

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE
MEMOIRE DE MASTER
SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**Optimisation de la composition et des conditions
expérimentales pour stabiliser une émulsion de Pickering**

Présenté par : **BELAIDI** **Chanez**
BOUKHALFA **Dihia**

Soutenu publiquement, le 13 /06 /2018, *devant le Jury composé de :*

AYATI	Fadila	MCB	UMMTO	PRESIDENT
TOUZOUIRT	Saida	MCB	UMMTO	ENCADREUR
KESSAL	Fetta	MAHU	UMMTO	EXAMINATEUR
ABDOUN	AMAR	Ph. Microbiologiste	UMMTO	EXAMINATEUR

Dédicaces.....

A la mémoire de mon très cher papa 'Mohamed'

*Je ne saurais exprimer mon grand chagrin en ton absence,
Tu es sûrement là à veiller sur nous,
J'aurais aimé que tu sois à mes cotés en ce jour,
Que Dieu, le tout puissant, puisse t'avoir en sa sainte miséricorde !*

A la mémoire de ma sœur 'Lynda'

*C'est tellement dur sans ta présence...
Tout au long de ta vie, tu n'as été que courage, gentillesse, générosité et amour,
Tu aimais la vie, rire, aider les autres et faire partager ta richesse intérieure,
Le souvenir de ton doux sourire restera à jamais dans mon cœur,
Que dieu, le tout puissant, puisse t'avoir en sa sainte miséricorde !*

A la mémoire de mon beau frère 'Moh-Larbi'

*A cette source de tendresse, de patience, Douces pensées...
Tu étais un deuxième père pour moi.....
Que Dieu, le tout puissant, puisse t'avoir en sa sainte miséricorde !*

*Il ya quelque chose de plus fort que la mort,
C'est la présence des absents, dans la mémoire des vivants.....*

A ma très chère maman

*Maman, je te remercie pour tout l'amour,
Le soutien que tu m'apportes depuis ma naissance,
J'espère que ta bénédiction m'accompagnera toujours,
Je t'aime Maman
Puisse Dieu, t'accorder santé, bonheur et longue vie.*

A ma très chère Nadia 'Nadoucha yinou'

*Source de tendresse,
Pour tes prières, ton soutien et ta générosité,
Aucun mot ne saurait exprimer l'immense attachement que je te témoigne,
Ma reconnaissance et mon profond amour envers toi,
Qu'ALLAH te procure santé et longue vie....*

A mes très chères Ourdia et Zohra

Qui ont toujours été là pour moi avec leur amour inconditionnel et leur soutien sans faille

A mes chères sœurs et frères,

(Samia, Djamila, Malika, Amel, Youcef, Sofiene, Amar et Hamid)

A mes neveux et nièces

A mon binôme et amie Dihia

A tous mes ami(e)s

*Que ce modeste travail soit l'exaucement des vœux tant formulés, et le fruit d'innombrables
sacrifices.....*

Dédicaces.....

Je dédie ce modeste travail à

Mes très chers parents

*A maman, à la plus belle créature que Dieu a créée
sur terre, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et
de mon éternelle gratitude.*

*A mon père qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de
sacrifices. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

Mes très chers frères et sœurs

(Haouas, Fatiha, Amirouche et Mokrane)

*Qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de
générosité. Dieu vous garde pour moi.*

A mes très chers neveux et nièces (Aghiles, Lina, Ania, Akram, Rayan, Ryma, et Maya)

A la mémoire de mon très cher grand père

Que Dieu, le tout puissant, puisse t'avoir en sa sainte miséricorde

A ma chère grande mère

Mes chères belles sœurs (Ferroudja et Meriem)

A mon binôme et amie Chanez

A tous mes ami(e)s

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, vous
préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.*

Dihia

Remerciements

Nous remercions Dieu de nous avoir donné la patience et la volonté pour réaliser ce travail.

Nos remerciements et nos profondes reconnaissances à notre promotrice Mlle TOUZOUIRT Saida qui a su nous guider avec patience, nous prodiguer conseils judicieux et orientations scientifiques ainsi que pour la confiance, et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer. C'est un grand honneur pour nous d'avoir travaillé sous sa direction.

Un remerciement particulier pour le professeur AHMED ZAID de L'Ecole Nationale Polytechnique qui a toujours été à notre disposition et qui nous a aidé de manière très cordiale.

Nous remercions aussi Mme F. KESSAL et Mr A. ABDOUNE de la faculté de médecine pour leurs aides et leurs disponibilités.

Nos remerciements vont également à tous nos enseignants durant ces années d'études.

Nous exprimons nos sincères remerciements à Mme F. AYATI qui nous a honoré de sa présence en acceptant de présider le jury de notre soutenance.

Nos remerciements s'adressent également à Mme F. KESSAL et à Mr A. ABDOUNE, qui ont accepté d'examiner ce travail.

Un grand merci à Mme Z.HADJEM, Mme S.BEN ALI, Mlle R.DJAOU et Mlle O.SEBAOUI du laboratoire de pharmacie galénique de la faculté de Médecine.

Un grand merci aussi à Mme F.KHELOUI et Mr ANNARIS Hamid de la faculté de Génie Civil de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

On tient à exprimer nos sincères remerciements pour tout le personnel du laboratoire chimie pharmaceutique de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Mme KOULOUGLI et Mlle BELAZIZ.

Nous remercions Professeur AZZAM la chef de service de laboratoire de microbiologie du CHU de TIZI OUZOU pour son aimable contribution.

Enfin, nos remerciements vont vers toutes les personnes qui, de près ou de loin nous ont apportés leurs soutiens et leurs conseils pour la réalisation de ce mémoire.

Etude de la Stabilité physique d'une Emulsion De Pickering à Usage Pharmaceutique

Résumé

L'objectif de notre travail est d'étudier la stabilité physique d'une émulsion de Pickering contenant de la Bentonite en présence de faibles quantités de tensioactif cationique (CTAB) et d'électrolyte (NaCl). La méthodologie des plans d'expériences a été utilisée afin de trouver la composition ainsi que les conditions opératoires optimales qui donne la meilleure stabilité de l'émulsion. L'étude rhéologique et l'évaluation de l'activité microbiologique ont été réalisées sur le produit fini.

Mots Clés : Emulsion de Pickering, Stabilité physique, Bentonite, Méthodologie des surfaces de réponse, Activité Antibactérienne.

Study of the Physical Stability of a Pickering Emulsion for Pharmaceutical Use

Abstract

The objective of our work is to study the physical stability of a Pickering emulsion containing Bentonite in the presence of low amounts of cationic surfactant (CTAB) and electrolyte (NaCl). The experimental design methodology was used to find the optimal composition and operating conditions that gives the best stability of the emulsion. The rheological study and the evaluation of the microbiological activity were carried out on the finished product.

Keywords: Pickering Emulsion, Physical Stability, Bentonite, Response Surface Methodology, Antibacterial Activity.

دراسة الاستقرار المادي لمستحلب بيكرينغ للاستخدام الصيدلاني

ملخص

الهدف من عملنا هو دراسة الاستقرار المادي لمستحلب بيكرينغ المحتوي على البنتونيت في وجود كميات قليلة من السطحي لموجب (CTAB) و كلوريدات الصوديوم (NaCl) ، وذلك باستخدام التجارب من أجل العثور على التكوين الأمثل الذي يعطي أفضل الاستقرار للمستحلب. اكتمال الدراسة من تقييم النشاط المضاد للبكتيريا فيما يتعلق بأنواع بكتيرية مختلفة.

الكلمات الرئيسية: مستحلب بيكرينغ ، الاستقرار المادي ، البنتونيت ، منهجية استجابة السطح ، تأثير مضاد للجراثيم.

Table des matières

Glossaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse bibliographique

1.	Généralités sur les émulsions.....	2
1.1.	Définition d'une émulsion.....	2
1.2.	Divers types d'émulsions.....	2
1.3.	Stabilités des émulsions.....	3
1.4.	Systèmes stabilisants les émulsions.....	3
1.4.1.	Tensioactifs.....	3
1.4.2.	Polymères.....	4
1.4.3.	Particules solides.....	4
2.	Emulsions de Pickering.....	4
2.1.	Définition d'une émulsion de Pickering.....	4
2.2.	Domaine d'application d'une émulsion de Pickering.....	4
2.3.	Avantages d'une émulsion de Pickering.....	5
2.4.	Mécanisme de stabilisation des émulsions de Pickering.....	5
2.4.1.	Aspects énergétiques.....	6
2.4.2.	Le mouillage des particules et la position à l'interface.....	6
2.5.	Facteurs influents la stabilité d'une émulsion de Pickering.....	7
2.6.	Formulation des émulsions de Pickering.....	7
3.	Rhéologie d'une forme semi-solide.....	9
3.1.	Comportement non newtonien.....	9
3.2.	Viscoélasticité.....	9
4.	Méthodologie d'optimisation.....	9
4.1.	Généralités sur les plans d'expérience.....	9
4.2.	Intérêt des plans d'expériences.....	10
4.3.	Plan de surface de réponse.....	10
4.4.	Plan composite centré.....	10

Table des matières

Matériels et Méthodes

1. Produits et matières utilisés.....	12
1.1. Bentonite	12
1.2. NaCl	12
1.3. Bromure de Cétyltriméthylammonium (CTAB)	13
1.4. Huile de Soja	13
1.5. Thymol	14
1.6. Matières biologiques et milieu de culture	14
1.6.1. Souches bactériennes.....	14
1.6.2. Milieux de culture	14
2. Matériel utilisé	14
3. Méthodologie d'optimisation	15
3.1. Construction du plan d'expérience.....	15
3.1.1. Choix des facteurs	15
3.1.2. Choix des réponses.....	15
3.2. Construction du plan composite centré	16
4. Procédés de formulation et caractérisation des émulsions	16
4.1. Procédés de formulation.....	16
4.2. Techniques d'évaluations de la stabilité physico-chimiques des émulsions préparées :..	16
4.2.1. Mesure de viscosité	16
4.2.2. Taille des gouttelettes	17
4.2.3. Tests de résistance à la centrifugation.....	17
4.2.4. Etude du comportement rhéologique	17
4.3. Incorporation du principe actif	17
5. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'émulsion	17
5.1. Réalisation de l'antibiogramme.....	17
5.1.1. Préparation des disques	17
5.1.2. Repiquages des cultures jeunes	18
5.1.3. Préparation des suspensions bactériennes	18
5.1.4. Ensemencement.....	18
5.1.5. Lecture.....	18

Table des matières

Résultats et Interprétations

1. Etude statistique des résultats.....	19
• Série 1.....	19
1.1. Validation du modèle	19
1.1.1. Adéquation du modèle	19
1.1.2. Facteurs significatifs	20
1.1.3. Analyse de la variance.....	21
1.1.4. Etude des Résidus.....	22
1.2. Modélisation de la viscosité à l'aide du logiciel Modde 06	22
1.3. Phase d'optimisation	23
• Série 2.....	24
1. Résultats de l'étude rhéologique	24
1.1. Validation du modèle	25
1.1.1. Adéquation du modèle	25
1.1.2. Facteurs significatifs	26
1.1.3. Analyse de la variance.....	27
1.1.4. Etude des Résidus.....	27
1.2. Modélisation des réponses à l'aide du logiciel Modde 06	28
1.3. Phase d'optimisation	28
2. Etude rhéologique	29
2.1. Formulations optimale.....	29
2.2. Produit fini	30
1.1. Formulations optimale.....	31
1.2. Produit fini	32
3. Résultats et interprétation de l'étude antibactérienne.....	33
3.1. Résultats de la lecture.....	33
Conclusion générale.....	35

Bibliographie

Annexe

Table des matières

Glossaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse bibliographique

1.	Généralités sur les émulsions.....	2
1.1.	Définition d'une émulsion.....	2
1.2.	Divers types d'émulsions.....	2
1.3.	Stabilité des émulsions.....	3
1.4.	Systèmes stabilisants les émulsions.....	3
1.4.1.	Tensioactifs.....	3
1.4.2.	Polymères.....	4
1.4.3.	Particules solides.....	4
2.	Emulsions de Pickering.....	4
2.1.	Définition d'une émulsion de Pickering.....	4
2.2.	Domaine d'application d'une émulsion de Pickering.....	4
2.3.	Avantages d'une émulsion de Pickering.....	5
2.4.	Mécanisme de stabilisation des émulsions de Pickering.....	5
2.4.1.	Aspects énergétiques.....	6
2.4.2.	Le mouillage des particules et la position à l'interface.....	6
2.5.	Facteurs influents la stabilité d'une émulsion de Pickering.....	7
2.6.	Formulation des émulsions de Pickering.....	7
3.	Rhéologie d'une forme semi-solide.....	9
3.1.	Comportement non newtonien.....	9
3.2.	Viscoélasticité.....	9
4.	Méthodologie d'optimisation.....	9
4.1.	Généralités sur les plans d'expériences.....	9
4.2.	Intérêt des plans d'expériences.....	10
4.3.	Plan de surface de réponse.....	10
4.4.	Plan composite centré.....	10

Table des matières

Matériels et Méthodes

1. Produits et matières utilisés.....	12
1.1. Bentonite	12
1.2. NaCl	12
1.3. Bromure de Cetyltriméthylammonium (CTAB)	13
1.4. Huile de Soja	13
1.5. Thymol	14
1.6. Matières biologiques et milieu de culture	14
1.6.1. Souches bactériennes.....	14
1.6.2. Milieux de culture	14
2. Matériel utilisé	14
3. Méthodologie d'optimisation	15
3.1. Construction du plan d'expérience.....	15
3.1.1. Choix des facteurs	15
3.1.2. Choix des réponses.....	15
3.2. Construction du plan composite centré	16
4. Procédés de formulation et caractérisation des émulsions	16
4.1. Procédés de formulation.....	16
4.2. Techniques d'évaluations de la stabilité physico-chimiques des émulsions préparées :..	16
4.2.1. Mesure de viscosité	16
4.2.2. Taille des gouttelettes	17
4.2.3. Tests de résistance à la centrifugation.....	17
4.2.4. Etude du comportement rhéologique	17
4.3. Incorporation du principe actif	17
5. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'émulsion	17
5.1. Réalisation de l'antibiogramme.....	17
5.1.1. Préparation des disques	17
5.1.2. Repiquage des cultures jeunes.....	18
5.1.3. Préparation des suspensions bactériennes	18
5.1.4. Ensemencement.....	18
5.1.5. Lecture.....	18

Table des matières

Résultats et Interprétations

1. Etude statistique des résultats.....	19
• Série 1.....	19
1.1. Validation du modèle	19
1.1.1. Adéquation du modèle	19
1.1.2. Facteurs significatifs	20
1.1.3. Analyse de la variance.....	21
1.1.4. Etude des Résidus.....	22
1.2. Modélisation de la viscosité à l'aide du logiciel Modde 06	22
1.3. Phase d'optimisation	23
• Série 2.....	24
1. Résultats de l'étude rhéologique	24
1.1. Validation du modèle	25
1.1.1. Adéquation du modèle	25
1.1.2. Facteurs significatifs	26
1.1.3. Analyse de la variance.....	27
1.1.4. Etude des Résidus.....	27
1.2. Modélisation des réponses à l'aide du logiciel Modde 06	28
1.3. Phase d'optimisation	28
2. Etude rhéologique	29
a) Série 1.....	29
2.1. Formulation optimale	29
2.2. Produit fini	30
b) Série 2.....	31
1.1. Formulation optimale	31
1.2. Produit fini	32
3. Résultats et interprétation de l'étude antibactérienne.....	33
3.1. Résultats de la lecture.....	33
Conclusion générale.....	35

Bibliographie

Annexe

Glossaire

Amphiphile : Une espèce chimique (que ce soit une molécule ou un ion) est dite amphiphile, lorsqu'elle possède à la fois un groupe hydrophile et un groupe hydrophobe.

