2.3. Mesures de turbidité des solutions GLT

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la figure 67 :

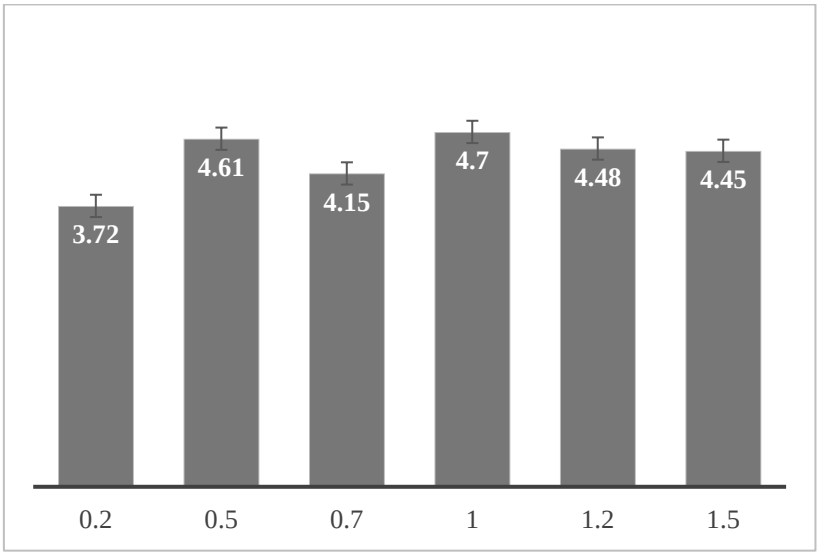


Fig.67. Turbidité des solutions GLT en fonction des concentrations.

La figure ci-dessus montre la variation de la turbidité en fonction des concentrations de GLT. Nous pouvons observer une variation non significative de la turbidité pour l'ensemble de solutions avec des valeurs comprises entre 3,7 et 4,6 FNU

pour la plage de concentration de 0,2 à 1,5 $g.L^{-1}$, on peut considérer la turbidité de la gélatine comme stable.

4.3. Préparation de la gamme de concentrations AGR/GLT

Avec les caractéristiques des solutions singulières mesurées, l'étape suivante consiste (après avoir préparé le même ensemble de solutions fraîches) à mélanger les solutions de l'Agar et de gélatine en fonction de leurs concentrations, chaque concentration d'un polymère étant mélangée avec l'autre solution de polymère de même concentration résultant en six solutions mélangées de 50 mL d'agar et de gélatine. Les nouvelles solutions sont agitées pendant 10 minutes à 35 ° C, puis stockées à 4 ° C pendant la nuit. Les mêmes mesures seront appliquées à l'ensemble de concentrations mélangées.



Fig.68. Agitateur de tubes.

4.3.1. Mesures conductimétriques des mélanges AGR/GLT

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la figure 69 :

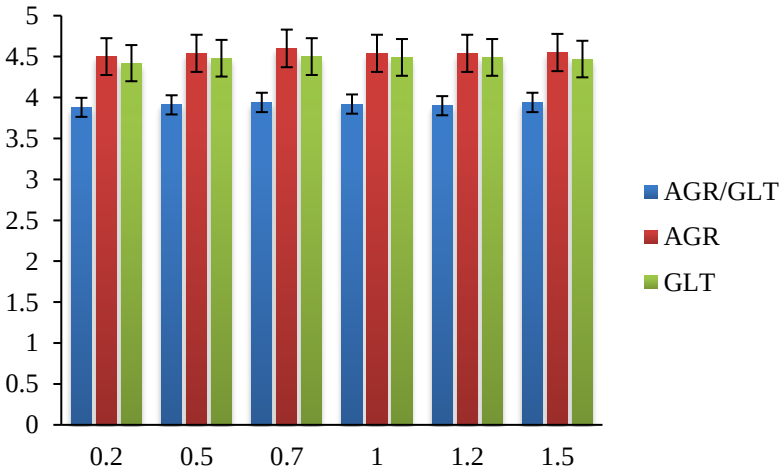


Fig.69. Conductivité des différents systèmes étudiés en fonction de la concentration du concentration d'agar.

La figure ci-dessus montre la conductivité des complexes AGR, GLT et AGR / GLT en fonction de la concentration en agar (sauf pour le GLT, c'est en fonction de sa propre concentration), en comparant les trois systèmes de la figure, on constate une nette diminution de la conductivité des complexes due à une diminution des charges dans l'environnement, la conductivité moyenne des complexes est d'environ 3,7 $ms.cm^{-1}$, ce qui diminue celle des solutions séparées qui est d'environ 4,5, ce qui s'explique par les interactions entre les deux biopolymères du complexe où les complexes GLT des sites anioniques (hydroxyle) de l'AGR diminuent le nombre de charges dans le milieu, cet effet est appelé "interaction électrostatique charge à charge" '

4.3.2. Mesures pH-métrique des mélanges AGR/GLT

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la figure (Fig. 70) :

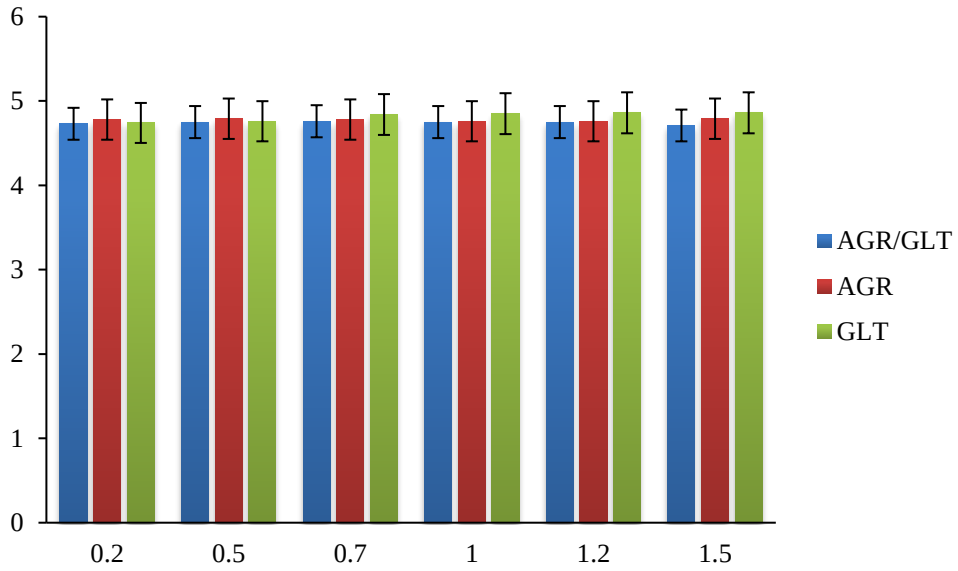


Fig.70.pH des différents systèmes étudiés en fonction de la concentration du polymère dans le milieu : AGR (rouge), GLT (vert) et AGR/GLT (bleu).

La figure ci-dessus montre la variation du pH des complexes AGR, GLT et AGR / GLT en fonction de la concentration en AGR (sauf pour le GLT, en fonction de sa propre concentration), nous observons une valeur de pH stable dans les systèmes situés dans la plage de concentration étudié avec une valeur moyenne d'environ 4,7 ±

0,1 pour les trois systèmes, cela indique que nous fonctionnons toujours dans un milieu de pH idéal.

4.3.3. Mesure de turbidité des mélanges AGR/GLT

Les mesures de turbidité nous donnent une idée plus précise du comportement macroscopique des phases complexes de la solution AGR / GLT dans la solution, les composants polyélectrolytiques des solutions complexes ont des charges opposées dans leurs conditions actuelles ; il existe donc un rapport de (n_{AGR} / $n_{GLT\text{-}NH2}$) où les complexes formés précipitent et provoquent une augmentation de la turbidité globale du milieu.

Tout au long des manipulations suivantes, nous surveillons la variation de turbidité des solutions de concentration mélangées et un ensemble de solutions de fractions mélangées à l'aide d'un turbidimètre (Figure 71).

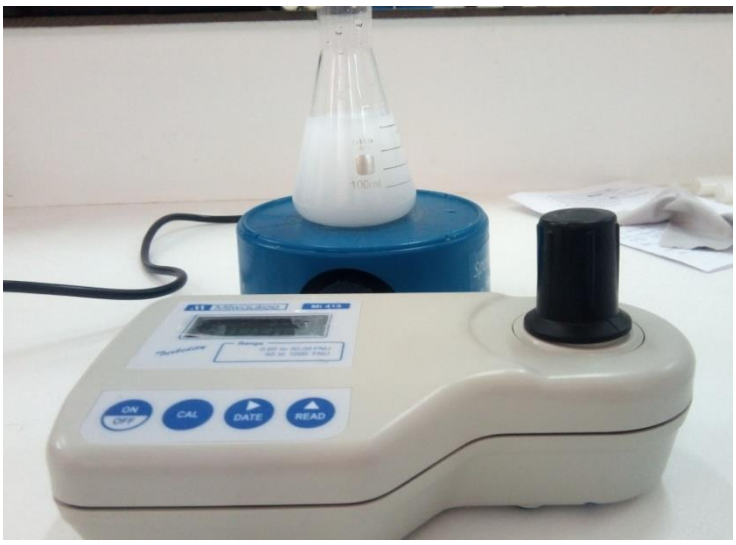


Fig.71. Turbidimètre**.**

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la figure 72:

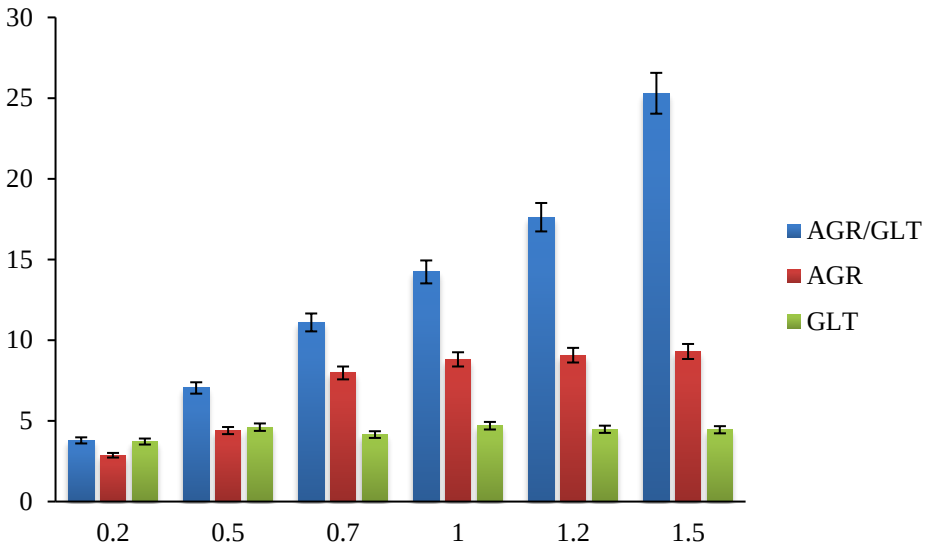


Fig.72.pH des différents systèmes étudiés en fonction de la concentration du polymère dans le milieu : AGR (rouge), GLT (vert) et AGR/GLT (bleu).

Nous rappelons qu'auparavant les solutions de GLT étaient plus ou moins transparentes en l'absence d'AGR dans la gamme de concentration étudiée, l'AGR étant présent dans les solutions, nous observons une augmentation nette et progressive de la turbidité de 3,7 à 25,3 FNU avec une présence accrue de l'agar (concentration) dans le milieu. Ceci s'explique par l'augmentation des complexes insolubles (précipités) de l'AGR et du GLT dans les solutions suffisamment grandes (ou de plus en plus grandes) pour diffuser la lumière traversant la solution.

4. 4. Mesure de turbidité des solutions pourcentages mélangées AGR/GLT

Pour passer aux mesures suivantes, nous fixerons la concentration de la solution d'AGR et de GLT à 1 $g.L^{-1}$ en fonction des résultats de conductivité en fonction de la concentration, nous étudierons maintenant l'influence du pourcentage de chaque biopolymère dans la solution la formation d'agrégats du complexe AGR/GLT.

Pour ce faire, nous avons étudié l'évolution de la turbidité des solutions d'AGR/GLT en fonction de différents pourcentages de chaque biopolymère dans une solution donnée.

Tableau.10. Gamme de pourcentages de solutions l'agar et gélatine étudiées.

Pourcentage AGR (%)	10	25	50	75	90

Pourcentage GLT (%)	90	75	50	25	10

Les résultats de mesures sont représentés graphiquement dans la courbe au-dessous :

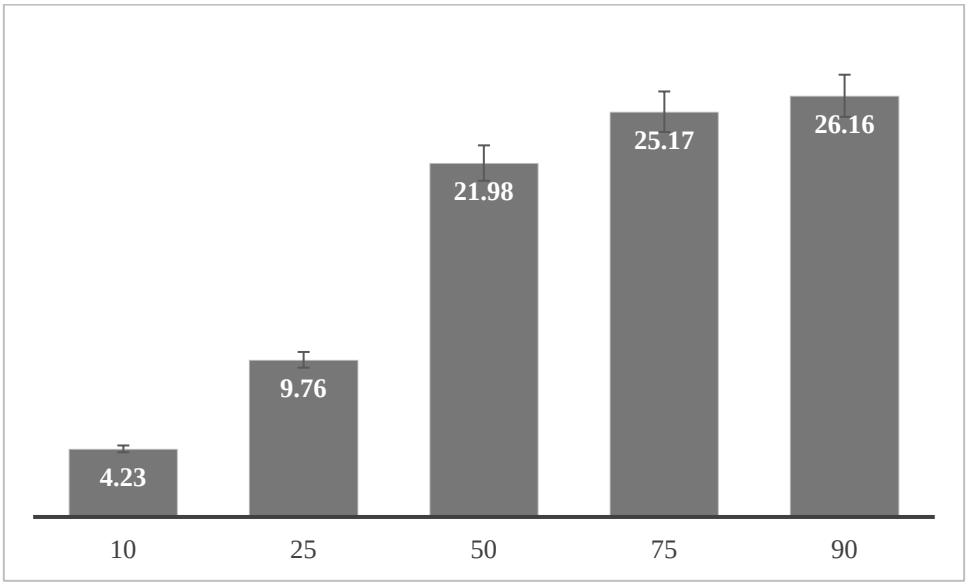


Fig.73. Turbidité des solutions AGR/GLT en fonction des pourcentages d'AGR.

Nous observons une augmentation importante de la turbidité de 4,2 à 22 FNU pour des pourcentages allant de 10% à 50% d'AGR, la turbidité des solutions restantes restant plus ou moins stable avec peu de variation, nous pouvons en conclure qu'un pourcentage pair de 50%50% AGR et GLT est le rapport idéal de biopolymère à utiliser lors de la phase suivante de préparation de l'émulsion.

5. Phase de préparation des émulsions

Enfin, avec toutes les mesures de base des produits, les solutions de concentrations uniques et mélangées et de pourcentages mélangés toutes effectuées, le mélange de concentrations idéales ainsi que le mélange de pourcentages idéal ont été déterminés comme étant un mélange à 50%50% d'une concentration de 1 $g.L^{-1}$ d'agar et de gélatine, c'est la formule que nous recherchions et nous allons donc l'utiliser comme phase aqueuse des émulsions que nous allons préparer.

Outre la phase aqueuse à base d'agar et de gélatine jouant le rôle de phase continue dans nos émulsions, la phase dispersée ou ce que nous appellerons "la phase huileuse" sera une huile d'amande douce de la plus haute qualité que nous puissions obtenir. L'huile d'amande, et plus particulièrement l'huile d'amande douce, s'est

révélée être l'une des meilleures huiles compatibles avec la peau humaine, même meilleure que son homologue amère.

Cinq émulsions seront préparées et subir un test stabilité en fonction du temps pendant 30 jours, la stabilité se rapportant ici au niveau de déphasage et aux modifications des propriétés physico-chimiques telles que la conductivité, la viscosité et l'absorbance causée par le vieillissement.

L'ensemble des émulsions sera divisé en deux ensembles d'émulsions, l'un des ensembles restant à la température ambiante, l'autre étant stocké dans le réfrigérateur à 4°C, la raison étant de simuler l'effet de la température sur le processus de vieillissement de la crème hypothétique qui nous donnera une meilleure idée de la durée de stabilité de la crème dans différentes conditions de stockage.

5.1. Préparation de la gamme des émulsions

Nous allons préparer 5 émulsions de 100 mL de pourcentages différents de la fraction d'huile croissante, les pourcentages étant : 20%, 40%, 50%, 60% et 80% le reste est bien sûr solution aqueuse, la concentration de la solution aqueuse sera 10 fois plus grande que la concentration que nous avons déterminée auparavant afin de distinguer facilement la phase huileuse du reste de l'émulsion en cas de déphasage, car la phase aqueuse sera plus épaisse que l'huile qui coule.

Les étapes de préparation de nos émulsions sont énumérées avec quelques illustrations ci-dessous :

1. Nous devons d'abord préparer 300 mL de solution aqueuse qui consiste en un mélange d'Agar et gélatine de 150 mL à 10 $g.L^{-1}$ chacun séparément puis en les mélangeant à la solution aqueuse désirée.

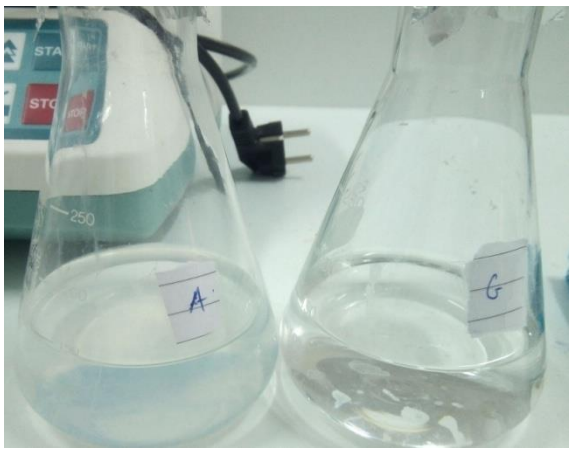


Fig.74. Solutions d'Agar 10$g.L^{-1}$(gauche) et de gélatine 10$g.L^{-1}$(droite).

2. Nous obtenons 250 mL d'huile d'amande.
3. Nous mettons 20 mL, 40 mL, 50 mL, 60 mL, 80 mL de solution aqueuse dans cinq béchers avec un volume de 2,5 mL de tween 80 chacun.
4. Nous plaçons le bécher un par un sous l'homogénéiseur et commençons à agiter les solutions aqueuses pour qu'il se mélange bien avec le tensioactif à une vitesse de 13 000 $tr.min^{-1}$ pendant quelques minutes.