Antibactérienne : Une substance possédant la capacité de tuer des bactéries.

Antibiogramme : Une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

Antimicrobien : Un antimicrobien est une famille de substances qui tuent (bactéricide) ou ralentissent (bactériostatique) la croissance des microbes tels les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes (activité antimycosique), les virus (activité antivirale), ou les parasites (activité antiparasitaire).

Bactéries : Des microorganismes unicellulaires simples. Invisibles à l'œil nu, ils ne contiennent pas de noyaux. Ils se trouvent généralement en très grand nombre vu leur grande capacité à se multiplier.

Coalescence : C'est un phénomène par lequel deux substances identiques, mais dispersées, ont tendance à se réunir. Le phénomène principal qui entre en jeu est que le matériau optimise sa surface sous l'action de la tension superficielle, de manière à atteindre un minimum d'énergie. La coalescence se produit généralement dans des fluides.

Escherichia coli : Un bacille gram négatif de la famille des Enterobacteriaceae. Également appelée colibacille et abrégée en E. coli, est une bactérie intestinale des Mammifères, très commune chez l'être humain. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie.

Emulsion multiple est une émulsion dans une émulsion. Également appelée « émulsion de second ordre »

Facteur : Un paramètre d'entrée d'un système (variable d'entrée) est appelé facteur X. ce facteur est une cause possible de variation de la réponse Y.

Floculation : C'est le processus physico-chimique au cours duquel des matières en suspension dans un liquide s'agglomèrent pour former des particules plus grosses nommées floccs. Les floccs sédimentent généralement beaucoup plus rapidement que les particules primaires dont ils sont formés. La floculation peut avoir lieu naturellement ou peut être accélérée par l'ajout d'un flocculant.

Force de Van Der Waals : est une interaction de faible intensité entre atomes, ou molécule.

Glossaire

Hydrophile : Un composé hydrophile est un composé ayant une affinité pour l'eau et tendance à s'y dissoudre.

Hydrophobe : L'hydrophobie caractérise les surfaces qui repoussent l'eau.

Papier wattmen : Papier poreux capable d'absorber par capillarité une petite quantité de liquide.

Phase externe : C'est la phase dispersante, appelée aussi phase continue

Phase interne : C'est la phase dispersée, appelée aussi phase discontinue

Principe actif : Substance responsable de l'action pharmacologique, Le choix se fera en fonction du mode d'administration, de considérations de stabilité, de solubilité et de biodisponibilité.

Réponse : La réponse Y (variable de sortie) correspond à un paramètre de sortie d'un système étudié.

Staphylocoques : Bactéries de type cocci c'est-à-dire sphériques, à Gram positif, qui se trouvent fréquemment chez les personnes en bonne santé, habituellement dans la muqueuse du nez.

Test de Fisher ou **Test F** : Un test d'hypothèse statistique qui permet de tester l'égalité de deux variances en faisant le rapport des deux variances et en vérifiant que ce rapport ne dépasse pas une certaine valeur théorique que l'on cherche dans la table de Fisher

Valeur-p : parfois aussi appelée p-value, est la probabilité d'obtenir la même valeur (ou une valeur encore plus extrême) du test si l'hypothèse nulle était vraie.

Vitesse de cisaillement : La vitesse de cisaillement ou «gradient de vitesse» ou «taux de cisaillement», mesure le cisaillement appliqué au sein d'un fluide. Elle dépend de la contrainte de cisaillement et de la nature du fluide. Le gradient de vitesse décrit la variation spatiale de la vitesse d'écoulement.

Symboles et Abréviations

ΔG : Energie de déplacement de la particule

r : Rayon de la particule

γ_{he} : Tension superficielle huile/eau

θ : Angle de contact

H /E : Huile dans l'eau

E/H : Eau dans l'huile

CTAB : cetyltriméthylammonium

MPE : Méthodes des plans d'expériences

k : Nombre de facteurs

E.Coli : Escherichia coli

tr/min : tour par minute

N_F : Nombre d'essais du plan factoriel

N_0 : Nombre d'essais au centre

N_α : Nombre d'essais aux points axiaux (points étoile)

V_0 : Viscosité à l'état 0

V_{INF} : Viscosité à l'état infini

y : Réponse

cP : Centipoise

R^2 : Coefficient de détermination

Q^2 : Coefficient de corrélation

Fcrit : F critique

Fobs : F observé

DDL : Degrés de liberté

Bent : Bentonite

V_A : Vitesse d'agitation

V_H : Vitesse d'homogénéisation

DH : Durée d'homogénéisation

η_0 : Viscosité à cisaillement nul

η_∞ : Viscosité à cisaillement infini

$\dot{\gamma}$: Vitesse de cisaillement

Max : Maximum

Liste des figures

Figure1. Détermination des deux phases d'une émulsion.	2
Figure 2. Phénomènes d'instabilité des émulsions.....	3
Figure 3. Mécanisme de stabilisation des émulsions de Pickering.....	6
Figure 4. Angle de contact d'une petite particule sphérique à l'interface huile-eau.	7
Figure 5. Représentation graphique des valeurs observées en fonction de valeurs estimées de la viscosité	20
Figure 6. Histogramme de l'influence des coefficients sur la viscosité.....	21
Figure 7. Evolution des résidus en fonction des valeurs prévues pour la viscosité.....	23
Figure 8. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de la formulation1.....	25
Figure9. Représentation graphique des valeurs observées en fonction des valeurs estimées de la taille des gouttelettes.....	27
Figure 10.Histogramme de l'influence des coefficients sur la taille des gouttelettes	28
Figure 11. Evolution des résidus en fonction des valeurs prévues pour la taille des gouttelettes.....	29
Figure 12. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de la formulation optimale	31
Figure 13. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement du produit fini	32
Figure 14. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de la formulation optimale..	33
Figure 15. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement du produit fini.....	34
Figure 16.Résultats du microscope optique.....	Annexe2
Figure 17. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement des émulsions formulées.....	Annexe4
Figure 18.Résultats de l'activité antibactérienne.....	Annexe5

Liste des tableaux

Tableau 1. Types d'émulsion.	2
Tableau 2. Technique de formulation pour différentes émulsions de Pickering.	8
Tableau3. Caractéristiques physico-chimiques de la Bentonite utilisée (Bentonite de Maghnia).....	12
Tableau4. Caractéristiques physico-chimiques du NaCl.....	13
Tableau5. Propriétés physico-chimiques de bromure du Cetyltriméthylammonium.	13
Tableau6. Propriétés physico-chimiques de l'huile de soja.	13
Tableau7. Souches bactériennes utilisées	14
Tableau 8. Liste des équipements utilisés	14
Tableau 9. Facteurs étudiés et leurs niveaux respectifs de la série 1.....	15
Tableau 10. Facteurs étudiés et leurs niveaux respectifs de la série 2.....	15
Tableau 11. Matrice d'expérience et les résultats des mesures effectuées.....	20
Tableau 12. Analyse de la variance pour la viscosité.....	22
Tableau 13. Valeurs de R^2 et Q^2 de la viscosité.	24
Tableau 14. Propriétés désirées pour la formule.	24
Tableau 15. Solutions renvoyées par l'optimiseur du logiciel Modde 6.	24
Tableau16. Valeurs de viscosité et de la taille des gouttelettes de la formule optimale.	25
Tableau 17. Matrice d'expérience et les résultats des mesures effectuées.....	26
Tableau 18. Analyse de la variance pour la viscosité.....	28
Tableau 19. Valeurs de R^2 et Q^2 de la taille des gouttelettes.....	29
Tableau 20. Propriétés désirées pour la formule	30
Tableau 21. Solutions renvoyées par l'optimiseur du logiciel Modde 6.	30
Tableau22. Valeurs de la taille des gouttelettes et de la durée de résistance à la centrifugation de la formule optimale.	31
Tableau 23. Diamètres de l'émulsion à 1% de Thymol.....	35
Tableau 24. Table de Fischer Snedecor.....	Annexe3

Introduction générale

Les émulsions sont utilisées dans divers domaines tels que l'industrie alimentaire, cosmétique, pharmaceutique, peinture et bâtiment.

Les émulsions peuvent être stabilisées par des molécules tensioactives, des polymères ou bien par des particules solides.

Ces dernières années de nombreuses études ont montré que les tensioactifs qui présentent une certaine toxicité vis-à-vis de l'environnement pouvaient être avantageusement remplacés par des particules solides formant les émulsions dites de Pickering. Un des avantages de ces émulsions est leur très grande stabilité, en effet, les particules sont adsorbées à l'interface de façon irréversible. Elles nécessitent donc peu de matériau pour stabiliser une émulsion efficacement.

L'objectif principal de notre étude est de rechercher la meilleure stabilité physique d'une émulsion de Pickering en faisant varier les proportions des principaux ingrédients : argile, tensioactif et sel pour la première série et les conditions opératoires de formulation : vitesse d'agitation, vitesse et durée d'homogénéisation pour la deuxième série.

Une approche basée sur la méthodologie des surfaces de réponse a été retenue. Les méthodes d'évaluation de la stabilité reposent essentiellement sur des mesures de viscosité, la taille des gouttelettes, la durée de résistance à la centrifugation et l'étude du comportement rhéologique des émulsions.

La méthode a permis de chercher les domaines de concentrations en additifs et le protocole suivis qui permet d'obtenir des émulsions stables.

Le présent manuscrit commence par une recherche bibliographique, puis une étude pratique subdivisée en deux parties :

- La première présente les méthodes et le matériel utilisés pour la formulation et la caractérisation d'une émulsion puis une étude antibactérienne in vitro du produit fini.
- La deuxième partie est consacrée à l'interprétation des résultats obtenus.

Synthèse

Bibliographique

Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les émulsions

1.1. Définition d'une émulsion

Le terme émulsion vient du latin «emulgere», qui signifie traire. Ce terme désigne aujourd'hui un système comprenant au moins deux liquides non miscibles, dont l'un est dispersé dans l'autre, sous une forme plus ou moins stable.

Selon la définition courante l'émulsion est une dispersion d'un liquide en fines gouttelettes dans un autre liquide :

- Le liquide sous forme de gouttelettes est qualifié de phase dispersée, phase discontinue ou phase interne.
- L'autre liquide est appelé phase dispersante, phase continue ou phase externe.[1, 2]

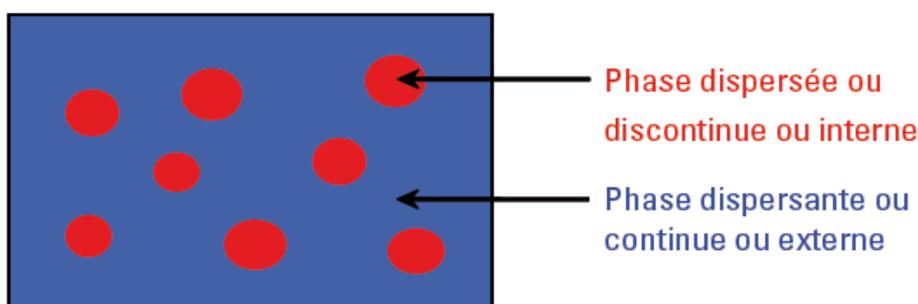


Figure1. Les deux phases d'une émulsion.[2]

1.2. Divers types d'émulsions

Les émulsions peuvent être classées selon deux critères comme le montre le tableau 1.

Tableau 1. Types d'émulsion.[3]

Selon la nature de la phase dispersée		Selon la taille des gouttelettes de la phase dispersée		
Emulsion simple	Emulsion multiple	Macroémulsion	Microémulsion	Nanoémulsion
		Diamètre des gouttes > 0.1 µm	Diamètre des gouttes de l'ordre de 10 à 50 nm	Diamètre des gouttes < 100 nm

1.3. Stabilités des émulsions

Une émulsion est un système instable thermodynamique. La stabilité des émulsions dépend du formulateur et sa capacité à ralentir ou inhiber les mécanismes physiques qui conduisent à la démixtion des phases non-miscibles.[1]

On distingue quatre mécanismes de déstabilisation représentés dans la figure 2.