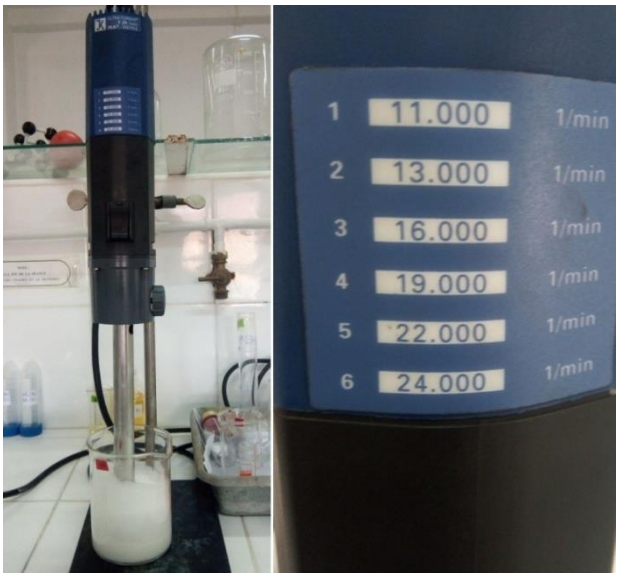


Fig.75. Homogénéiseur Ultra-turrax IKA T25 (gauche), tableau de vitesses de l'homogénéiseur (droite).

5. Nous commençons à ajouter la quantité d'huile correspondante pour chaque solution sous l'homogénéiseur tout en démarrant un compteur de temps lorsque l'huile est introduite pour la première fois.
6. Le processus d'homogénéisation est surveillé pendant 30 minutes après le premier mélange de l'huile pour chaque bécher.
7. Les émulsions obtenues sont stockées dans des flacons scellés étiquetés avec la formule et les conditions de stockage correspondantes (Température ambiante ou 4°C).

Le tableau suivant regroupe les différentes formules :

Tableau.11. Pourcentages des phases aqueuses et huileuses dans les différentes formules.

Formules	F1	F2	F3	F4	F5
Phase aqueuse (%)	80	60	50	40	20
Phase huileuse (%)	20	40	50	60	80



Fig.76. Emulsions préparées divisées en deux séries d'émulsions à température ambiante et à 4 ° C.

5.2. Analyses physico-chimiques des émulsions

Les analyses suivantes ont été effectuées pendant une période de 30 jours depuis la préparation des émulsions. Les paramètres particuliers que nous analyserons sont les suivants : conductivité, absorbance. La variation de conductivité indique le niveau de déphasage entre la phase huileuse et la phase aqueuse car l'huile n'est pas conductrice, plus elle déphase, plus elle influence la conductivité générale de l'émulsion en l'abaissant, il en va de même pour la phase aqueuse, qui est conductrice, donc il augmente la conductivité avec une présence accrue dans l'émulsion.

Les mesures d'absorbance donnent une idée précise de l'opacité de l'émulsion lors du déphasage. Plus l'huile déphase plus l'émulsion absorbe la lumière. Ces deux paramètres nous permettent de surveiller la stabilité de nos émulsions pour la période donnée.

Au cours de la période d'analyse, nous suivons quotidiennement les protocoles de mesure de la conductivité et de l'absorbance avec une variation de ce protocole une fois par semaine. Ces protocoles sont expliqués ci-dessous :

1. **Mesures quotidiennes de la conductivité de l'émulsion :** nous mesurons simplement la conductivité de toute l'émulsion.

2. **Mesure quotidienne de transmittance des solutions des émulsions :** nous prenons un petit échantillon de 0,5 g de chaque émulsion et que nous le diluons dans 50 mL d'eau distillée et effectuons une mesure d'absorbance avec spectrophotomètre UV-Vis à une longueur d'onde de 600 nm avec une cuve en verre.

La valeur d'absorbance obtenue est directement convertie en transmittance (%) par la loi de Beer-Lambert :

$$A = 2 - \log (T\%)$$

Avec :

A : Absorbance et **T%** : transmittance

3. **Protocole hebdomadaire :** consiste à effectuer une centrifugation d'un échantillon de 0,5 g d'une émulsion donnée dont les paramètres sont définis à 3000 $tr.min^{-1}$ pendant 15 minutes. Les échantillons centrifugés sont ensuite dilués dans 50 mL d'eau distillée. La transmittance est ensuite mesurée comme les mesures quotidiennes.

5.2.1. Paramètres physico-chimiques initiaux des émulsions fraîches

Après la préparation réussie de l'ensemble d'émulsions, nous établirons ensuite leurs paramètres initiaux en mesurant leur pH et leur conductivité lorsqu'ils sont à l'état frais. Les résultats de ces mesures respectives pour chaque émulsion sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau.12. Résultats de mesure du pH, de la conductivité de l'ensemble d'émulsion.

	pH	**Conductivité (mS/cm)**
F1	4,87	2,921
F2	4,83	1,469
F3	4,84	1,355
F4	4,79	0,642
F5	4,8	0,328

Dans le tableau précédent, nous pouvons observer que le pH des formules est parfaitement similaire au pH des solutions complexes de polyélectrolytes étudiées précédemment ; en réalité, les niveaux de pH des émulsions préparées sont très

similaires et donc compatibles avec une peau saine et humaine, très faible risque d'irritation après application sur les tissus cutanés.

D'autre part, les résultats de conductivité du tableau semblent varier de manière prévisible en fonction de la variation de la proportion de phase huileuse dans une formule donnée, à mesure que celle-ci décroît de 2,9 à 0,3 ms.cm-1 avec une augmentation de la phase huileuse de 20 % à 80% d'huile, cette relation inverse de conductivité et de pourcentage d'huile nous donne des indices sur la nature de la phase continue de l'émulsion, de telle sorte que la phase huileuse empêche l'écoulement d'un courant électrique en raison de ses radicaux hydrophobes et de son très faible nombre de charges de sorte que la conductivité diminue, le contraire est vrai si la phase continue est une solution aqueuse conductrice avec des charges abondantes (ions) entraînant une conductivité accrue.

Sur les cinq émulsions préparées, les émulsions F4 et F5 ont montré un déphasage total au cours des premiers jours qui ont suivi le processus d'homogénéisation, elles ont donc été exclues du reste de l'étude en raison de leur défaut évident.

5.2.2. Mesures de la viscosité apparente des émulsions les plus stables

La viscosité a été mesurée pour les 3 émulsions les plus stables parmi les groupes d'émulsions, les émulsions sont les suivantes : F1, F2 et F3 à la fois pour les ensembles à température ambiante et à 4°C. La viscosité d'un échantillon de 15 mL d'une émulsion donnée a été mesurée à l'aide d'un viscosimètre rotatif à une température de 39,9°C avec la broche N°4 aux quatre vitesses de broche disponibles : 6, 12, 30 et 60 $tr.min^{-1}$ pour chaque échantillon.



Fig.77. Viscosimètre rotatif utilisé dans la mesure.

Les résultats sont représentés dans les figures suivantes :

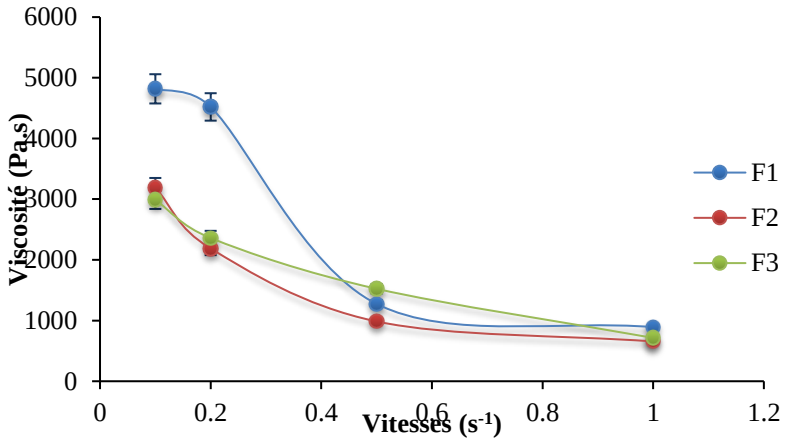


Fig.78. Viscosité apparente en fonctions de vitesse de cisaillement pour les émulsions ambiantes.

La figure ci-dessus montre la viscosité apparente des émulsions F1, F2 et F3 en fonction de la vitesse de rotation de la broche. Les courbes indiquent que la viscosité décroît progressivement avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement. La viscosité atteint des valeurs maximales de 4800, 2980 et 3190 (Pa.s) pour F1, F2 et F3 respectivement à la vitesse la plus basse de 0,1 (s^{-1}), elle diminue à 890, 710 et 650 (Pa.s) pour les émulsions F1, F2 et F3 respectivement à la vitesse maximale de 1 (s^{-1}).

Ces résultats nous montrent que les émulsions ont un comportement rhéofluidifiant non newtonien (ou pseudo plastique) où la viscosité décroît avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement, l'écoulement est donc facilité avec l'augmentation du gradient de vitesse, les émulsions sont généralement connues pour avoir un comportement rhéofluidifiant.