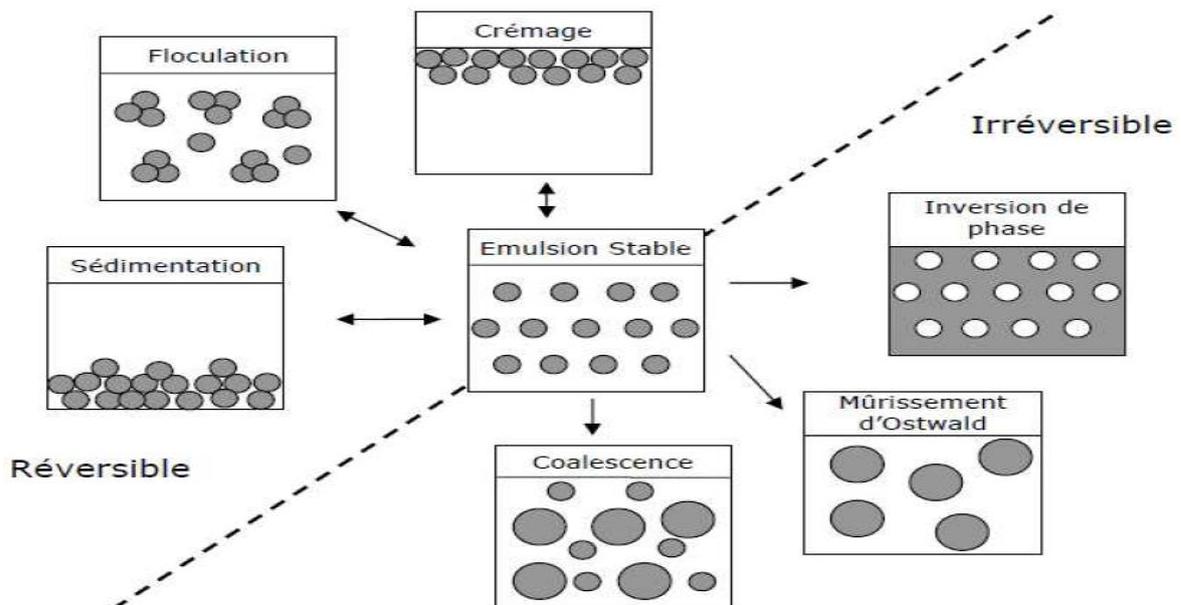


Figure 2. Phénomènes d'instabilité des émulsions.[4]

1.4. Systèmes stabilisants les émulsions

Les émulsions ne peuvent être conservées que si leurs interfaces sont protégées par un système stabilisant. Les trois principaux types de systèmes stabilisants sont : des tensioactifs (petites molécules amphiphiles), des polymères (macromolécules amphiphiles) et des particules solides.[5]

1.4.1. Tensioactifs

Sont des corps amphiphiles appelés aussi agents de surface, caractérisés par la présence dans leur molécule de deux parties, l'une hydrophile ou polaire et l'autre lipophile ou apolaire. En présence de deux phases liquides non miscibles, l'une aqueuse, l'autre huileuse, ils viennent se placer à l'interface où ils s'orientent de telle sorte que la partie hydrophile se trouve dans l'eau et la partie lipophile dans l'huile. En pharmacie galénique ils sont employés notamment comme émulsionnants, agents de suspension, solubilisants, mouillants, moussants ou détergents.[6]

1.4.2. Polymères

Les polymères représentent une classe particulièrement importante d'adjuvants utilisés pour la fabrication des émulsions. Leur capacité à s'absorber et à stabiliser l'interface envers les mécanismes de floculation et de coalescence est mise à profit par les formulateurs. Il convient en général de choisir un polymère possédant des portions lipophiles ou des portions hydrophiles.[1]

1.4.3. Particules solides

D'après Pickering, il est possible d'utiliser des poudres insolubles dans les deux phases comme émulsifiant. Les particules solides vont se positionner sur la surface des gouttelettes dispersées et s'adsorber sur celle-ci jusqu'à ce que la surface des gouttelettes devienne entièrement recouverte par les particules solides limitant ainsi le phénomène de coalescence.[7]

2. Emulsions de Pickering :

2.1. Définition d'une émulsion de Pickering :

Les émulsions de Pickering sont des dispersions de deux liquides non miscibles stabilisées par des particules solides. L'effet de stabilisation des émulsions par des particules fines est connu depuis environ un siècle. Ces émulsions sont appelées « émulsions de Pickering » du nom d'un des premiers chercheurs qui a décrit ce type de stabilisation (Pickering, 1907). Il a établi que des particules peuvent agir comme des tensioactifs et stabilisent des émulsions huile – dans - eau. Cependant, la première description de ce phénomène est due à Ramsden (1903); son article est cité par Pickering.[7]

2.2. Domaine d'application d'une émulsion de Pickering

De nombreuses études ont porté sur la formulation d'émulsions de Pickering dans le domaine pharmaceutique et cosmétique.

Les émulsions de Pickering sont utilisées dans plusieurs domaines tels que la formulation des matériaux poreux, composites et dans l'industrie pétrolière. Elles présentent un grand intérêt pour des applications pharmaceutiques, en particulier pour l'encapsulation et la libération contrôlée de substances actives. En effet, les gouttelettes dispersées sont entourées par des particules solides et constitue donc une barrière d'une barrière contre la diffusion du principe actif.[8]

Les émulsions de Pickering ont été utilisées dans le domaine cosmétique comme médicaments administrés par voie cutanée.

Synthèse bibliographique

Les émulsions de Pickering peuvent être des formulations antisolaires, qui renforcent la protection contre les rayons ultraviolets.[8, 9]

2.3. Avantages d'une émulsion de Pickering

Les émulsions de Pickering présentent plusieurs avantages, parmi ces avantages on cite l'amélioration de la libération prolongée et de la biodisponibilité du principe actif. Elles offrent une délivrance ciblée de ce dernier et elles diminuent les effets secondaires toxiques du médicament. D'autres avantages méritent d'être mentionnés :

- La capacité des particules solide à former des émulsions (huile/eau) et (eau/huile) avec le même type de particule.
- Les particules solides de taille nanométrique permettent la stabilisation des gouttelettes ayant des diamètres de quelques micromètres en lui conférant une haute résistance à la coalescence.
- Ces émulsions utilisent des matériaux biodégradables qui n'ont pas d'effets indésirables sur l'environnement, elles présentent une viscosité élevée, ce qui ralentit tous les phénomènes de déstabilisation.[10]

2.4. Mécanisme de stabilisation des émulsions de Pickering

Durant l'émulsification, les particules solides vont migrer vers la surface des gouttelettes dispersées et s'adsorber sur celles-ci jusqu'à ce que la surface des gouttelettes devienne entièrement recouverte par les particules solides ou jusqu'à ce qu'il ne reste plus de particules dans la phase continue.[11]

Une fois que les particules solides sont adsorbées à l'interface, on distingue deux voies de stabilisation.[12]

La formation d'un film dense (monocouche ou multicouche) de particules solides autour des gouttelettes dispersées au moyen des interactions attractives et en particulier des forces capillaires ce qui empêche la coalescence des gouttelettes stériquement en donnant à l'émulsion certaines propriétés rhéologiques interfaciales, ce qui rend encore difficile la mobilité des particules solides et contribue à la stabilisation du système. Figure 3 (A).

Dans le cas des particules fortement hydrophobes, la stabilisation des émulsions de Pickering est obtenue par la formation d'un réseau tridimensionnel dans la phase continue, dans laquelle les gouttelettes sont capturées dans le réseau de particules. Des interactions de répulsion électrostatique sont mises en jeu afin de faciliter la stabilité de l'émulsion contre la floculation. (Voir figure 3 (B))[12]

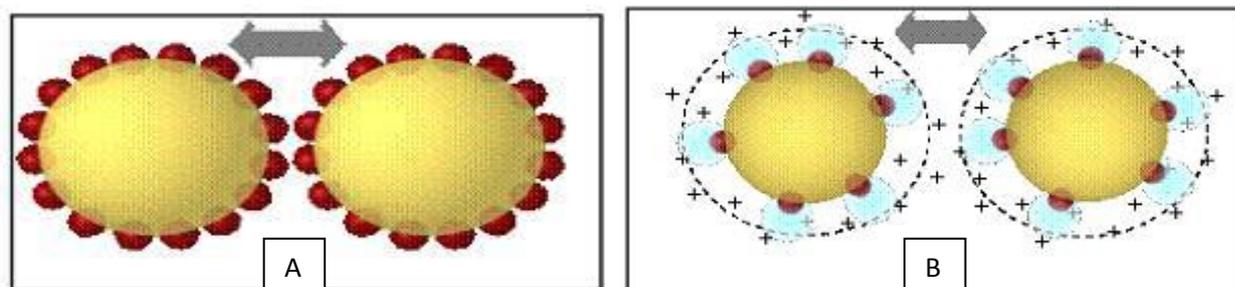


Figure 3. Mécanisme de stabilisation des émulsions de Pickering.[12]

2.4.1. Aspects énergétiques

La mouillabilité des particules influence la quantité d'énergie nécessaire pour enlever une particule de l'interface. En faisant l'hypothèse qu'une particule solide sphérique est de petite taille (submicronique) et que l'effet de la masse est donc négligeable, l'énergie nécessaire pour déplacer une particule de rayon r de l'interface huile/eau vers une des phases volumiques est donnée par l'équation (1).[12]

$$\Delta G = \pi r^2 \gamma_{he} (1 \pm \cos \theta_{he})^2 \dots\dots\dots(1)$$

Le signe positif dans l'équation correspond à l'extraction vers la phase huileuse et le signe négatif à l'extraction vers la phase aqueuse. Cette équation montre qu'en fonction de l'angle de contact, l'adsorption d'une particule à la surface peut être élevée ou faible.[12]

2.4.2. Le mouillage des particules et la position à l'interface

Le mouillage partiel de particules par les deux phases d'émulsion est nécessaire pour obtenir une adsorption à l'interface. L'angle de contact θ entre la phase aqueuse, la phase huileuse et le solide caractérise le mouillage. Pour obtenir une stabilisation optimale des émulsions, sa valeur doit être proche de 90° (mesuré du côté de la phase aqueuse)

La valeur de l'angle de contact détermine le positionnement de la particule à l'interface.

Des particules avec un angle de contact plus petit que 90° sont appelées habituellement hydrophiles et dans le cas où l'angle de contact est supérieur à 90° elles sont dites hydrophobes (figure 4).[12]

Les propriétés de mouillage des particules déterminent le type des émulsions : H/E ou bien E/H. Pour obtenir une stabilisation optimale des émulsions, les particules solides doivent être plus mouillées par le liquide de la phase externe de l'émulsion que par celui de la phase interne.[12]

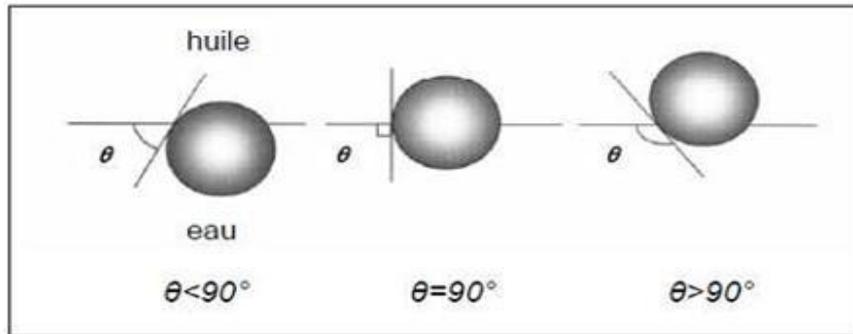


Figure 4. Angle de contact d'une petite particule sphérique à l'interface huile-eau.[12]

2.5. Facteurs influents la stabilité d'une émulsion de Pickering

Plusieurs facteurs expérimentaux influencent la position des particules à l'interface, et par conséquent la stabilité des émulsions. Parmi ces facteurs, on distingue.[13]

- Taille des particules solides : Plus la taille des particules solides diminue, plus la stabilité des émulsions augmente.[13]
- La mouillabilité des particules
- Etat de dispersion des particules : Les particules agrégées s'adsorbent plus fortement à l'interface, et la coalescence est plus facile dans le cas des particules non flocculées.[14]
- Type de phase aqueuse et huileuse
- La concentration des particules

2.6. Formulation des émulsions de Pickering

Le choix du procédé et les proportions des ingrédients à utiliser pour préparer une formulation stable constitue un paramètre important dans la préparation des émulsions de Pickering.

Le phénomène de formulation ne se produit que lorsqu'au moins l'un des composants de l'émulsion est un colloïde dispersé dans l'eau ou un solide finement divisé de très haut poids moléculaire. Les émulsions de Pickering peuvent se formuler avec des sels inorganiques colloïdaux ou hydroxydes, de l'argile, de l'amidon brut, mais pas avec des savons et des agents tensioactifs de bas poids moléculaire et des colloïdes de poids moléculaire intermédiaire tel que la gélatine, les poly électrolytes organiques linéaires.

La limitation de la taille des gouttelettes d'huile dispersées dans la phase aqueuse est proportionnelle au volume de la phase huileuse et à la taille des particules solides et

Synthèse bibliographique

inversement proportionnelle au poids moléculaire des particules colloïdales utilisées dans la formulation de l'émulsion de Pickering.

L'utilisation de quantités réduites de tensio-actif est souhaitable pour améliorer la stabilité d'émulsion à pH neutre.[15]

Quelques règles de formulation des émulsions de Pickering en fonction de la taille et du type des particules solides utilisées sont présentées dans le Tableau n°2

Tableau 2. Technique de formulation pour différentes émulsions de Pickering.[15]

Type de l'émulsion	Type de la particule solide	Processus de formulation
< 1 µm	Nanoparticules hydrophiles	<ul style="list-style-type: none"> - Dispersion des nanoparticules dans la phase aqueuse. - Emulsification avec la phase huileuse en utilisant les ultrasons ou avec une haute pression d'homogénéisation.
Dans la gamme de 1 à 10 µm	Particules Nanométriques ou submicroniques hydrophiles (le latex, la silice faiblement hydrophobe).	<ul style="list-style-type: none"> - Dispersion des particules dans l'eau - Émulsification de l'huile à l'aide d'un dispositif à rotor-stator.
A partir de 10 à 100µm	- Microparticules ou Particules submicroniques hydrophiles (la silice faiblement hydrophobe)	<ul style="list-style-type: none"> - Dispersion des particules dans l'eau - Émulsification de l'huile à l'aide d'un agitateur à hélice
Emulsion double E / H / E	<ul style="list-style-type: none"> -Particules hydrophobes pour la première émulsion E / H (la silice de fumée hydrophobe, l'argile organophile). -Particules Hydrophiles pour la deuxième émulsion (le latex, l'argile, la silice de fumée faiblement hydrophobe). 	<ul style="list-style-type: none"> - Préparation de la première émulsion E / H : -Dispersion des particules dans la phase huileuse -Émulsification de l'eau à l'aide d'un dispositif à cisaillement élevé Préparation de l'émulsion E / H / E : -Dispersion des particules dans la phase aqueuse externe, émulsification de la première émulsion dans la phase aqueuse externe sous un faible cisaillement correspondant à la pression osmotique de la phase aqueuse interne

3. Rhéologie d'une forme semi-solide

La rhéologie est une branche de la physique qui étudie l'écoulement ou la déformation des corps sous l'effet des contraintes qui leur sont appliquées en fonction de leurs vitesses de cisaillement

Les préparations semi solides ont un comportement rhéologique semblable aux fluides non-newtoniens indépendant du temps.[14]

3.1. Comportement non newtonien

Un fluide newtonien est un liquide dont la viscosité ne dépend ni de sa vitesse de cisaillement, ni du temps pendant lequel le liquide est cisailé.