5.2.3. Mesures conductimétriques des émulsions

Les mesures de conductivité quotidiennes de chaque émulsion sont mesurées pendant une période de trente jours avec une mesure hebdomadaire après centrifugation censée accélérer le processus de déphasage, faisant ainsi progresser l'émulsion (échantillon) une semaine dans son évolution.

a) Conductivité des émulsions ambiantes en fonction du temps

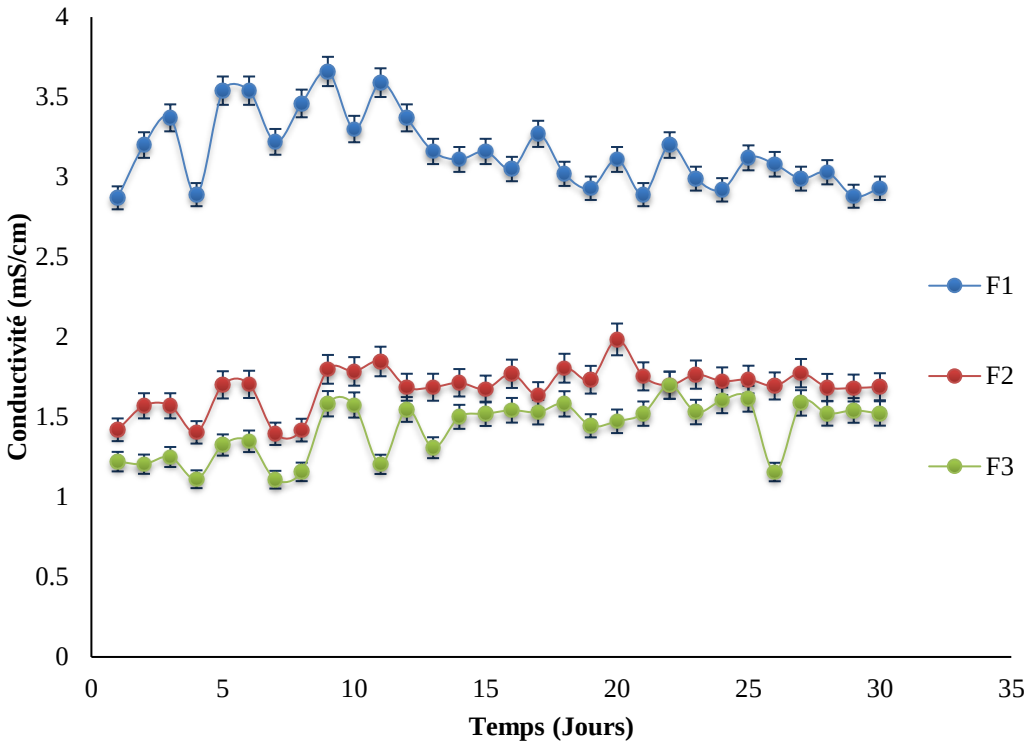


Fig.79. Conductivité des émulsions ambiantes en fonction du temps (jours)

La figure ci-dessus montre la conductivité des émulsions ambiantes en fonction du temps. Nous constatons que les émulsions conservent leur état quasi stable pendant toute la période de surveillance de 30 jours, pendant laquelle la conductivité des solutions ambiantes tend à osciller autour de la même valeur. conductivité; pour l'émulsion F1, elle varie légèrement au cours des deux premières semaines, puis se stabilise en oscillant entre 3 et 3,5 $mS.cm^{-1}$, l'émulsion F2 présente peu ou pas de variation par rapport à une valeur moyenne d'environ 1,5 à 1,7 $mS.cm^{-1}$, la conductivité de l'émulsion F3 suit le même schéma de variation où elle varie autour d'une valeur moyenne de 1,3 à 1,5 $mS.cm^{-1}$, cette stabilité en conductivité nous montre qu'il y a eu peu d'inversion de phase au cours de la période , c'est-à-dire des phénomènes peu déphasage, tels que la floculation et la coagulation des gouttelettes d'huile dans l'émulsion, indiquant une bonne stabilité.

b) Conductivité des émulsions à 4C° en fonction du temps

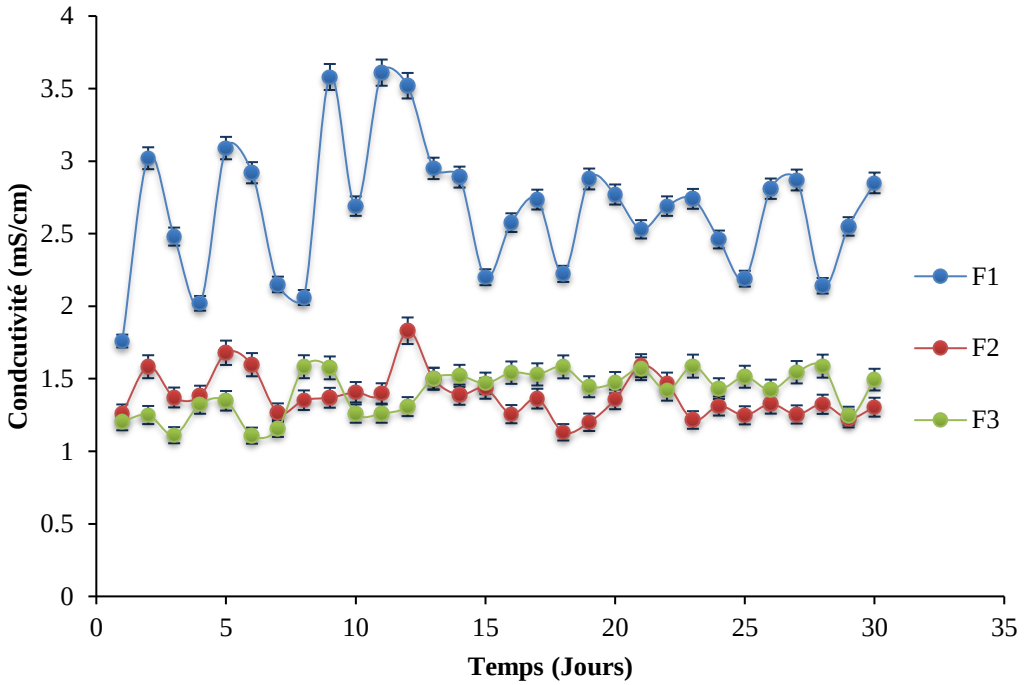


Fig.80. Conductivité des émulsions à4°C en fonction du temps (jours).

En ce qui concerne les émulsions stockées à 4 ° C, on peut observer à partir des courbes de la figure ci-dessus que les résultats de conductivité des émulsions sont identiques à ceux de leurs homologues ambiantes, on constate que la conductivité varie de la même manière durant la période d'essai, cela montre que la stabilité de cet ensemble d'émulsions a été fortement influencées par la température de stockage de 4°C qui a perturbé la stabilité.

La température peut affecter de manière significative la stabilité de l'émulsion, de sorte qu'elle peut affecter les propriétés physiques de l'huile principalement à cause d'une diminution de la viscosité de l'huile, de l'eau, des pellicules interfaciales dans lesquelles une augmentation de la température a entraîné une déstabilisation progressive des pellicules interfaciales huile/eau et la solubilité des tensioactifs dans les phases huileuses et aqueuses, qui affectent à leur tour la stabilité l'émulsion.

Pour mieux comprendre ces résultats, nous allons comparer les valeurs d'air sous les courbes pour les deux cas (émulsions Ambiant et 4°C) en utilisant la méthode des trapèzes.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Résultats de la méthode de trapèze de la conductivité des émulsions stockées à température ambiante et à 4°C en fonction du temps

Formules	F1	F2	F3

Emulsions stockées à T° ambiante	93,4±0,6	49,8±0,3	42,2±0,4
Emulsions stockées à T°= 4°C	79,0±0,3	40,8±0,4	41,8±0,3

Les résultats présentés sur le tableau montrent une légère diminution d'air sous la courbe des formules F1 et F2 stockées à 4°C qui passe de 93,4 à 79 et de 49,8 à 40,8 pour les mêmes formules stockées à température ambiante. Cela montre une légère déstabilisation qui est probablement dû à la proportion importante de la phase huileuse qui change de comportement mécanique en fonction de la température.

Le résultat de l'air sous la courbe de la formule F3 stockée à une température ambiante est identique à celui que nous avons obtenu avec celle stockée à 4°C.

5.2.4. Mesures quotidiennes de transmittance des solutions des émulsions

a) Courbes de la transmittance des solutions des émulsions ambiantes en fonction du temps

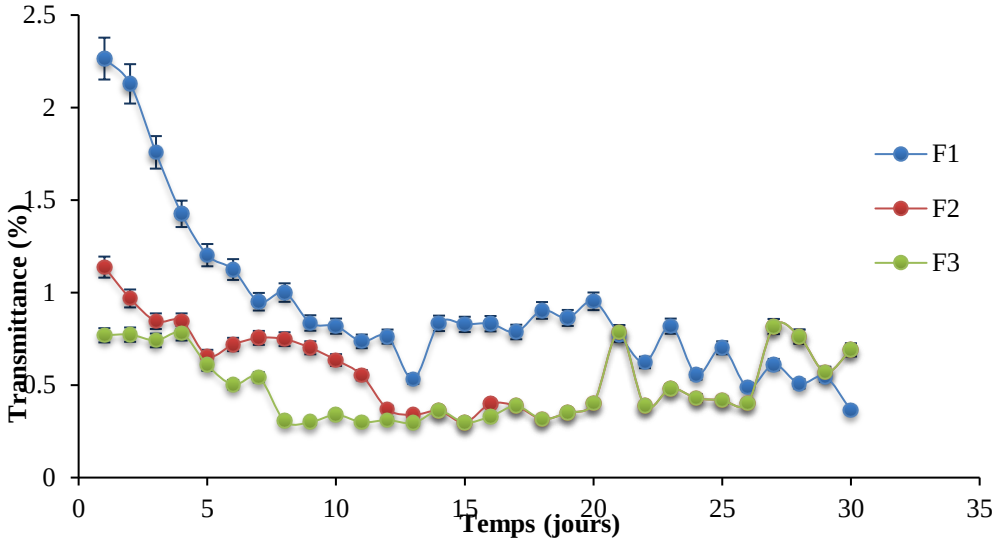


Fig.81. Transmittance des solutions des émulsions ambiantes en fonction du temps.

Nous observons dans la figure ci-dessus que les émulsions F1 montrent une forte diminution de la transmittance, puis une stabilisation après environ 10 jours, où elle passe de 2,26 à 0,8%, cet effet peut également être observé quelque peu pour les deux autres émulsions F2 et F3où nous voyons une diminution de 1,12 à 0,6% et de 0,75 à 0,25% respectivement. La diminution pourrait être due à un processus de déphasage. Les résultats de transmittance pour l'émulsion F1 nous indiquent qu'il s'agit de la formule la moins stable des trois ; par conséquent, F2 et F3 sont les plus stables.

b) Courbes de transmittance des solutions des émulsions à 4°C

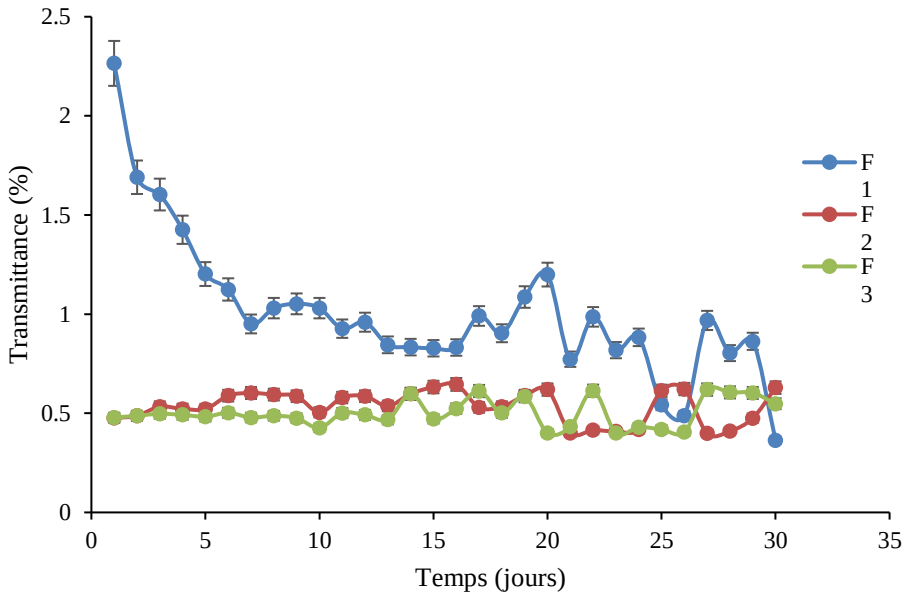


Fig.82. Transmittance des solutions des émulsions à 4°C en fonction du temps.

La figure ci-dessus montre le même profil de variation de courbe de l'émulsion stockée à température ambiante, la différence étant dans ce cas la transmittance très faible des émulsions F2 et F3 d'environ 0,47%, cela pourrait indiquer que les émulsions ont été dégradées en raison de la température de stockage très basse de 4°C où la miscellisation n'est pas favorable entraînant le déphasage ou la déstabilisation de ces émulsions.

Les tensioactifs ont des gammes de température très spécifiques qui favorisent la déshydratation de ses chaînes moléculaires conduisant à la formation des micelles essentielles à la stabilité les émulsions.

Cet effet est plus clair après la comparaison des valeurs d'air sous les courbes avec la méthode de trapèzes, ces résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 14 : Résultats de la méthode de trapèze de la transmittance des émulsions stockées à température ambiante et à 4°C en fonction du temps.

Formules	F1	F2	F3
Emulsions stockées à T° ambiante	26,4±0,2	16,9±0,5	14,4±0,3
Emulsions stockées à T°= 4°C	29,1±0,8	11±0,3	10,3±0,7

Les résultats du tableau montrent une diminution de l'air sous la courbe de 16,9 à 11 et de 14,4 à 10,3 pour les deux émulsions F1 et F2 respectivement, de sorte que cela pourrait indiquer la dégradation de ces émulsions.

5.2.5. Mesures hebdomadaires de transmittance des solutions des émulsions

Comme expliqué précédemment, le protocole hebdomadaire d'analyse des émulsions consiste simplement à effectuer une centrifugation des échantillons des émulsions (1g) puis à les diluer dans de l'eau distillée (50 mL). La transmittance de ces solutions sera ensuite mesurée.

Les mesures centrifugation ayant duré cinq semaines, les graphiques correspondants représentent la conductivité ou l'absorbance en fonction du temps mesuré en semaines :

a) Courbes de transmittance des solutions des émulsions ambiantes après centrifugation en fonction du temps

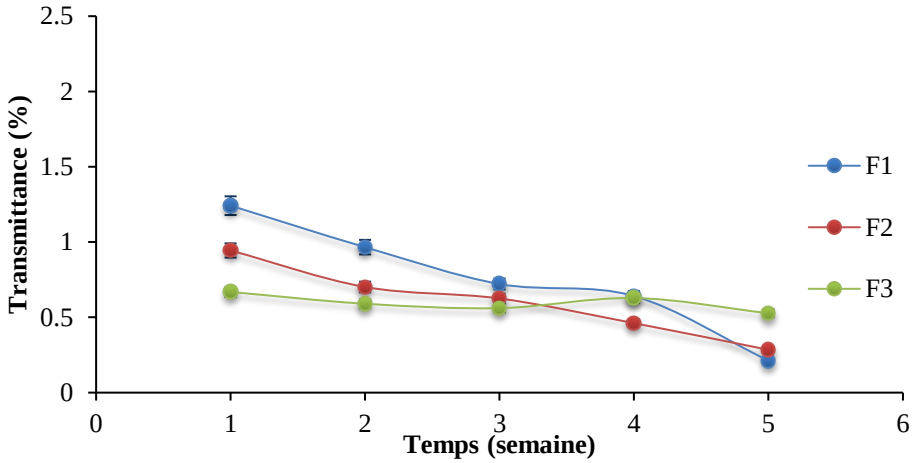


Fig.83. Transmittance des solutions des émulsions ambiantes après centrifugation en fonction du temps.

La figure ci-dessus montre que les résultats hebdomadaires de transmittance des émulsions après centrifugation sont assez similaires aux résultats de transmittance quotidiens pour le 7 ème, 14 ème et 21 ème jour. Ces valeurs diminuent après un certain temps en raison du processus de déphasage accéléré induite par centrifugation de l'échantillon d'émulsion où les gouttelettes d'huile coagulent plus rapidement, ce qui entraîne la séparation de la phase huileuse de la phase aqueuse.

b) Courbes de transmittance des solutions des émulsions à 4°C après centrifugation en fonction du temps

Les mesures de transmittance pour la solution d'émulsion n'ont pas pu être effectuées en raison du manque de quantité de produit, mais aussi en raison du déphasage ou de la dégradation probable des émulsions en raison de la température de stockage, ces mesures seront inutiles, car nous avons déjà une idée claire de la stabilité de ces résultats à partir des résultats de transmittance quotidiens.

Conclusion générale

En énumérant quelques-uns des avantages importants attribués à l'agar et à la gélatine, comme leurs propriétés physico-chimiques remarquables telles que l'élasticité et la fermeté de leurs formes gélifiées ou leur compatibilité les unes avec les autres dans des solutions aqueuses, ces biopolymères ont le potentiel d'être d'excellents excipients pharmaceutiques.

Une complexe gélatine / agar qui associe ces biomatériaux de manière naturelle pour former une matrice capable d'héberger des principes actifs thérapeutiques est un moyen idéal de mettre à profit leurs nombreuses propriétés dans la formation des émulsions stables où ils composent la phase continue.

Pour notre étude, nous avons déterminé le pH idéal dans lequel les taux d'ionisation des groupes fonctionnels dans les deux polyélectrolytes (AGR et GLT) sont à un point où les groupements hydroxyles dans les chaînes AGR et les groupements amines dans les chaines GLT ont un taux d'ionisation égale aussi que des charges opposées créant ainsi des liaisons électrostatiques entre les fonctions ionisées dans les biopolymères conduisant à une valeur de pH où ils créent le complexe le plus stable, cette valeur de pH s'est avérée être autour de 4,2.

Nous avons préparé quatre séries de solutions : deux séries de concentrations croissantes de chaque biopolymère séparé. Les concentrations utilisées étaient : 0,2, 0,5, 0,7, 1, 1,2 et 1,5 $g.L^{-1}$. La conductivité, le pH et la turbidité ont été mesurés pour ces deux séries : les deux solutions de polyélectrolytes partageaient pratiquement les mêmes valeurs de conductivité autour de 4,5 $mS.cm^{-1}$, quelle que soit leur concentration, elles partageaient également les mêmes niveaux de pH d'environ 4,7, quelle que soit leur concentration, ce qui est proche de la valeur idéale du pH. La turbidité des solutions d'AGR augmente de façon exponentielle avec la concentration causée par la formation de gros agrégats de doubles hélices pendant le refroidissement des solutions et se stabilise à la concentration de 1 $g.L^{-1}$ autour de 9,07 FNU, la turbidité du GLT variait de 3,72 à 4,7 FNU.