Par contre un fluide non-newtonien est un liquide dont la viscosité peut varier en fonction de la contrainte mécanique appliquée.[14]

3.2. Viscoélasticité

La viscoélasticité est définie comme une existence simultanée des propriétés visqueuses et élastiques. Les produits semi - solides, comme les émulsions, montrent des propriétés viscoélastiques.[14]

4. Méthodologie d'optimisation

4.1. Généralités sur les plans d'expérience

Les méthodes des plans d'expérience (MPE) servent à optimiser l'organisation des essais expérimentaux pour obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences tout en conservant la meilleure précision possible sur les réponses (toutefois sans sacrifier la qualité). Les plans d'expérience sont applicables à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une réponse « Y » et des variables « Xi ».[16]

La MPE utilise une terminologie précise qui est la suivante :

- **La réponse** : est la grandeur mesurée à chaque essai
- **Les facteurs** : grandeurs physiques modifiables par l'expérimentateur, sensées influencer sur les variations de la réponse.
- **Domaine d'étude** : ce domaine est défini par les niveaux hauts (+1) et bas (-1) de tous les facteurs, l'ensemble des valeurs que peut prendre un facteur entre les deux niveaux s'appelle domaine expérimental.

Synthèse bibliographique

- **Matrice d'expériences** : est un objet mathématique qui représente l'ensemble des expériences à réaliser. Elle comprend N lignes correspondant à N expériences à réaliser et K colonnes correspondant à K facteurs à faire varier, ces derniers étant exprimés en valeurs codées (-1, 0, +1).
- **Plan d'expérimentation** : correspond à la traduction de la matrice d'expériences en variables réelles.[16]

4.2. Intérêt des plans d'expériences :

- Possibilité d'étudier un très grand nombre de facteurs ;
- Détection des interactions éventuelles ;
- Détermination des résultats avec une bonne précision ;
- Détermination rapide des facteurs influents avec un minimum d'expériences ;
- Optimisation de l'organisation des essais de façon à obtenir le maximum d'informations avec un minimum d'essais ;
- Minimisation du coût d'obtention d'une information fiable.[16]

4.3. Plan de surface de réponse

Un plan de surface de réponse est un ensemble de techniques de plan d'expériences qui permet de mieux comprendre et d'optimiser une réponse. La méthodologie du plan de surface de réponse est souvent utilisée pour mettre au point des modèles suite à la détermination de facteurs importants à l'aide de plans de criblage ou de plans factoriels, notamment si on soupçonne une courbure dans la surface de réponse.[16]

Une équation de surface de réponse se différencie de l'équation d'un plan factoriel par l'ajout de termes au carré(ou de termes quadratiques) qui permette de modéliser une courbure dans la réponse et qui s'avèrent utiles de plusieurs manières :

- Pour comprendre ou mapper une zone d'une surface de réponse. Les équations de surface de réponse modélisent l'influence des changements de variables d'entrée sur une réponse présentant un intérêt.
- Pour rechercher les niveaux de variables qui optimisent une réponse.
- Pour sélectionner les conditions d'utilisation conformément aux spécifications.[16]

4.4. Plan composite centré :

Les plans composites centrés peuvent ajuster un modèle quadratique complet. Ils sont souvent utilisés lorsque le plan demande une expérimentation séquentielle, car ces plans peuvent intégrer des informations provenant d'une expérience factorielle correctement planifiée.

Synthèse bibliographique

Le plan composite centré est le plan de surface de réponse le plus utilisé. Les plans composites centrés comprennent un plan factoriel ou un plan factoriel fractionnaire avec des points centraux, auxquels s'ajoute un groupe de points axiaux (ou étoiles) qui permettent d'estimer la courbure.[16]

Matériels et Méthodes

Objectif de l'étude pratique

Dans le présent travail nous avons réalisé deux séries d'expériences. Dans la première série, les émulsions ont été formulées avec un rapport Huile/Eau de 10/90 où nous avons varié les quantités des constituants de l'émulsion pour optimiser sa composition. Contrairement aux émulsions de la deuxième série, elles ont été formulées avec un rapport Huile/Eau de 30/70, pour lesquelles leurs compositions ont été fixées afin d'optimiser les conditions opératoires de formulation.

1. Produits et matières utilisés

1.1. Bentonite

La bentonite est une roche argileuse, friable, tendre et onctueuse au toucher, sa teinte dépend des composés minéraux et des impuretés qui lui sont étroitement associés. Elle est blanche, grise ou légèrement jaune. Elle contient de 75 % de montmorillonite.

Le tableau N°3 représente les caractéristiques physico-chimiques de la bentonite.

Tableau3. Caractéristiques physico-chimiques de la Bentonite utilisée (Bentonite de Maghnia).[17]

Propriétés	Valeur
Surface spécifique	872 m ² / g
Masse volumique (Gs)	2,72 g·cm ⁻³
Indice de gonflement	35 cm ³ / g
Adsorption d'eau à la plaque	900%
pH	10 ,1
Limite de liquide	216%
Limite de retrait	11%
Indice de plasticité	120%
Teneur en eau- à la livraison	12%

1.2. Chlorure de sodium

Le chlorure de sodium de formule brute NaCl, est une poudre cristalline blanche inodore, il favorise l'adsorption des particules d'argile à l'interface H/E. Ses propriétés physico-chimiques sont présentées dans le tableau N°4.[18]

Matériels et Méthodes

Tableau4. Caractéristiques physico-chimiques du NaCl

Masse molaire	58,50 g /mol
Masse volumique	2,17 g·cm ⁻³ à 25°C
Solubilité	357 g·l ⁻¹ à 25°C
Température de fusion	804°C
Point d'ébullition	1413°C

1.3. Bromure de Cétyltriméthylammonium (CTAB)

Le bromure de cétyltriméthylammonium (CTAB) est un tensioactif cationique et un agent antiseptique efficace contre les bactéries et les moisissures. Il est inscrit dans la liste des excipients pharmaceutiques, sa dose limite (DL50) pour la voie orale est de 410mg/kg. Ses propriétés physico-chimiques sont présentées dans le tableau N°5.[18]

Tableau5. Propriétés physico-chimiques de bromure du Cétyltriméthylammonium.

Formule moléculaire	C ₁₉ H ₄₂ BrN
Masse molaire	364,45 g/mol
Solubilité	36,4 g·l ⁻¹ à 20 °C
Température de fusion	248-251 °C
Apparence	Poudre blanche

1.4. Huile de Soja :

C'est une huile végétale alimentaire. Les émulsions contenant de l'huile de soja sont utilisées comme véhicules pour l'administration orale et intraveineuse des médicaments. Elle est maintenant préférée parce qu'elle est associée à moins d'effets indésirables.[17]

Tableau6. Propriétés physico-chimiques de l'huile de soja.[17]

Composant	L'huile de soja
Température d'auto inflammation	445°C
Densité	0916-0922 gr/cm ³ à 25°C
Point d'éclair	282°C
Point de congélation	-10 a -16 °C
Tension superficielle	50 mN/m (50 dynes/cm) à 20°C.

Matériels et Méthodes

1.5. Thymol

Le thymol utilisé est de marque RIEDEL-DE HAEN, avec une pureté de 95%, une température de fusion de 50-52°C et une masse molaire de 150.22g/mol.

1.6. Matières biologiques et milieu de culture

1.6.1. Souches bactériennes

Nous avons utilisé dans le présent travail des souches de référence (tableau 7) fournies par le Laboratoire de microbiologie du C.H.U NEDIR MOHAMMED de Tizi-Ouzou

Tableau7. Souches bactériennes utilisées

Nom scientifique	Gram	Catalase	Oxydase	Référence
Staphylococcus aureus	Gram +	positive	négative	ATCC25923
Escherichia Coli	Gram-	positive	négative	ATCC25922
Pseudomonas aeruginosa	Gram-	positive	positive	ATCC27853

1.6.2. Milieux de culture

Milieu utilisé est de Mueller-Hinton gélosé. La composition détaillée est donnée dans l'Annexe 1

2. Matériel utilisé

Les équipements utilisés pour la formulation et la caractérisation des émulsions sont donnés dans le tableau 8.

Tableau 8. Liste des équipements utilisés

Equipement	Marque	Intérêt
Balance analytique	SCALTEC avec une précision de $[\pm 0,1\text{mg}]$	Peser les ingrédients
Agitateur à hélice	Heidolph de type RZR1	Formuler l'émulsion
Homogénéisateur	Ultra-turrax	Diminuer la taille des gouttelettes
Rhéomètre	HAAKE RheoStress 1	Etude du comportement rhéologique de l'émulsion
Microscope optique	HERTEL et RESSUS OPTIC - KASSEL 55976	Déterminer la taille des gouttelettes de l'émulsion
Viscosimètre	BROOKFIELD (DV-I+ Viscosimeter) version 5-1	Mesurer la viscosité de l'émulsion
Centrifugeuse	HETTICH de type EBA20	Etudier la résistance à la centrifugation de l'émulsion

3. Méthodologie d'optimisation

3.1. Construction du plan d'expérience

Pour étudier la stabilité d'une émulsion de Pickering, nous avons utilisé la MPE basée sur la méthodologie des surfaces de réponse. Dans cette méthodologie, le plan composite centré permet d'obtenir la meilleure précision possible sur la modélisation des résultats pour la première série et un plan linéaire pour la deuxième série.

3.1.1. Choix des facteurs

Le choix des facteurs influant la stabilité de l'émulsion est très important. Dans notre cas l'agent stabilisant majeur et la Bentonite, ainsi que d'autres composants tels que (CTAB) comme tensioactif qui modifie la surface des particules d'argile pour leur conférer un caractère hydrophobe et le NaCl pour améliorer la floculation.

Les conditions opératoires de formulation peuvent aussi influencer sur la stabilité des émulsions.

Les Tableaux 9 et 10 représentent respectivement les facteurs étudiés et leurs niveaux exprimés à la fois en valeur codées (-1 désignant le niveau bas, 0 le niveau moyen et +1 le niveau haut) et en valeurs réelles pour les deux séries.

Tableau 9. Facteurs étudiés et leurs niveaux respectifs de la série 1

Facteurs étudiés	Niveau			Facteurs fixes	Valeurs
	-1	0	+1		
Bentonite (%)	1	2	3	Rapport H/E (%)	10/90
CTAB (%)	0.003	0.0045	0.006	Vitesse d'agitation (tr/min)	670
NaCl (M)	0.015	0.017	0.02	Vitesse d'homogénéisation (tr/min)	14600

Tableau 10. Facteurs étudiés et leurs niveaux respectifs de la série 2

Facteurs étudiés	Niveau			Facteurs fixes	Valeurs
	-1	0	+1		
Vitesse d'agitation (tr/min)	850	1175	1500	Rapport H/E (%)	30/70
Vitesse d'homogénéisation (tr/min)	10000	12000	14000	Bentonite (%)	7
Durée d'homogénéisation (min)	5	7.5	10	CTAB (%)	0.02
				NaCl (M)	0.015

3.1.2. Choix des réponses

Pour déterminer la stabilité d'une émulsion, le nombre de réponses étudiées a été limité à deux pour la première série : la viscosité et la taille des gouttelettes et à trois pour la deuxième série : étude rhéologique (la viscosité à l'état 0 et à l'état infini), la taille des gouttelettes et la durée de la résistance à la centrifugation.

3.2. Construction du plan composite centré

Pour notre étude, le nombre de facteurs (k) est égal à 3 pour les deux séries. Le nombre d'essais à réaliser est composé des essais du plan factoriel (N_F), auquel on ajoute trois essais supplémentaires au centre (N_0) pour obtenir une estimation de l'erreur expérimentale, et deux points axiaux (points étoile) pour chaque facteur (N_α).[19]

Le nombre total d'essais à réaliser est :

$$N_F + N_0 + N_\alpha = 2^k + 3 + 2 \times k = 17 \dots\dots\dots(2)$$

Le modèle mathématique proposé lie les facteurs sélectionnés avec les réponses en prenant en compte les effets des facteurs et leurs interactions

$$Y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_{11}x_1^2 + a_{22}x_2^2 + a_{33}x_3^2 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{23}x_2x_3 \dots\dots\dots(3)$$

Où y représente la réponse des facteurs 1, 2,3;

$x_1, x_2, et x_3$ les niveaux des facteurs 1, 2, 3 ;

$a_0, a_1, a_2, a_3, \dots$, sont les coefficients du modèle.[19]

4. Procédés de formulation et caractérisation des émulsions

4.1. Procédés de formulation

Après avoir mouiller la bentonite dans une quantité d'eau distillée pendant 24 heures, la phase aqueuse est préparée en mélangeant cette suspension de bentonite, le CTAB, et le NaCl sous agitation à une vitesse de 670 tr/min durant 1min30s à l'aide de l'agitateur à hélices. La phase huileuse est ensuite ajoutée goutte à goutte en maintenant l'agitation à la même vitesse. On procède ensuite à l'homogénéisation du mélange durant 10 min à une vitesse de 14600 tr/min à l'aide de l'homogénéisateur Ultra-Turrax.

Remarque : Le même protocole a été respecté pour la formulation des émulsions de la deuxième série sauf que les conditions opératoires ont été variées selon le tableau donné précédemment (Tableau 10)

4.2. Techniques d'évaluations de la stabilité physico-chimiques des émulsions préparées :

4.2.1. Mesure de viscosité :

La mesure de la viscosité a été réalisée à l'aide d'un viscosimètre de marque Brookfield, modèle DV-I. Le mobile utilisé est de type S63 avec une vitesse de rotation de 60 tr/min à une température ambiante de 23 °C.

4.2.2. Taille des gouttelettes :

Un microscope photonique de marque HERTEL et RESSUS OPTIC - KASSEL 55976 a été utilisé pour la détermination de la taille des gouttelettes piloté par le logiciel Optica. Voir Annexe 2

4.2.3. Tests de résistance à la centrifugation

Les tests de résistance à la centrifugation ont été réalisés à une vitesse de centrifugation de 1000tr/min pour évaluer le temps de résistance à la sédimentation des émulsions.

4.2.4. Etude du comportement rhéologique

Un rhéomètre de marque HAAKE RheoStress 1 a été utilisé afin d'étudier le comportement rhéologique de l'émulsion piloté par le logiciel HAAK RheoWin Data Manager.

La géométrie utilisée est plan-plan avec un entrefer de 1.5 mm.

Pour chaque formulation, trois essais ont été réalisés pendant 300s pour chacun avec un nombre de point de 30. Toutes les mesures ont été réalisées à température ambiante

4.3. Incorporation du principe actif

Après l'obtention de la composition et des conditions optimales de l'émulsion pour les deux séries, nous avons formulé le produit fini par incorporation de 1% du principe actif antibactérien qui est le thymol.

Ce dernier est solubilisé dans la phase huileuse avant son incorporation dans la phase aqueuse selon le même protocole.

5. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'émulsion

Les manipulations ont été réalisées au Laboratoire de microbiologie du Professeur AZAM à la faculté de médecine.

5.1. Réalisation de l'activité antibactérienne du thymol

La méthode de diffusion en milieu solide est utilisée pour l'étude de l'activité antibactérienne. Le résultat est exprimé par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de prolifération bactérienne où les bactéries n'ont pas pu se développer. Ce diamètre d'inhibition traduit l'activité antibactérienne du thymol.[20]

La réalisation de l'activité antibactérienne du thymol s'effectue en plusieurs étapes :

5.1.1. Préparation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre sont préparés à partir de papier Whatman dans un appareil approprié.[21]

5.1.2. Repiquages des cultures jeunes

La revivification des souches a pour objectif l'obtention d'une culture jeune et pure. Elle consiste à ensemencer en stries quelques colonies de souches conservées à la surface de la gélose préalablement coulée et solidifiée dans des boites de pétri.[22]

5.1.3. Préparation des suspensions bactériennes

A partir des cultures bactériennes jeunes, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont inoculées dans 5 ml d'eau physiologique stérile dans des écouvillons.[22]

5.1.4. Ensemencement

Cette étape consiste à repartir la gélose MH dans des boites de petri stériles d'un diamètre de neuf centimètres et d'une épaisseur de quatre millimètres de gélose. Les suspensions bactériennes à tester sont étalées à l'aide d'un écouvillon stérile dans chaque boite en appliquant des stries serrées sur la première moitié de la boîte. Après avoir tourné cette dernière de 90°, des stries serrées sont à nouveau effectuées sur l'autre moitié. Le dernier quadrant est ensemencé sans rentrer au contact des quadrants précédents. Cette technique permet d'obtenir dans le dernier quadrant des colonies isolées.

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, un disque de chaque lot est placé dans des boites de pétri. Pour le témoin positif nous avons mis des disques imbibés d'antibiotiques et pour le témoin négatif nous avons mis un disque imbibé du placebo, ainsi que des disques imbibés par le produit fini et le thymol à 10µl.

Les boites sont ensuite incubées à l'étuve pendant une durée de 24 heures entre 35 et 37°C.[21]

5.1.5. Lecture

Matériels et Méthodes

La lecture se fait en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour du disque à l'aide d'un pied à coulisse.

L'interprétation des résultats se fait selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne. Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont divisés en quatre classes. [23]

- Non inhibitrice : diamètre de la zone d'inhibition < 10 mm;
- Légèrement inhibitrice : $10 \text{ mm} < \text{diamètre de la zone d'inhibition} < 16$ mm;
- Modérément inhibitrice : $16 \text{ mm} < \text{diamètre de la zone d'inhibition} < 28$ mm;
- Fortement inhibitrice : diamètre de la zone d'inhibition > 28 mm.

Résultats et Interprétations

Résultats et Interprétations

1. Etude statistique des résultats

I. Série 1

Le tableau 11 donne la matrice d'expérience ainsi que les résultats des mesures effectuées pour la série 1.

Tableau 11. Matrice d'expérience et les résultats des mesures effectuées

N°	Bentonite (%)	CTAB (%)	NaCl (M)	Viscosité (cP)	Taille des gouttelettes (μm)
1	-1	-1	-1	40	7,5
2	1	-1	-1	80	5
3	-1	1	-1	40	8
4	1	1	-1	60	4
5	-1	-1	1	40	6
6	1	-1	1	60	5
7	-1	1	1	40	6
8	1	1	1	80	6,25
9	-1.414	0	0	40	7
10	1.414	0	0	80	4
11	0	-1.414	0	60	5
12	0	1.414	0	60	8
13	0	0	-1.414	50	6,5
14	0	0	1.414	50	8
15	0	0	0	50	4,5
16	0	0	0	40	5
17	0	0	0	40	5,5

1.1. Validation du modèle

La validation du modèle consiste à vérifier l'adéquation du modèle mathématique, puis à analyser les coefficients de ce modèle, cela nous permet de déterminer les facteurs significatifs ainsi que les interactions entre ces facteurs, une fois le modèle établi, l'étape finale consiste à analyser la variance pour valider le modèle, et ceci pour les réponses étudiées

1.1.1. Adéquation du modèle

La qualité du modèle polynomial adapté est appréciée par le coefficient de détermination multiple (R^2). Pour avoir un bon ajustement, R^2 doit être supérieur à 0,8.

➤ Viscosité

La valeur de ce coefficient ($R^2 = 0.891$) indique une bonne qualité descriptive du modèle ce qui est bien illustré par la figure 5 ci-dessous.

Résultats et Interprétations

On remarque que tous les points se rapprochent de la diagonale, donc les valeurs expérimentales sont proches des valeurs théoriques

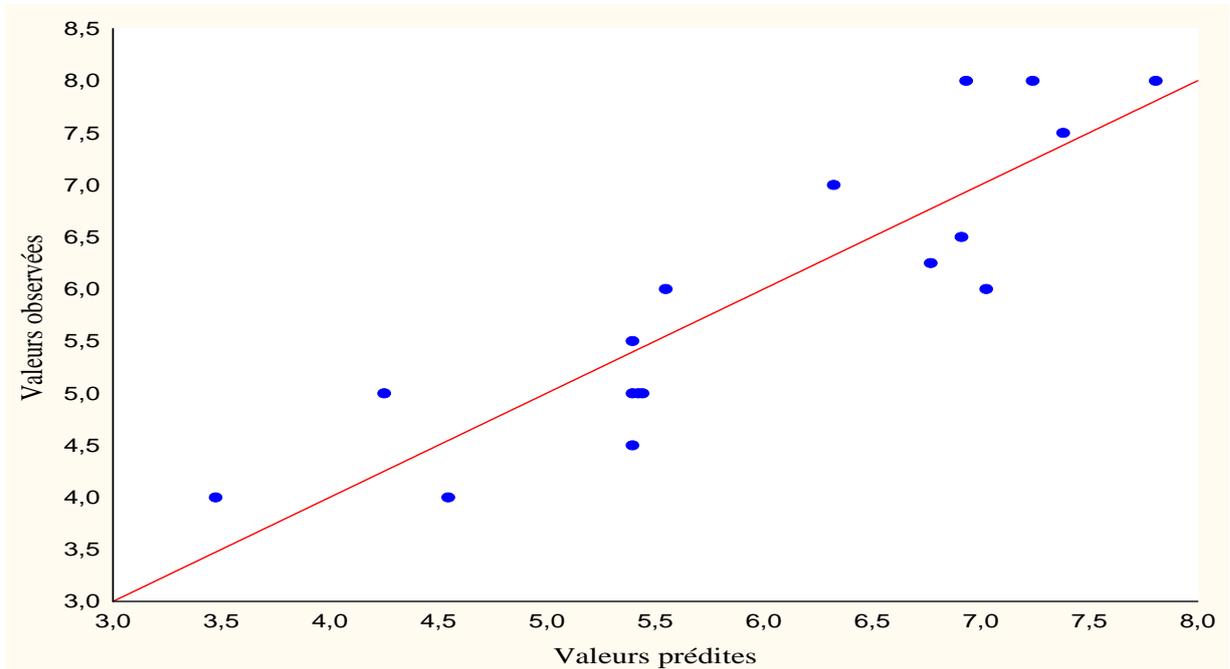


Figure 5. Représentation graphique des valeurs observées en fonction de valeurs estimées de la viscosité

➤ Taille des gouttelettes

La valeur de R^2 pour la taille des gouttelettes est 0,748. Ce modèle n'est pas adéquat car la valeur de R^2 est inférieure à 0,8.

La suite de l'étude de validation sera faite seulement pour la viscosité.

1.1.2. Facteurs significatifs

L'effet d'un facteur est défini par la variation d'une réponse lorsque ce facteur passe du niveau inférieur (-1) à son niveau supérieur (1) les autres étant fixés à leurs niveaux moyens (0). Le coefficient est significatif lorsque l'intervalle de confiance (matérialisé par la barre verticale) ne coupe pas l'axe horizontal (zéro).

Au seuil de signification de 5%, le facteur significatif pour la viscosité est la concentration en Bentonite, dans son terme linéaire, ce qui est tout à fait prévisible, puisque l'argile est un agent viscosifiant par excellence.[19]

La figure 6 représente l'histogramme de l'influence des facteurs sur la viscosité.

Résultats et Interprétations

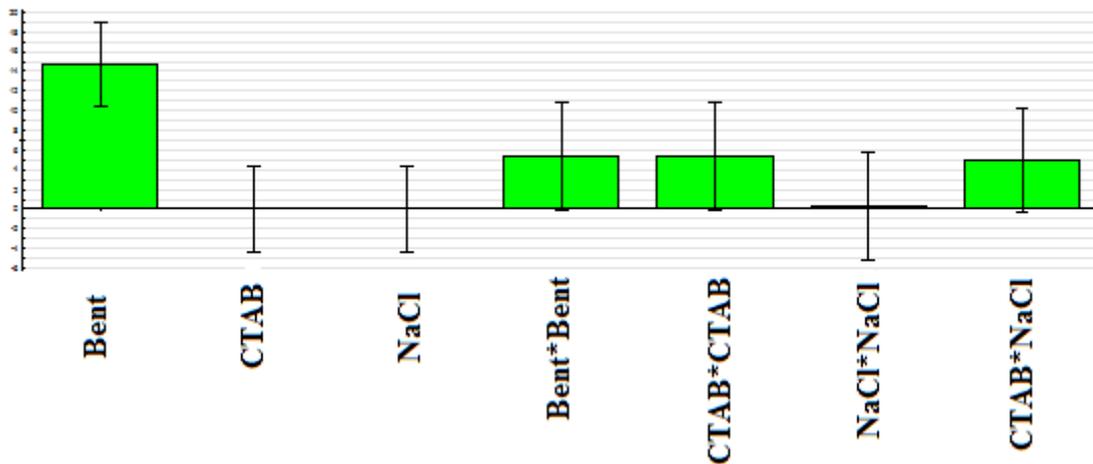


Figure 6. Histogramme de l'influence des coefficients sur la viscosité

1.1.3. Analyse de la variance

L'analyse de la variance s'effectue sur les modèles après exclusion des facteurs non significatifs. Les modèles avec des valeurs de p-value (la probabilité que le coefficient du modèle soit nul ou, autrement dit sans importance ou peu significatif) proches de zéro sont statistiquement significatifs et considérés comme appropriés pour décrire la réponse étudiée correspondante.

La valeur F de Fisher est le rapport du carré moyen du modèle à celui des résidus. Cette valeur permet de calculer la probabilité que ces deux carrés ne soient pas égaux. Si le F de Fisher expérimental (F_{Obs}) est supérieur à F de Fisher donné par les tables (F_{crit}) (Annexe 3), les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs, et le modèle est jugé valide.

D'après le tableau 12 de l'analyse de la variance (ANOVA), la valeurs de p-value est égale à 0,001 et F_{Obs} est supérieur à F_{crit} .

$F_{crit} = F(\text{régression} / \text{résiduelle}) = F(7, 9, 0.05) = 3.677$. Au seuil de signification de $\alpha = 0.05$, $R^2 = 0.891$. Comme $F_{obs} > F_{crit}$, le modèle est valide.

Tableau 12. Analyse de la variance pour la viscosité

	Somme des carrés	DDL	Carré moy	Fobs	Fcrit	P- value
Régression	3197.98	7	456.854	10.536	3.677	0.001
Résidus	390.253	9	43.3614			
Total	3588.23	16	224.265			

Résultats et Interprétations

1.1.4. Etude des Résidus

Pour compléter l'analyse statistique du modèle, il faut s'assurer que les résidus ne soient pas anormalement importants. Si le nuage de point est approximativement aligné le long d'une droite, on conclut que les résidus sont normalement distribués. Seules des causes aléatoires sont alors à l'origine de la dispersion des résidus autour de la moyenne.

La figure 7 représente l'évolution des résidus pour la viscosité en fonction des réponses prévues. La figure montre bien que les résidus sont normalement distribués et que leur dispersion est due à des causes aléatoires.

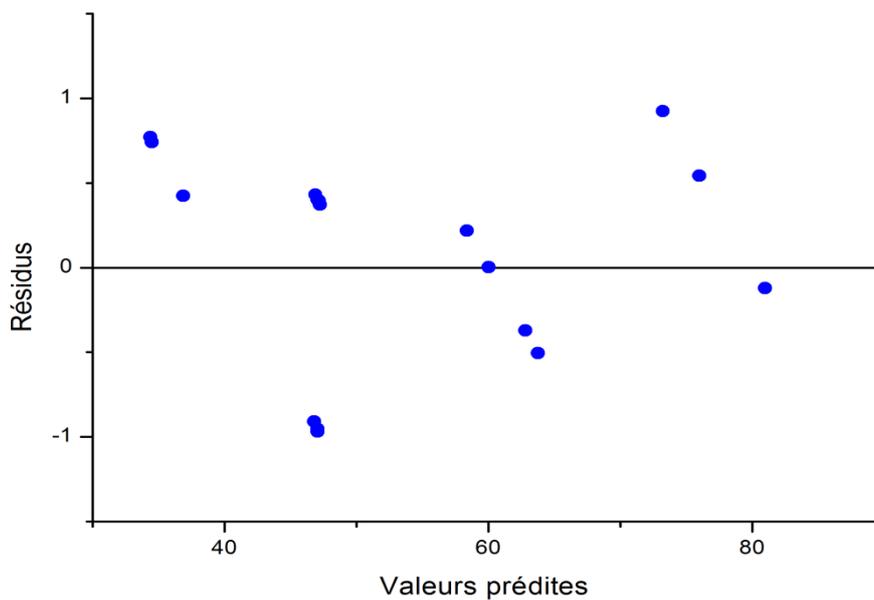


Figure 7. Evolution des résidus en fonction des valeurs prévues pour la viscosité

D'après ces résultats, on conclut que notre modèle est statistiquement validé. De ce fait on peut procéder à l'étape de modélisation des réponses et aussi à l'optimisation de la formule.