Un troisième ensemble de solutions des complexes AGR / GLT dans la même gamme de concentration que précédemment a été préparé et les mêmes mesures ont été appliquées: la conductivité des complexes a été trouvée inférieure à celle des solutions séparées des deux biopolymères autour de 3,7 $mS.cm^{-1}$(CPX AGR/GLT) par rapport à 4,5 $mS.cm^{-1}$(solutions) en raison de la diminution des charges dans les solutions après la formation des liaisons électrostatiques dans le complexe, les niveaux de pH étaient identiques à ceux des solutions séparées autour de 4,7 quelle

que soit la concentration. La turbidité des solutions complexes augmentait progressivement avec la concentration de 3,7 à 25,3 FNU, du fait de la formation de gros agrégats insolubles du complexe, augmentant ainsi la diffusion de la lumière dans le milieu.

$1g.L^{-1}$ était la concentration choisie pour créer le quatrième ensemble de solutions du complexe où l'on modifiait la proportion de chaque biopolymère dans la solution à concentration constante. Les pourcentages utilisés étaient les suivants : 10, 25, 50, 75 et 90% d'AGR avec le volume restant étant GLT. La turbidité de l'ensemble a été mesurée et s'est avérée augmenter progressivement de 4,23 à 21,98 FNU de 10 à 50% AGR, puis elle s'est stabilisée pour les solutions restantes autour de 24,4 FNU; nous avons donc choisi la formule 50% Agar $1g.L^{-1}$ pour préparer la phase continue des émulsions.

Nous avons préparé ensuite deux séries d'émulsions de proportions croissantes de phase aqueuse, les proportions utilisées étaient les suivantes : 20, 40, 50, 60 et 80% de phase aqueuse, les séries étaient stockées à température ambiante et à 4 ° C. les émulsions à 20 et 40% (Aq) affichaient une déstabilisation depuis sa préparation et ont donc été éliminées de toute étude ultérieure.

Le pH, la conductivité et la viscosité initiaux ont été mesurés pour les émulsions fraîches, le pH était stable aux environs de 4,8 quelle que soit la composition de l'émulsion, la conductivité diminuait avec la diminution de la proportion de phase aqueuse de 2,921 à 0,328 $mS.cm^{-1}$en raison de la diminution des électrolytes dans la matrice de l'émulsion, la viscosité diminuant de 4800 , 2980 et 3190 Pa.s à 890, 710 et 650 Pa.s avec vitesse de cisaillement croissante, présentant un comportement rhéofluidifiant non newtonien caractéristique aux émulsions.

Pendant une période de temps de 30 jours, la stabilité des deux ensembles d'émulsions a été contrôlée par des mesures quotidiennes et hebdomadaires de la transmittance de la solution d'un échantillon d'émulsion et de la conductivité de l'émulsion.

La conductivité des émulsions à la température ambiante était quasi stable, oscillant autour de 3,5, 1,5 et 1,3 $mS.cm^{-1}$ pour les émulsions F1, F2 et F3 respectivement, concluant ainsi qu'il y avait peu ou pas d'inversion de phase (déphasage) pendant la période d'essais, les émulsions à 4°C affichaient des valeurs de conductivité inférieures à celles de leurs homologues ambiantes en raison de la

température de stockage qui abaissait la viscosité de l'émulsion, de ses surfaces interfaciales et de la solubilité du tensioactif.

La mesure de la transmittance des solutions d'échantillons ambiantes a montré une diminution rapide de la transmittance au cours des 10 premiers jours de 2,26 à 0,8%, de 1,12 à 0,6% et de 0,75 à 0,25% pour les émulsions F1, F2 et F3 respectivement, concluant ainsi que la formule F1 était la moins stable des trois formules.

La transmittance des solutions d'échantillon de l'émulsion à 4 ° C a montré une valeur faible de 0,47% pour les émulsions F2 et F3, indiquant une dégradation due à la température de stockage défavorable pour la miscellisation.

Les mesures de transmittance hebdomadaires après centrifugation d'un échantillon d'émulsions à température ambiante afin de l'avancer d'une semaine dans son évolution révèlent un décroissement rapide après environ le $23^{ème}$ jour de 1,25, 0,95 et 0,65% à 0,2, 0,23 et 0,51% pour les émulsions F1, F2 et F3 respectivement, en raison de la coagulation rapide des gouttelettes d'huile et du déphasage induite par centrifugation.

En raison de l'absence des produits et de leur dégradation probable, aucune mesure de la transmittance n'a été effectuée pour l'échantillon de l'émulsion à 4 ° C.

Nous avons conclu que :

Selon nos résultats de mesure des paramètres physico-chimiques mentionnés ci-dessus, les formules idéales des émulsions à base d'un complexe d'agar et de gélatine les plus stables sont les suivantes : F2: phase aqueuse à 60%, phase d'huile à 40% et F3: phase aqueuse à 50%, phase huileuse à 50%, stocké à température ambiante pendant au moins 30 jours après la production, et peut être appliqué en toute sécurité sur les tissus cutanés sans risque d'irritation du fait d'un niveau de pH similaire.

Une conclusion secondaire est que nous pourrions avoir une idée de la nature de l'émulsion en observant ses mesures de conductivité où elle est inversement proportionnelle à la composition huileuse d'une émulsion donnée.

Notre étude peut être développée en mettant en œuvre des paramètres et des tests supplémentaires énumérés ci-dessous :

a) Mener une étude comparative de plusieurs types de gélatine et agar pour déterminer les types les plus compatibles pour ce travail.

b) Augmenter les gammes de concentrations et proportions pour déterminer avec précision la concentration et proportion de biopolymère dans l'émulsion pour une stabilité maximale.

c) Déterminer la composition chimique exacte des produits déférents utilisés pour détecter les propriétés et les modifications des produits chimiques.

d) Evaluez l'activité biologique, toxicité, biodégradabilité et biocompatibilité des émulsions.

e) Allonger la période de test pour voir la plage de temps de stabilité avec précision.

f) Et enfin, intégrer une substance simulant un principe actif dans une émulsion, tester la stabilité du mélange et étudiez le processus de libération de la substance de la matrice d'émulsion.

Références bibliographiques

1) **Kaplan L.D**; 'Naturally Occurring Biodegradable Polymers', Polymer Systems Synthesis and Utility, Hanser Publishing, New York - NY, 1994.

2) **Chandra R** and**Rustagi R** ; 'BiodegradablePolymers', Progress in polymer science 23(7) : 1273-1335, 1998.

3) **U.S. Congress - Office of Technology Assessment**; 'Biopolymers: Making Materials Nature's Way', U.S. Government Printing Office OTA-BP-E-102, Washington D.C., September 1993.

4) **Uptima**; "Agar, for culture media", interchim, trouvé ici: http://www.interchim.fr/ft/2/291901.pdf.

5) **Kagino M, Tazawa S, Maruyama H, Tsuruma K, Araki Y, Shimazawa M** and **Hara H**; 'Laxative effects of agarwood on low fiber diet induced constipation in rats', BMC complement alternative medicine 10:68, 15 November 2010.

6) **Yamano Y, Kagawa Y, Kim K.H** and**Gohtani S**; 'Stability and uniformity of oil droplets in preperation of O/W emulsion agar gel', Food science and technology international 2(1) 16-18, Department of biosource science, Kagawa university, ikenobe, miki, kagawa 761-07, Japan, 1996.

7) **Santosh kumar R** and **Naga Satya Yagnesh T**; 'Pharmaceutical suspensions: patient compliance oral dosage forms', World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences 5(12):1471-1537, GITAM Institute of Pharmacy, GITAM University, Rushikonda, Visakhapatnam, 29 November 2016.

8) **Miyazawa K, Yajima I, Kaneda I** and **Yanaki T**; 'Preparation of a new soft capsule for cosmetics', Journal of cometic science 51:p: 239-252, Basic research center, Shiseido Co 223-8553, Japan, 29 March 2000.

9) **Destribats M** ; ' Emulsions stabilisées par des particules colloïdales stimulables : propriétés fondamentales et matériaux, Analyse de données, Statistiques et Probabilités', Université des Sciences et Technologie, Bordeaux I, 2010.

10) **Arditti S ; '**Fabrication, stabilité et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales, Analyse de données, Statistiques et Probabilités', Université des Sciences et Technologies, Bordeaux I, 2004.

11) L'émulsification: image d'une glace violette en coupe réalisée par emulsification,obtenue ici:http://www.2amii.org/upmc/2017_JEUDI_PM/THUET/L%27emulsification.html

12) **Baldini C**; 'What is mayonnaise?', dreamstime.com

13) **Graham T, Ostwald W, Svedberg T** and **Zsigmondy R ; '**Colloïde ', Britannica Online Encyclopedia, Obtenu le 31 Mars 2019.

14) Colloid, obtenu ici: http://www.scienceclarified.com/Ci-Co/Colloid.html.

15) Formulation cosmétique des émulsions, obtenue ici: http://ressources.unisciel.fr/formulation_cosmetique/co/2-3.html

16) **Satya PM** and **Bidyut P;** 'Uses and applications of micro emulsions', Current science 80(8), April 2001.

17) Microemulsions :Definition&Composition, trouvé ici: https://slideplayer.com/slide/13493759/

18) **Zotov A.V** and **Saranin A**; "island coarsening", trouvé ici: http://eng.thesaurus.rusnano.com/wiki/article5246

19) Obtenu ici :http://tpe-cuisine-mol-ponto.e-monsite.com/pages/l'emulsification/ le 28 février 2019.

20) **SuperManu**;"Schéma d'une micelle formé par des phospholipides en milieu aqueux", trouvé ici:

21) **Khan AY, Talegaonkar S, Iqbal Z, Ahmed FJ** and**Khar RK;** 'Multiple emulsions: An overview', Current Drug Delivery, 2006.

22) **Guering P ; '**Etude structurale des microémulsions par effet Kerr et R.M.N, Dynamique des Fluides', Université Paris Sud, Paris XI, 1985.