1.2. Modélisation de la viscosité à l'aide du logiciel Modde 06

Les coefficients déterminants la validité du modèle sont calculés, il s'agit du coefficient de corrélation R^2 et du coefficient de détermination Q^2 .

R^2 mesure l'ajustement de la réponse ; plus il est grand meilleur est le modèle. Alors que Q^2 traduit la capacité du modèle à traduire la réponse ; plus il est élevé plus le modèle peut prédire la réponse, la valeur de Q^2 doit être supérieur à 0.5.

Le tableau 13 donne les valeurs du coefficient de corrélation R^2 et le coefficient de détermination Q^2 de la réponse étudiée.

Résultats et Interprétations

Tableau 13. Valeurs de R^2 et Q^2 de la viscosité.

Valeurs	R^2	Q^2
Viscosité (cP)	0.891	0.519

Les valeurs de R^2 et Q^2 sont acceptables pour la viscosité.

Au seuil de signification de 5%, la viscosité peut être décrite par le modèle ci-dessous, Ce modèle ne fait apparaître que les modèles significatifs :

$$\text{Viscosité (cP)} = 3,54747 \cdot 10^{-7} + 2,86709 \cdot 10^{-5} \cdot \text{Bent} \dots\dots\dots(4)$$

1.3.Phase d'optimisation

Pour déterminer la formule optimale de notre émulsion à base de Bentonite, nous avons utilisé le module « optimizer » du logiciel Modde 6.

Les propriétés souhaitées pour la formule sont données dans le Tableau 14 :

Tableau 14. Propriétés désirées pour la formule.

Réponse	Critère	Min	Valeur cible	Max
Taille des gouttelettes	Minimiser		3,39177	3 ,8179
Viscosité	Maximiser	75,0569	79, 2202	

Le modèle procure un ensemble de solutions possibles, l'écart global avec la réponse ciblée est mesuré avec le paramètre (Log D).

Le tableau 15 donne les solutions possibles suggérées par le logiciel.

Tableau 15. Solutions renvoyées par l'optimiseur du logiciel Modde 6.

	Bentonite	CTAB	NaCl	taille des particules (μm)	Viscosité (cP)	log(D)
1	1	-0,9998	0,0784	4,1053	70,69	0,5442
2	1	-1	0,6623	4,3212	67,6487	0,7953
3	1	0,999	0,7357	5,5678	75,347	1,1294
4	1	-1	0,3439	4,1433	69,3081	0,6424
5	1	-1	-0,7939	4,6879	75,2421	0,706
6	1	-0,9998	0,0116	4,1115	71,039	0,526

Les solutions obtenues indiquent toutes des niveaux élevés en Bentonite et des niveaux variables en CTAB et en NaCl.

Résultats et Interprétations

Parmi ces solutions nous avons choisi la solution 6 composée de 3% de Bentonite, 0.003% de CTAB et 0.017 mol/l de NaCl comme formule optimale.

La caractérisation de la formule optimale a donné les résultats suivants (Tableau 16)

Tableau16. Valeurs de viscosité et de la taille des gouttelettes de la formule optimale.

Taille des gouttelettes (μm)	5
Viscosité (cP)	60

Nous remarquons que la taille des gouttelettes prédite par le logiciel pour la formulation optimale est de 4.11 μm et la valeur expérimentale pour cette réponse est de 5 μm . De même pour la réponse viscosité, les valeurs prédites et réelles sont très proches 71.03cP et 60cP. A partir de là on confirme que le modèle choisi est valide.

II. Série 2

1. Résultats de l'étude rhéologique

Les valeurs de la viscosité au repos (V_0) et à l'infini (V_{inf}) sont déterminées à partir des rhéogrammes.

La figure 8 représente le rhéogramme de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour la formulation 1. Les autres formulations ont le même comportement rhéologique, leurs rhéogrammes sont donnés dans l'annexe 4.

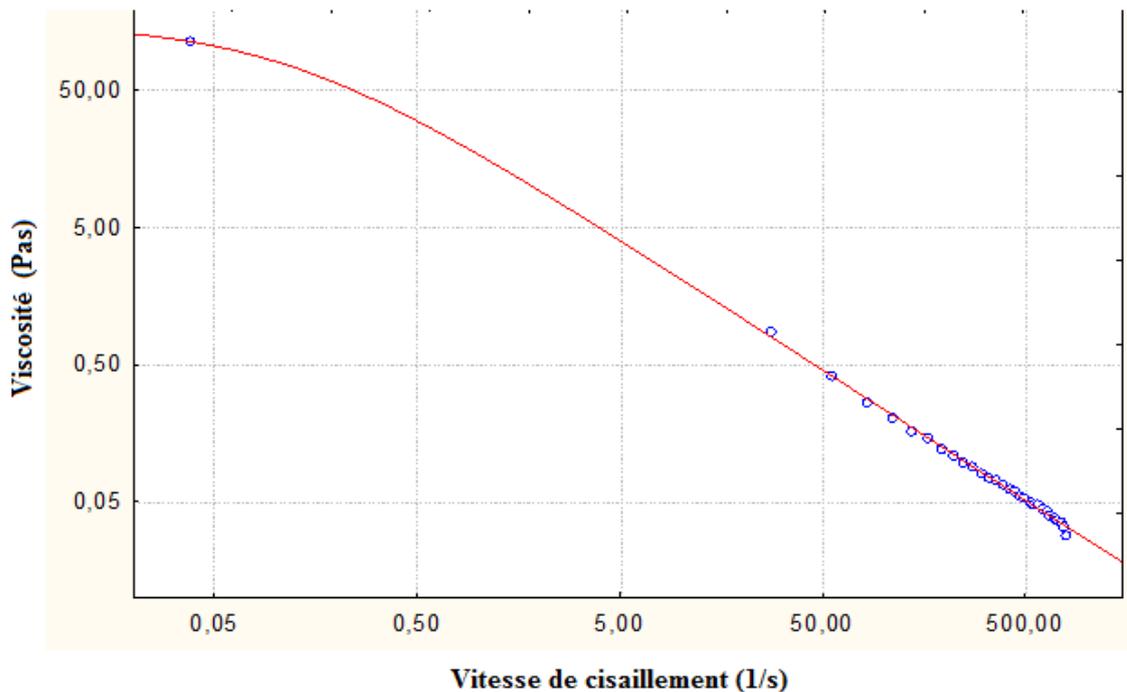


Figure 8. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de la formulation 1.

Résultats et Interprétations

D'après les rhéogrammes, toutes les émulsions ont le même comportement rhéologique qui répond au modèle de CROSS.

Le modèle de Cross s'écrit comme suit :

$$\eta = \eta_{\infty} + \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{1 + (\lambda \dot{\gamma})^n} \dots \dots \dots (5)$$

A partir de cette formule on déduit les valeurs de V_0 et V_{inf}

Le tableau 17 donne la matrice d'expérience ainsi que les résultats des mesures effectuées pour la série 2

Tableau 17. Matrice d'expérience et les résultats des mesures effectuées

N°	Vitesse d'homogénéisation	Durée d'homogénéisation	Vitesse d'agitation	V0 (Pa.s)	Vinf (Pa.s)	Resistance à la centrifugation (min)	Taille des gouttelettes (µm)
1	-1	-1	-1	153,8	0,0005	2	8
2	1	-1	-1	211,1	0,0408	14	7
3	-1	1	-1	231,5	0,0273	16	8
4	1	1	-1	216,8	0,0112	72	8
5	-1	-1	1	351,3	0,0067	4	6
6	1	-1	1	206,1	0,0102	10	5
7	-1	1	1	410,1	0,0024	20	7
8	1	1	1	339,3	0,0132	16	6
9	0	0	0	141,5	0,0145	8	6
10	0	0	0	675,3	0,006	46	7
11	0	0	0	226,1	0,0383	36	6

1.1. Validation du modèle

Il faut d'abord vérifier l'adéquation du modèle mathématique, puis l'analyse des coefficients du modèle qui nous permettra de déterminer les facteurs significatifs ainsi que les interactions pour pouvoir écrire l'équation du modèle. Enfin on passe à l'analyse de la variance pour valider le modèle et ceci pour les réponses étudiées.

1.1.1. Adéquation du modèle

La qualité du modèle polynomial adapté est appréciée par le coefficient de détermination multiple (R^2). Pour avoir un bon ajustement, R^2 doit être supérieur à 0,8.

Le modèle n'est pas adéquat pour les réponses suivantes : la durée de résistance à la centrifugation avec un R^2 de 0.685, la viscosité à l'état 0 avec un R^2 de 0.155 et enfin la viscosité à l'état infini avec un R^2 égal à 0.381; aucun des facteurs choisis n'est significatif

Résultats et Interprétations

sur ces réponses. Il est adéquat pour la taille des gouttelettes dont on a fait l'étude statistique.

La valeur de R^2 pour la taille des gouttelettes est 0.823. C'est une valeur acceptable

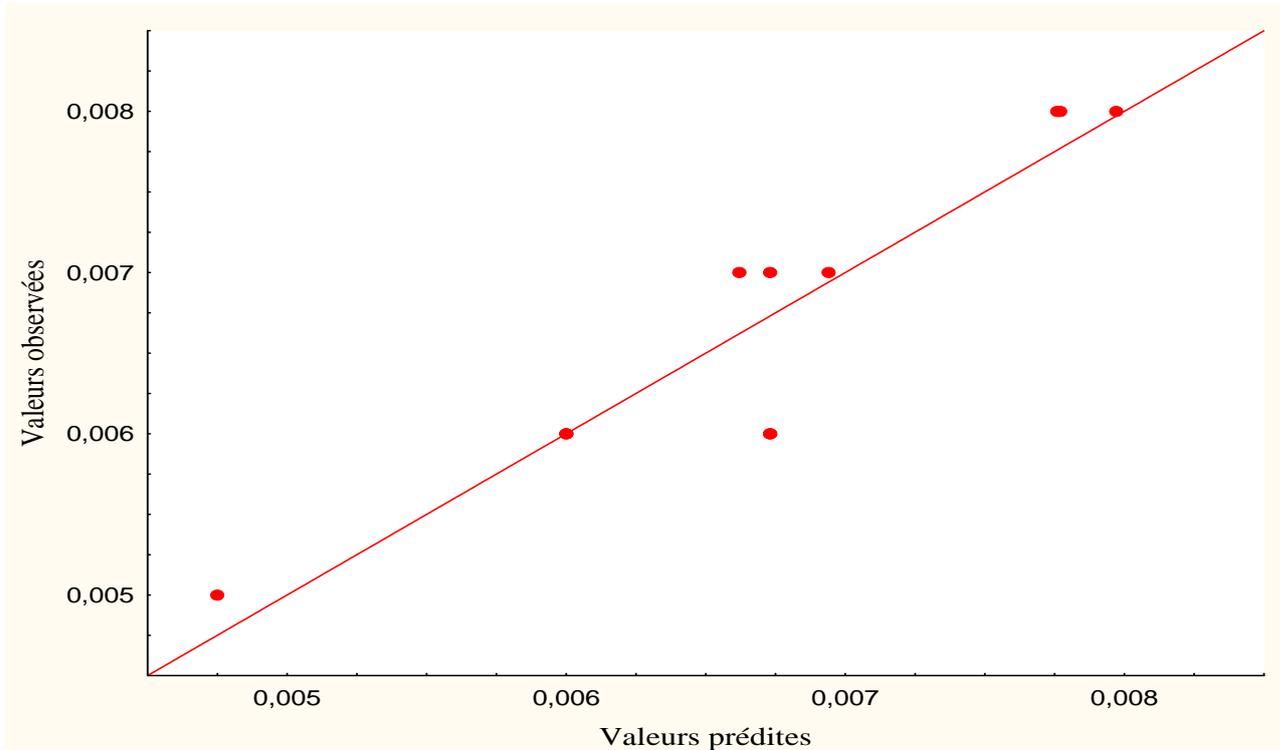


Figure9. Représentation graphique des valeurs observées en fonction des valeurs estimées de la taille des gouttelettes

1.1.2. Facteurs significatifs

Au seuil de signification de 5%, le seul facteur significatif pour la taille des gouttelettes est la vitesse d'agitation comme le présente la figure 10. D'après la littérature, c'est la vitesse d'homogénéisation qui influe plus sur la taille des gouttelettes. Dans notre cas on remarque que lors de l'incorporation de la phase huileuse, la vitesse d'agitation choisie a été déjà suffisante pour disperser cette phase en fine gouttelettes. Ce résultat est à confirmer.

Résultats et Interprétations

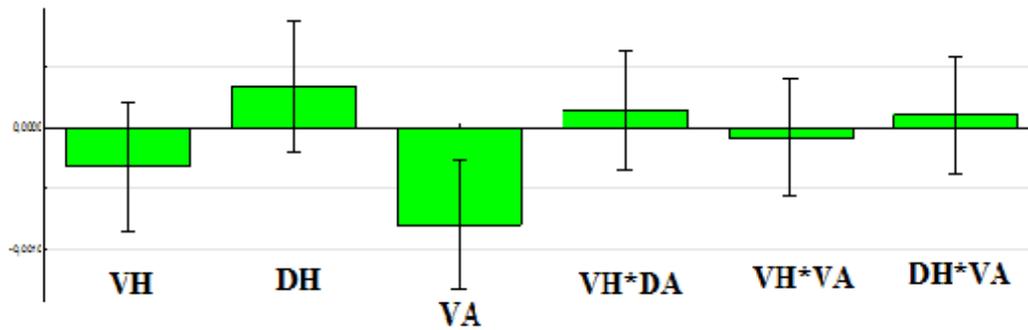


Figure 10. Histogramme de l'influence des coefficients sur la taille des gouttelette

1.1.3. Analyse de la variance

D'après le tableau 18 de l'analyse de la variance (ANOVA), la valeurs de p-value est égale à 0,005 et F_{Obs} est supérieur à F_{Crit} .

$F_{Crit} = F$ (régression /résiduelle) = $F(3, 7, 0.05) = 8,887$. Au seuil de signification de $\alpha = 0.05$, $R^2 = 0.823$

Tableau 18. Analyse de la variance pour la taille des gouttelettes

	Somme des carrés	DDL	Carré moy	Fobs	Fcrit	P- value
Régression	$8,37504 \cdot 10^{-6}$	3	$2,79168 \cdot 10^{-6}$	10,8155	8,887	0,005
Résidus	$1,80682 \cdot 10^{-6}$	7	$2,58117 \cdot 10^{-7}$			
Total	$1,01819 \cdot 10^{-5}$	10	$1,01819 \cdot 10^{-6}$			

Comme $F_{obs} > F_{crit}$, le modèle est valide

1.1.4. Etude des Résidus

La figure 11 montre l'évolution des résidus en fonction des réponses prévues pour la taille des gouttelettes. Les résidus sont distribués d'une façon aléatoire.

Résultats et Interprétations

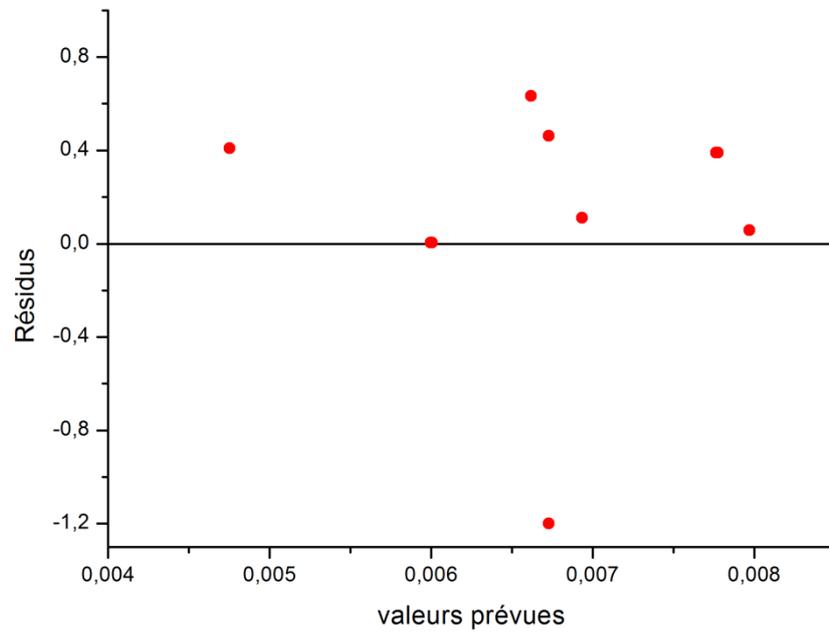


Figure 11. Evolution des résidus en fonction des valeurs prévues pour la taille des gouttelettes

Résultats et Interprétations

D'après ces résultats, on peut conclure que notre modèle est statistiquement validé. De ce fait on peut procéder à l'étape de modélisation des réponses et aussi à l'optimisation des conditions opératoires de la formulation.

1.2. Modélisation de la taille des gouttelettes à l'aide du logiciel Modde 06

Le tableau 19 donne la valeur du coefficient de corrélation R^2 et le coefficient de détermination Q^2 de la réponse étudiée.

Tableau 19. Valeurs de R^2 et Q^2 de la taille des gouttelettes

Valeurs	R^2	Q^2
Taille des gouttelettes (μm)	0,823	0,633

Les valeurs de R^2 et Q^2 sont acceptables pour la taille des gouttelettes.

Au seuil de signification de 5%, la taille des gouttelettes peut être décrite par le modèle (6), où n'apparaissent que les termes significatifs.

$$\text{Taille des gouttelettes } (\mu\text{m}) = 8,2888 \cdot 10^{-10} + 1,81156 \cdot \text{VA} \dots\dots(6)$$

1.3. Phase d'optimisation

Pour déterminer la formule optimale de notre émulsion à base de Bentonite, nous avons utilisé le module « optimizer » du logiciel Modde 6.

Les propriétés souhaitées pour la formule sont données dans le Tableau 20 :

Tableau 20. Propriétés désirées pour la formule

Réponse	Critère	Valeur cible	Max
Taille des gouttelettes	Minimiser	4,5911	4,91303

Le modèle procure un ensemble de solutions possibles, l'écart global avec la réponse ciblée est mesuré avec le paramètre (Log D).

Le tableau 21 donne les solutions possibles renvoyées par le logiciel.

Résultats et Interprétations

Tableau 21. Solutions renvoyées par l'optimiseur du logiciel Modde 6.

N°	VA	VH	DH	Taille des gouttelettes (μm)	Log(D)
1	1	-0,9995	0,6625	5.1	0,4327
2	0,9999	-0,991	1	4.8	-0,5721
3	0,3487	-1	0,9999	5.2	0,4947
4	1	-0,9688	1	4.8	-0,5027
5	1	-0,6304	1	5	0,169
6	1	-1	1	4.8	-0,6021

Les solutions obtenues indiquent toutes des niveaux variables en vitesse d'agitation, vitesse et en durée d'homogénéisation. Parmi ces solutions nous avons choisi la solution 6 ayant une vitesse d'agitation de 1500 tr/min, une vitesse d'homogénéisation de 14000 tr/min et une durée d'homogénéisation de 5 minutes comme conditions opératoires optimales. La caractérisation de la formule optimale a donné les résultats suivants (Tableau 22)

Tableau22. Valeur de la taille des gouttelettes de la formule optimale.

Formulation	Optimum
Taille des gouttelettes (μm)	5,47

2. Etude rhéologique

a) Série 1

2.1. Formulation optimale

La figure 12 représente le rhéogramme de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour la formulation optimale.

Résultats et Interprétations

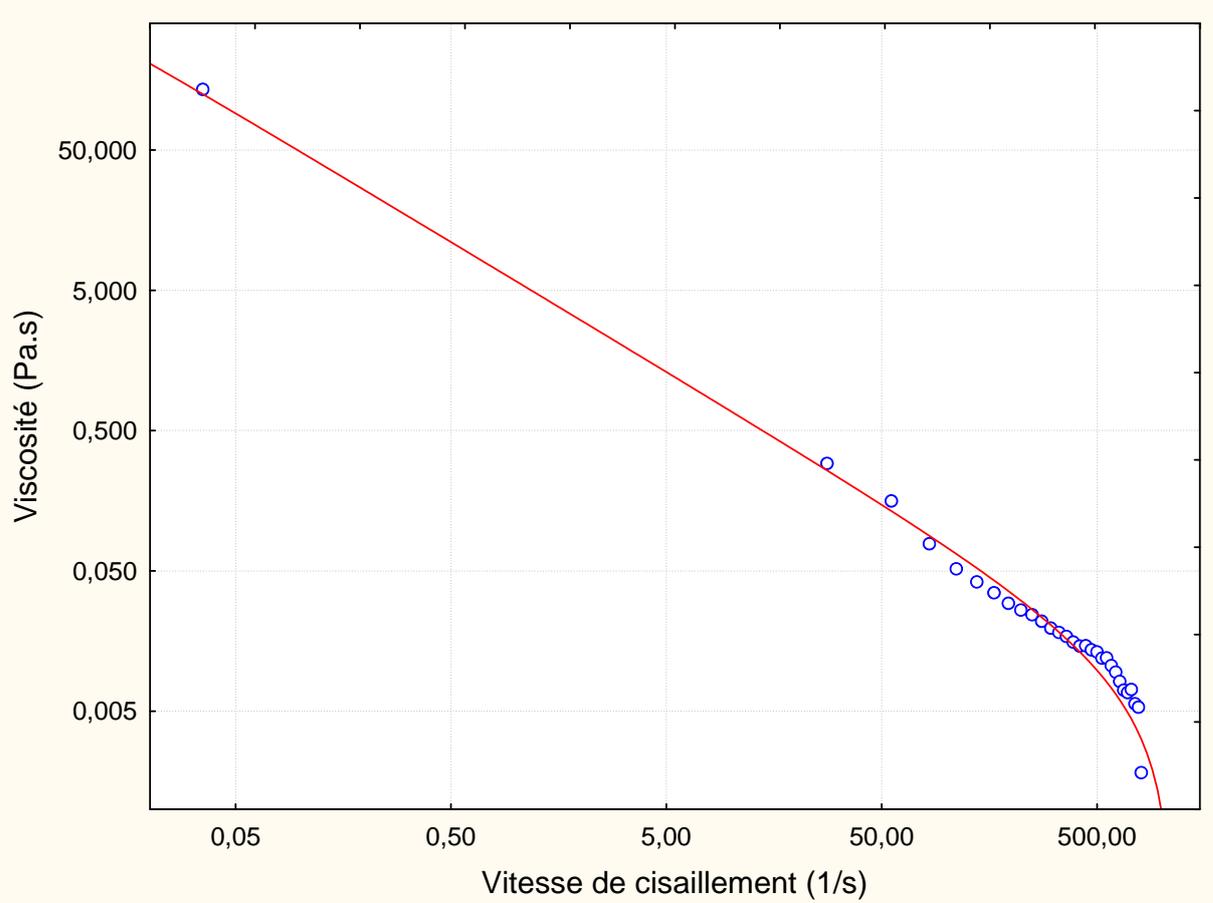


Figure 12. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de la formulation optimale

D'après le rhéogramme, l'émulsion a un comportement rhéofluidifiant qui répond au model de Cross avec des viscosités au repos et à l'infini de 126.9203Pa.s et 0.00099Pa.s.

2.2.Produit fini

La figure 13 représente le rhéogramme de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour le produit fini.

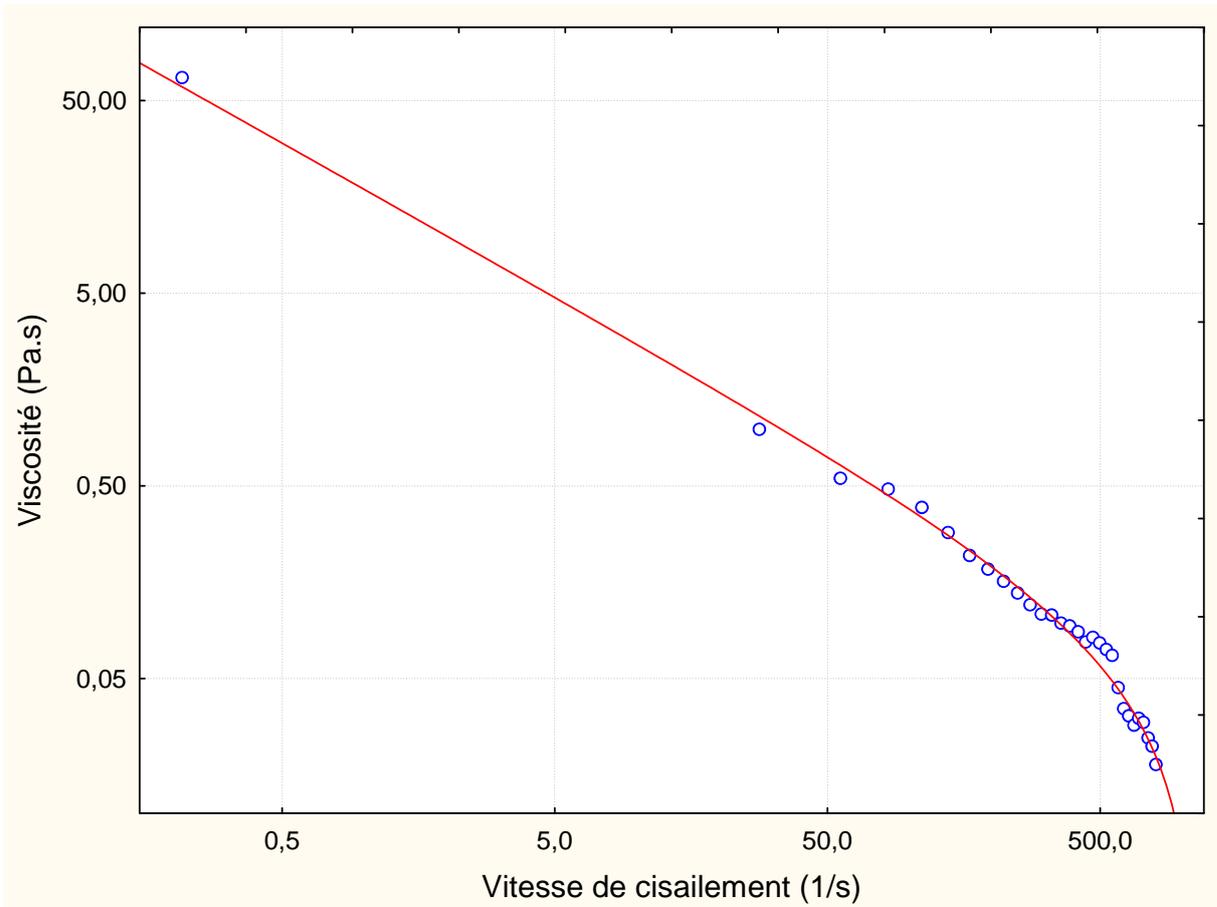


Figure 13. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement du produit fini.

Les valeurs de viscosité au repos et à l'infini pour le produit fini sont 172.23Pa.s, et 0.008 Pa.s respectivement.

Les émulsions de cette première série sont diluées, ce qui est indiqué par les faibles valeurs de viscosité au repos. En effet, les valeurs de la viscosité à l'infini sont de l'ordre de 10^{-3} Pa.s. En effet, les valeurs de la viscosité à l'infini sont de l'ordre de 10^{-3} Pa.s, ces dernières représentent la viscosité de l'eau à 20°C.

b) Série 2

2.1.Formulations optimale

La figure 14 représente le rhéogramme de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour la formulation optimale.