23) **Gannu P.K** and**Ajmeera D**; "nanoemulsion based targeting in cancer therapeutics", Medicinal chemistry 5:272-284, 24 june 2015, india.

24) **Perazzo A, Preziosi V** and **De Guido S**; "Phase inversion emulsification: current understanding and applications", advances in colloid and interface science, 1 January 2015.

25) Trouvé ici: http://physique.unice.fr/sem6/2010-2011/PagesWeb/tensioactifs/intro/effets/effets.html

26) **Grondin G**; "émulsion et mousse", trouvé ici: https://docplayer.fr/59782994-Mots-cles-tensioactif-emulsion-et-mousse.html.

27) **Zakanda F. Nsimba, Michel Paquot, Lelo G. Mvumbi**and **Magali Deleu;** "Les dérivés tensioactifs de la glycine bétaïne : méthodes de synthèse et potentialités d'utilisation", 14(4) BASE: Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement/Biotechnology, Agronomy, Society and Environment, 2 février 2010,

28) Asphaltene& Emulsion Research, obtenu ici: https://www.ucalgary.ca/ENCH/AER/res_proj.htm

29) Surface and Interfacial Tension, trouvé ici: https://www.nanoscience.com/techniques/tensiometry/surface-interfacial-tension/

30) **Klang V** and **Valenta C;** 'Lecithin-based nanoemulsions, J. Drug Delivery', Journal of Drug Delivery Science and Technology, science & technology 21: p: 55-76, December 2011.

31) **Griffin P** and **William C;** 'Classification of Surface-Active Agents by 'HLB'', Journal of the Society of Cosmetic Chemists 1(5): p: 311–326, 1949.

32) **Schroen K**; "Dynamics of Emulsion Coalescence", trouvé ici: https://www.wur.nl/en/show/Dynamics-of-Emulsion-Coalescence.htm

33) **Fouilloux S**; "Nanoparticules et microfluidique pour un système modèle d'émulsions de Pickering Etude des mécanismes de stabilisation et déstabilisation", Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2011 France.

34) **Forest M** and **Tang I.Y**; "Optimisation d'une méthode de calcul pour les cuves agitées avec le logiciel OpenFOAM".

35) **Caullet L,Dossantos A, Knipper G, Rusalen M** et **Seigneur M**; "Les émulsions alimentaires et cosmétiques", université de lorraine, 2017-2018.

36) Hélice turbine de Rushton/pour agitateur/débit radial R100 lightnin, trouvé ici: http://www.directindustry.fr/prod/lightnin/product-24564-1281349.html

37) **KG Schnell K GMBH & Co**; "Système de découpe rotor-stator /à couteau/ à commande manuelle/ pour l'industrie agroalimentaire", trouvé ici: http://www.directindustry.fr/prod/karl-schnell-gmbh-co-kg/product-96123-1757055.html

38) Obtenue ici :http://www.directindustry.fr/prod/probst-class-gmbh-co-kg/product-70617-1542553.htmlle 15 mars 2019.

39) **Probst and class GMBH & Co KG**; " Moulin à colloïde", trouvé ici: http://www.directindustry.fr/prod/probst-class-gmbh-co-kg/product-70617-1542553.html.

40) "L'homogénéisateur en ligne ", trouvé ici: https://www.proxes-france.fr/dil.php.

41) **Robidas R**; "Émulsion par techniques ultrasoniques"; https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a1/%C3%89mulsion_par_techniques_ultrasoniques.png

42) **PitchayaPingpithayakul**; "senior scientist looking at orange chemical liquid in the glass flask", shutterstock.

43) **Mainard M** and **Jacob D**; "la mesure de taille e nanoparticules par diffusion ynamique de la lumière", Cordouan Technologies – Pessac.

44) **Davidson A** and **Jaine T;** 'the Oxford Companion to Food 2nd edition', Oxford University Press, 21 September 2006

45) **Tanglao E.J, Kumar A.B.N, Noriega R.R** and **Marcelo P**; "Development and physico-chemical characterization of virgin coconut oil-in-water emulsion using polymerized whey protein as emulsifier for Vitamin A delivery", MATEC Web of Conferences 268(21):1002 · January 2019.

46) **Colliex C ;** 'La Microscopie Electronique', Presse Universitaire de France, 1996.

47) **Xing Y, Xui M, Gui X, Cao Y, Babel B, Rudolph M, Weber S, Kappl M** and **Butt HJ;** 'The application of atomic force microscopy in mineral flotation', Advances in Colloid and Interface p: 20, 06 February 2018.

48) **PreetzC, HauserA, HauseG, KramerA**and **MaderK;** 'Application of atomic force microscopy and ultrasonic resonator technology on nanoscale: distinction of nanoémulsions from nanocapsules', European journal of pharmaceutical sciences 39(1-3): p: 141-51, 31 January 2010.

49) **Kasas S ;** « La microscopie à force atomique dans la recherche en biologie », médecine/sciences8:p : 140-8, 1992.

50) **Schmidt U, F. Vargas F, Kress M** and **Weishaupt K**; 'Confocal Raman AFM - A powerful tool for the nondestructive characterization of heterogeneous materials', Microscopy and Microanalysis 12(S02), August 2006.

51) **McClements DJ;** "Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance", Soft matter 7(6): p: 2297-2316, March 2011.

52) **Brizrd M ;** 'Développement et étude d'un viscosimètre absolu à chute de bille', Discipline : Mécanique et énergétique, Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 20 Mai 2005.

53) **Moreau C**; "La viscosité" trouvé ici: https://docplayer.fr/15744625-Introduction-rheologie-et-viscosite-generalites-la-viscosite.html

54) "Viscosimètre de type vibrant", trouvé ici: https://www.viscosimetre.fr/tag/viscosimetre-vibrant/page/2/

55) **Ben Azouz K ;** 'Relation entre propriétés rhéologiques et structure microscopique de dispersions de particules d'argile dans des dispersions de

polymères', sciences de l'ingénieur [physiques], Université de Haute Alsace, Mulhouse 2010.

56) "Rheometry", trouvé ici: https://www.liberaldictionary.com/rheometry/

57) **Jalpur**; "Agar Agar Powder (VeganGelatin) - 200g", trouvé ici: https://www.amazon.com/Agar-Powder-Vegan-Gelatine-200g/dp/B00HH80XEG

58) **Petruzzello M ; '**Agar ', Encyclopaedia Britannica, obtenu 17 février 2019.

59) Barathyselvarani S;" seaweeds and their applications", trouvé ici: https://slideplayer.com/slide/9013406/

60) **Davidson A** and **Jaine T;** 'the Oxford Companion to Food 2nd edition', Oxford University Press, 21 September 2006.

61) **Balfour E** and **Quaritch B;** 'the cyclopedia of India and of eastern and southern Asia: commercial, industrial and scientific, products of the mineral, vegetable, and animal kingdoms', Useful arts and manufactures, p: 71, 1885.

62) **Armisen R** and **Galatas F;** 'Chpitre 1- Production, properties and uses of Agar', Poligono Industrial de Villalonquejar Calle Lopez Bravo "A", Burgos, Spain.

63) **Balfour E** and **Quaritch B;** 'the cyclopedia of India and of eastern and southern Asia: commercial, industrial and scientific, products of the mineral, vegetable, and animal kingdoms', Useful arts and manufactures, p: 71, 1885.

64) **Scott C, Zarazua A** and **Levine G**;" Urban-Wastewater Reuse for Crop Production in the Water-Short Guanajuato River Basin, Mexico", January 2000.

65) **Craigie J.S;** 'Biology of the red algae Cell walls', p: 221-258, Cambridge university press1990.

66) **Perèz R ;** 'Ces algues qui nous entourent: conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisation et culture 1ère édition', p : 131,1 janvier 1997.

67) **Wickens G.E;** 'Economic botany: principles and practices', Springer p: 556, 2004.

68) **Imerson A** and **Alan P;** 'Thickening and gelling agents for food', Springer, p: 320, 1997.

69) **Imerson A** and **Alan P;** 'Thickening and gelling agents for food', Springer, p: 320, 1997.

70) **NussinovitchA;** 'Hydrocolloid applications: gum technology in the food and other industries', Blackie academic & professional p: 354, New York, NY, 1997.

71) "The Agarose Matrix", trouvé ici: https://www.nationaldiagnostics.com/electrophoresis/article/agarose-matrix

72) Kohajdova Z and karovicova J; "Application of hydrocolloids as baking improvers", Chemical Papers- Slovak Academy of Sciences 63(1):26-38, February 2008.

73) **Craigie J.S**; 'Cell walls', Biology of the red algae p: 221-258, Cambridge university press, 1990

74) " Agar gel", trouvé ici: http://cablo.commongroundsapex.co/agar-gel/

75) **Satya PM** and **Bidyut P;** 'Uses and appliucations of microemulsions', Current science 80(8), April 2001.

76) **Graham T, Ostwald W, Svedberg T** and **Zsigmondy R ; '**Colloïde', Britannica Online Encyclopedia, Obtenu le 31 Mars 2019

77) Alba K and Kontogiorgos V; "Seaweed Polysaccharides (Agar, Alginate Carrageenan)", January 2018.

78) **Lahaye M;** 'Developments on gelling algal galactans, their structure and physico-chemistry', Journal of applied phycology 13: p: 173-184, 2001.

79) "Gel Filtration Chromatography Media: What You Need to Know", trouvé ici: https://bitesizebio.com/29762/gel-filtration-chromatography-media/

80) **Bixler H.**J and **Porse H;** 'A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry", Journal of applied phycollogy, 23:321-335, 2010.

81) **Mao B**; 'Dynamics of agar-based gels in contact with solid surfaces: gelation, adhesion, drying and formulation', Université de Bordeaux, 2017.

82) **McHugh D.J;** 'A guide to the seaweed industry', Fisheries technical paper No: 441, 2003.

83) **Armisen R, Gatalas F** and**Hispanagar S.A; '**Philips GO & Williams PA: Handbook of hydrocolloids', p: 1-21, Woodhead publishing, 2000.

84) **Armisen R;** 'Thickening and gelling agents for food', Wiley Blackwell, p: 320, 1997.

85) "Fruit Yogurt Agar (Kanten)", trouvé ici: https://cookpad.com/us/recipes/143812-fruit-yogurt-agar-kanten

86) "Les gélifiants et leur utilisation (gélatine, pectine, agar-agar)", trouvé ici: https://empreintesucree.fr/les-gelifiants-gelatine-pectine-agar-agar/

87) **El kolli H**; "Etude de la réticulation par le glutaraldéhyde de deux gélatines de nature et de Blooms différents et son effet sur certaines propriétés", université farhatabbas, setif, 2009.

88) "Boisson au jus de pamplemousse et agar agar pour une cure minceur de vitamine et du fibre", trouvé ici: https://www.ptitchef.com/recettes/boisson/boisson-au-jus-de-pamplemousse-et-agar-agar-pour-une-cure-minceur-de-vitamine-et-du-fibre-fid-263338

89) "Les gélifiants et leur utilisation (gélatine, pectine, agar-agar)", trouvé ici: https://empreintesucree.fr/les-gelifiants-gelatine-pectine-agar-agar/

90) **Imerson A;** 'Food stabilizers, thickening and gelling agents', Wiley Blackwell& sons, December 2009

91) **Nussinovitch A**; 'Polymer macro- and micro-Gel beads: fundamentals and applications', Springer p: 303, 2010.

92) **Bruneton J**; 'Pharmacognosy, photochemistry, medical plants',Technique and documentation p: 1119, 1999.

93) **Stewart G.F**; 'Advances in food research', Academic press 1: p: 433, 1963.

94) "Revelador de placa dental Mira-2-ton pastillas. Pack 3 X 50 pastillas" and Banque d'images - Gélules d'huile de poisson isolées sur fond blanc, trouvé ici: https://www.ebay.es/itm/Revelador-de-placa-dental-Mira-2-ton-pastillas-Pack-3-X-50-pastillas-/162029945694 et https://fr.123rf.com/photo_76363885_g%C3%A9lules-d-huile-de-poisson-isol%C3%A9es-sur-fond-blanc.html

95) **Bouakkaz A, Cachad C** and **Gimenez G**; **'**Evaluation de l'agar, matériau solide présentant des caractéristiques acoustiques équivalentes à celles de l'eau', Journal de physique supplément au journal de physique III 4, 1994.

96) **Liu M.Y, Mei J.F, Chan J.S** and **Ying G.Q**; 'Advances in study on biological activities of agaro-oligosaccharides', Pharmaceutical Biotechnology, 6, 2008.

97) **Garon-lardièresS ;** 'Etude structurale des polysaccharides partiaux de l'algue rouge *Asparagopsisarmata*', université de Bretagne occidentale, école doctorale des sciences de la matière, de l'information et du vivant, 24 février 2004.

98) **Meer;** 'Handbook of hydrocolloids', Dental moulds, Woodhead publishing p: 450, 1980.

99) **Ward A.G;** 'The Science and Technology of Gelatin', Food 22(4): p: 159-207, Academic press London, New York, san francisco1977.

100) **Freitas N, Gurrini L.B, Esper L.S** and**Sbrana M.C**; 'Evaluation of photobiomodulation therapy associated with guided bone regeneration in critical size defects. In vivo study', Journal of Applied Oral Science 26, April 2018.

101) **Keenan T.R**; 'La Macromolécule de Gélatine, édition Ellipse', chapitre 16 :92-111, Paris 1998.

102) **Jacqueline I, Kroschwitz**and **Wiley J & sons;** 'Gelatin', Encyclopedia of Polymer Science and Engineering 3: p: 488, Chichester and new York 1985.

103) **LeHir A, Chauneil J.C, Brossard D, Charrueau**et**Crauste-Manciet S ;** 'Pharmacie Galénique- Bonnes Pratiques de Fabrication des Médicaments 8ème édition', Le pharmacien hospitalier et clinicien 52(1) : p : 76- 78, Masson Paris, Mars 2017.

104) **Yamano Y, Kagawa Y, Kim K.H** and**Gohtani S**; 'Stability and uniformity of oil droplets in preparation of O/W emulsion agar gel', Food science and technology international 2(1) 16-18, Department of biosource science, Kagawa university, ikenobe, miki, kagawa 761-07, Japan, 1996.

105) **Tracton A.A**, 'Coatings Technology Handbook 3rd edition', CRC Press Taylor & Francis group, p: 345-421, 6000Broken sound parkway New York 2006.

106) **Djabourov M** and **BonnetN**, **Kaplan H;** '3D analysis of Gelatin Gel Networks from Transmission Electron microscopy imaging', Journal de Physique II 3(5): 611-624, EDP Sciences, 1993.

107) **Renard D, Van de velde F** and **Visschers R.W**; 'The gap between food gel structure, texture and perception', Food Hydrocolloids 20(4):423-431, June 2006.

108) **Schreiber R** and**Gareis H;** 'Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice', p: 50-116, Wiley-VCH Verlag & CO, USA 2006.

109) **Potdevin A**; 'Synthèse par voie sol-gel et caractérisation de matériaux luminescents nanostructures applicables dans une nouvelle génération de lampes propres', Universite Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2007.

110) **HuangY** and**Chih Y.C;** 'Microencapsulation of Extract Containing Shikonin Using Gelatin-Acacia Coacervation Method: A Formaldehyde-Free Approach', Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 58: p: 290-297, 2007.

111) **Surh J a**nd **Decker E.A;** 'Properties and Stability of Oil-in-Water Emulsions Stabilized by Fish Gelatine', Journal of Food Hydrocolloids 20 p: 596-606, 2006.

112) **Welz M.M** and **Ofner C.M 3rd;**'Examination of Self-Cross linked Gelatin as a Hydro gel for Controlled Release', Journal of pharmaceutical sciences, 81(1): p: 753-833, January 1992.

113) **Olive J, Mori F** and **Toda Y;** 'Influence of the Molecular-Weight Distribution of Gelatin on Emulsion Stability', Journal of Colloid and Interface Science 243: p: 476-482, 2001.

114) **Kumar D.P, chandra M.V, Krishnamoorthy E** and**Aswathnaryan S**; "Structural properties of gelatin extracted from croaker fish (Johniussp) skin waste", International Journal of Food Properties, January 2018.

115) **Le Hir A** ; 'Pharmacie Galénique- Bonnes Pratiques de Fabrication des Médicaments, 8ème édition', p : 76- 78 Masson – Paris 2001.

116) **Chène C ;** 'Les Gélatines ', Journal de l'ADRIANOR Agro-jonction N°24, p: 752-788, 8 Mars 2011.

117) **Martini M.C** and **Seiller M ;** 'Actifs et Additifs en Cosmétologie 3ème édition', p : 279-958, Décembre 2016.

118) **Schrieber R** and**Gareis H**; 'Gelatin Handbook: Theory and Industrial Practice', p: 50-116, Wiley-VCH Verlag &Co, USA 2006.

119) **Galaev I** and**Mattiasson B**; 'Smart Polymers Applications in Biotechnology and Biomedicine 2nd edition', Chapter 8, CRC Press, 25 July 2007.

120) **Djabourov M** and**Hellio D**; "chemically and physically cross-linkedgelatin gels", laboratoire de physique et mecanique des milieux heterogenes, ecoles de physique et chimie (ESPCI)10, Rue vauquelin, 75231 paris cedex 5, France

121) **Chang CP**, **T.K. Leung TK, Lin S.M** and **Hsu C.C;** 'Release Properties on Gelatin-Gum Arabic Microcapsules Containing Camphor Oil with added Polystyrene', Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 50: p: 136-140, 1 July 2006.

122) **Choi Y.S** and **Hong S.R;** 'Study on Gelatin-Containing Artificial Skin: I Preparation and Characteristics of Novel Gelatin-Alginate Sponge', Journal of Biomaterials 20(5): p: 409-417, Mars 1999.

123) **Ward A.G** and **Courts A;** 'The Science and Technology of Gelatin', Academic press London 99: p: 159-207london New York 1977

124) **Ofner C.M 3rd**and **Zhang Y.E;** 'Cross linking Studies in Gelatin Capsules Treated with Formaldehyde and in Capsules Exposed to Elevated Temperature and Humidity', Journal of Pharmaceutical Sciences 90(1): p: 79-88, Januray 2001.

125) **Hung R.G**, **SchawrtzJ.B** and **Ofner C.M 3rd;** 'Microencapsulation of Chlorpheniramine Maleate-Resin Particles with Cross linked Chitosan for Sustained Release', Pharmaceutical Development and Technology 4(1): p: 107-115, 1999.

126) **Schacht E**, **DrayeJ.P** and **Delaey B;** 'Medicaments Containing Gelatin Cross linked with Oxidized Polysaccharides', United States Patent 6: p: 132,759, October 2000.

127) "Micro vs. Macro-encapsulation", trouvé ici: https://www.ecoflo.com/2015/01/30/micro-vs-macro-encapsulation/