Résultats et Interprétations

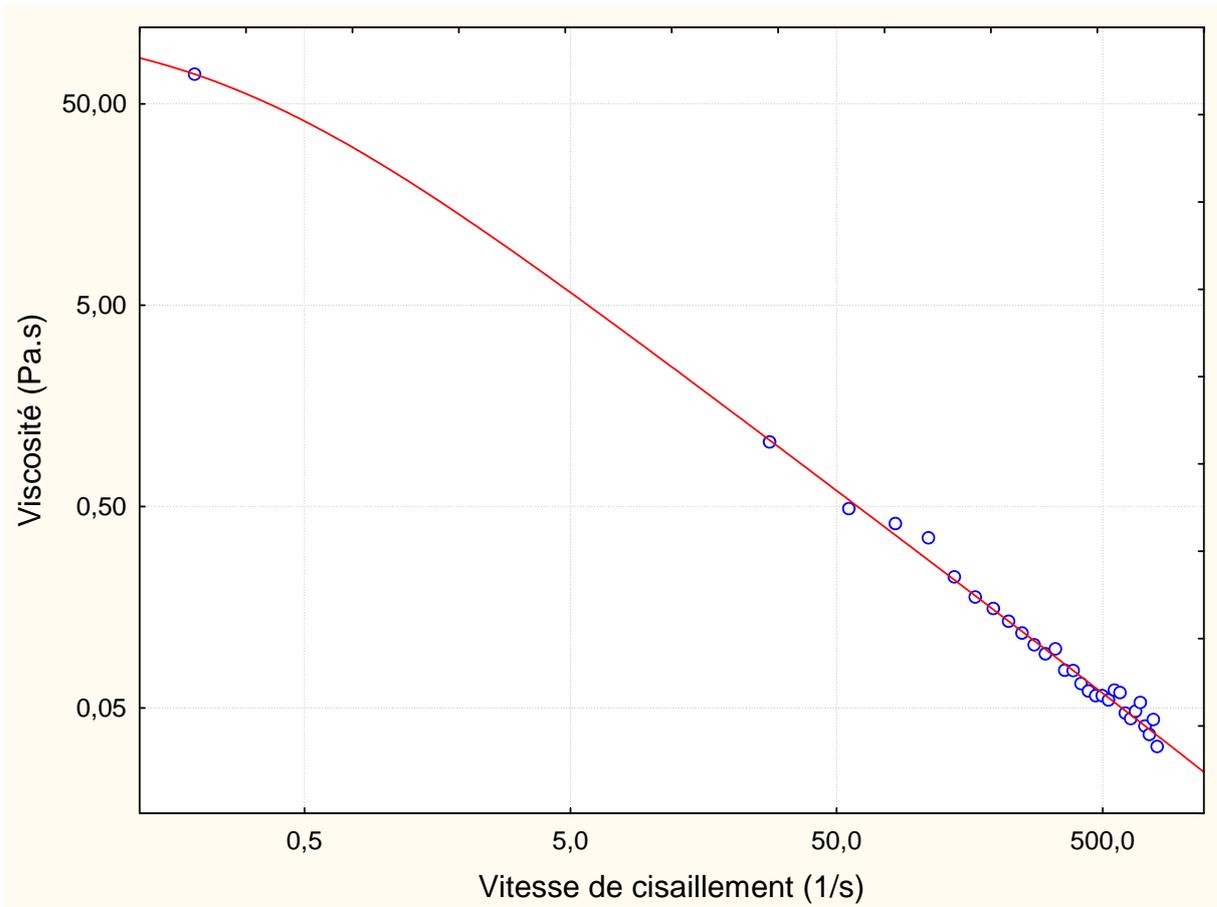


Figure 14. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de la formulation optimale

La formulation optimale de l'émulsion de la 2^{ème} série a un comportement rhéofluidifiant qui répond au modèle de Cross avec des valeurs de viscosité au repos et à l'infini de 3149.6 Pa.s et 0.00888 Pa.s.

2.2. Produit fini

La figure 15 représente le rhéogramme de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour le produit fini.

Résultats et Interprétations

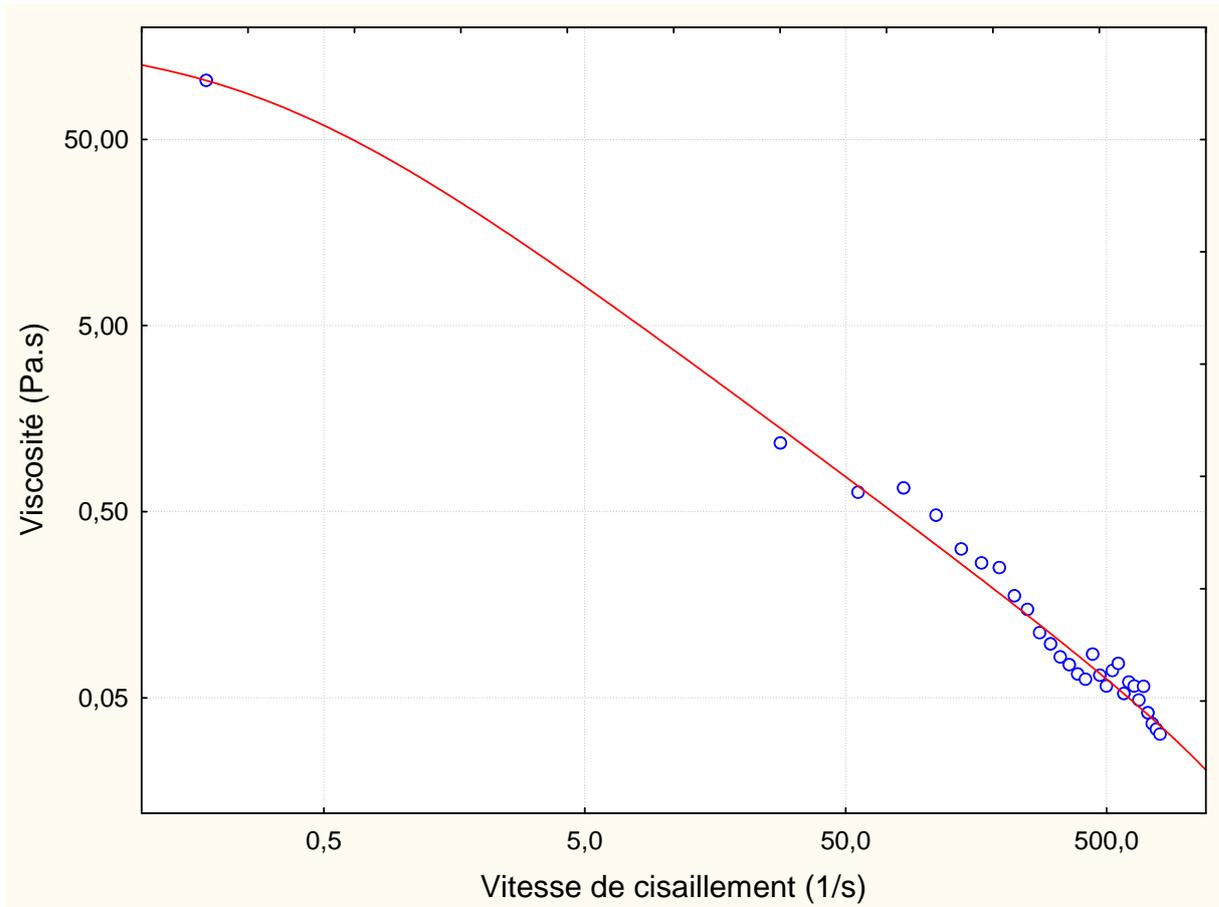


Figure 15. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement du produit fini

Le produit fini de la 2^{ème} série répond aussi au modèle de Cross avec des valeurs de viscosité au repos et à l'infini de 6610.78 Pa.s, et 0.0646 Pa.s.

Nous remarquons que la viscosité au repos des émulsions de la 2^{ème} série est élevée, ce qui assure leurs stabilité, alors que la viscosité à l'infini est très faible ce qui indique une facilité d'étalement.

3. Résultats et interprétation de l'étude antibactérienne

3.1. Résultats de la lecture

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des émulsions. Voir Annexe 5

Les zones d'inhibition sont indiquées dans le Tableau 23.

Résultats et Interprétations

Tableau 23. Diamètres de l'émulsion à 1% de Thymol.

	Thymol	Produit fini de la série 1	Produit fini de la série 2	Antibiotique (Témoin +)
	D (mm)	D (mm)	D (mm)	D (mm)
Staphylococcus aureus	9	/	7	23
Escherichia coli	9	/	/	23
Pseudomonas aeruginosa	20	11	10	20

D'après le tableau :

- Le Thymol n'a pas d'activité antibactérienne sur les souches staphylococcus aureus et Escherichia coli ($D < 10\text{mm}$) par contre il a une activité modérément inhibitrice sur la souche bactérienne Pseudomonas aeruginosa ($16\text{ mm} < D < 28\text{ mm}$).
- Le produit fini de la série 1 a une activité légèrement inhibitrice sur la souche bactérienne Pseudomonas Aeruginosa ($10\text{ mm} < D < 16\text{ mm}$).
- Le produit fini de la série 2 a une activité non inhibitrice sur la souche bactérienne staphylococcus et une activité légèrement inhibitrice sur la souche bactérienne Pseudomonas Aeruginosa.

On conclut que les deux émulsions formulées avec un rapport H/E de 10/90 et 30/70 ont la même activité antibactérienne et donc libèrent le principe actif avec la même vitesse.

Conclusion

Conclusion générale

Au cours de ce travail, les émulsions de Pickering stabilisées par la bentonite ont été caractérisées pour suivre l'influence de différents paramètres et comprendre les phénomènes responsables de la stabilisation en vue d'obtenir la meilleure stabilité physique possible.

L'objectif est de rechercher des corrélations entre la composition et les différentes propriétés physico- chimiques de l'émulsion et de trouver les domaines de concentrations les plus favorables.

Dans un premier temps, nous avons travaillé sur les mécanismes de stabilisation des émulsions de Pickering en étudiant l'influence de la composition de l'émulsion à savoir le pourcentage en bentonite, le pourcentage en agent tensioactif (CTAB), et la concentration en sel (NaCl).

En une deuxième étape, nous nous sommes intéressées à l'influence du protocole de formulation à savoir la vitesse d'agitation, la vitesse d'homogénéisation et la durée d'homogénéisation sur la stabilité de l'émulsion.

Une étude statistique a été réalisée dans le but de l'optimisation de la composition de formule, ainsi que les conditions opératoires de la formulation. L'étude rhéologique, et l'étude microbiologique des formulations optimales et du produit fini ont été entreprises.

Les résultats ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- La viscosité de l'émulsion est fortement dépendante de la quantité de la Bentonite
- La vitesse d'agitation influe sur la taille des gouttelettes
- Les émulsions ont un comportement rhéologique rhéofluidifiant.
- Un effet antibactérien a été observé sur *Pseudomonas aeruginosa* après incorporation du Thymol comme principe-actif.

Les travaux présentés dans ce mémoire permettent d'émettre de nombreuses perspectives.

Les idées les plus importantes sont présentées ci-dessous :

- Confirmer l'influence de la vitesse d'agitation sur la taille des gouttelettes
- Réaliser plus de tests de caractérisation tels que la mesure de potentiel zêta
- Réaliser un test de toxicité
- Faire d'autres tests pharmacologiques

Références bibliographiques

1. Brochette, P., *Emulsification: Elaboration et étude des émulsions*. Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés, 1999. **2**: p. J2150. 1-J2150. 22.
2. Doumeix, O., *Opérations unitaires en génie biologique: Les émulsions*. 2011: SCÉRÉN-CNDP-CRDP [Aquitaine].
3. Tadros, T., *Emulsion formation and Stability*. 2013. 272.
4. Tir, M., *Utilisation des techniques électrochimiques dans le traitement des émulsions hydrocarbures/eau*. 2008.
5. Yi, G.R., et al., *Monodisperse Micrometer-Scale Spherical Assemblies of Polymer Particles*. *Advanced Materials*, 2002. **14**(16): p. 1137-1140.
6. Le Hir, A. and M. Janot, *Pharmacie galénique(bonnes pratiques de fabrication des médicaments)*. *Abrégés de pharmacie*, 2001.
7. Frelichowska, J., *Émulsions stabilisées par des particules solides: études physico-chimiques et évaluation pour l'application cutanée*. 2009, Université Claude Bernard-Lyon I.
8. Zoppe, J.O., R.A. Venditti, and O.J. Rojas, *Pickering emulsions stabilized by cellulose nanocrystals grafted with thermo-responsive polymer brushes*. *Journal of colloid and interface science*, 2012. **369**(1): p. 202-209.
9. Fouilloux, S., *Nanoparticules et microfluidique pour un système modèle d'émulsions de Pickering. Etude des mécanismes de stabilisation et déstabilisation*. 2011, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.
10. Prestidge, C.A. and S. Simovic, *Nanoparticle encapsulation of emulsion droplets*. *International journal of pharmaceutics*, 2006. **324**(1): p. 92-100.
11. Chen, J., et al., *Influence of the particle type on the rheological behavior of Pickering emulsions*. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects*, 2011. **382**(1-3): p. 238-245.
12. Aveyard, R., B.P. Binks, and J.H. Clint, *Emulsions stabilised solely by colloidal particles*. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2003. **100**: p. 503-546.
13. Binks, B.P. and S.O. Lumsdon, *Stability of oil-in-water emulsions stabilised by silica particles*. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 1999. **1**(12): p. 3007-3016.

Références bibliographiques

14. Tambe, D.E. and M.M. Sharma, *Factors controlling the stability of colloid-stabilized emulsions: II. A model for the rheological properties of colloid-laden interfaces*. Journal of colloid and interface science, 1994. **162**(1): p. 1-10.
15. Chevalier, Y. and M.-A. Bolzinger, *Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2013. **439**: p. 23-34.
16. CHIBANE, H., R. SERRA, and R. LEROY, *Mise en uvre d'une optimisation multi-objectif en tournage d'un acier 100C6: compromis entre qualité de surface et productivité*. 20ème Congrès Français de Mécanique, 28 août/2 sept. 2011-25044 Besançon, France (FR), 2011.
17. Pereira, M., et al., *Compatibility study between chitosan and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2014. **116**(2): p. 1091-1100.
18. Raymond C Rowe, P.J.S.a.S.O., *Handbook of Pharmaceutical Excipient 5ème edition American Pharmacists Association.London*. 2006.
19. Touzouirt, S., et al., *Optimisation de la stabilité d'une émulsion de Pickering H/E à l'aide de la méthodologie des surfaces de réponses*. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 2017. **95**(1): p. 77-82.
20. ZAYYAD, N., *Analyses cirque et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de Thymus : Thymus zygis, T. algeriensis et T. bleicherianus*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège,, 2014,. **83**,: p. 118 - 132.
21. Smith, M.D.a.N., P.L, *A new protocol for Antimicrobial Testing of Oil*. Journal of Microbiological Methodes, 1997. **28**: p. 21-24.
22. Benkherara, O.B., A. Boutlelis Djahra, *Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale sur quelques entérobactéries pathogènes Salviaofficinalis*, 2011: p. 74-75.
23. RASOOLI I., R.M.B., ALLAMEH A, *Ultrastructural studies on antimicrobialefficacy of thyme essential oils on Listeria monocytogenes* International journal of infections deseases, 2006. **10**: p. 236-241.

Annexe

ANNEXE 1

Milieux de culture

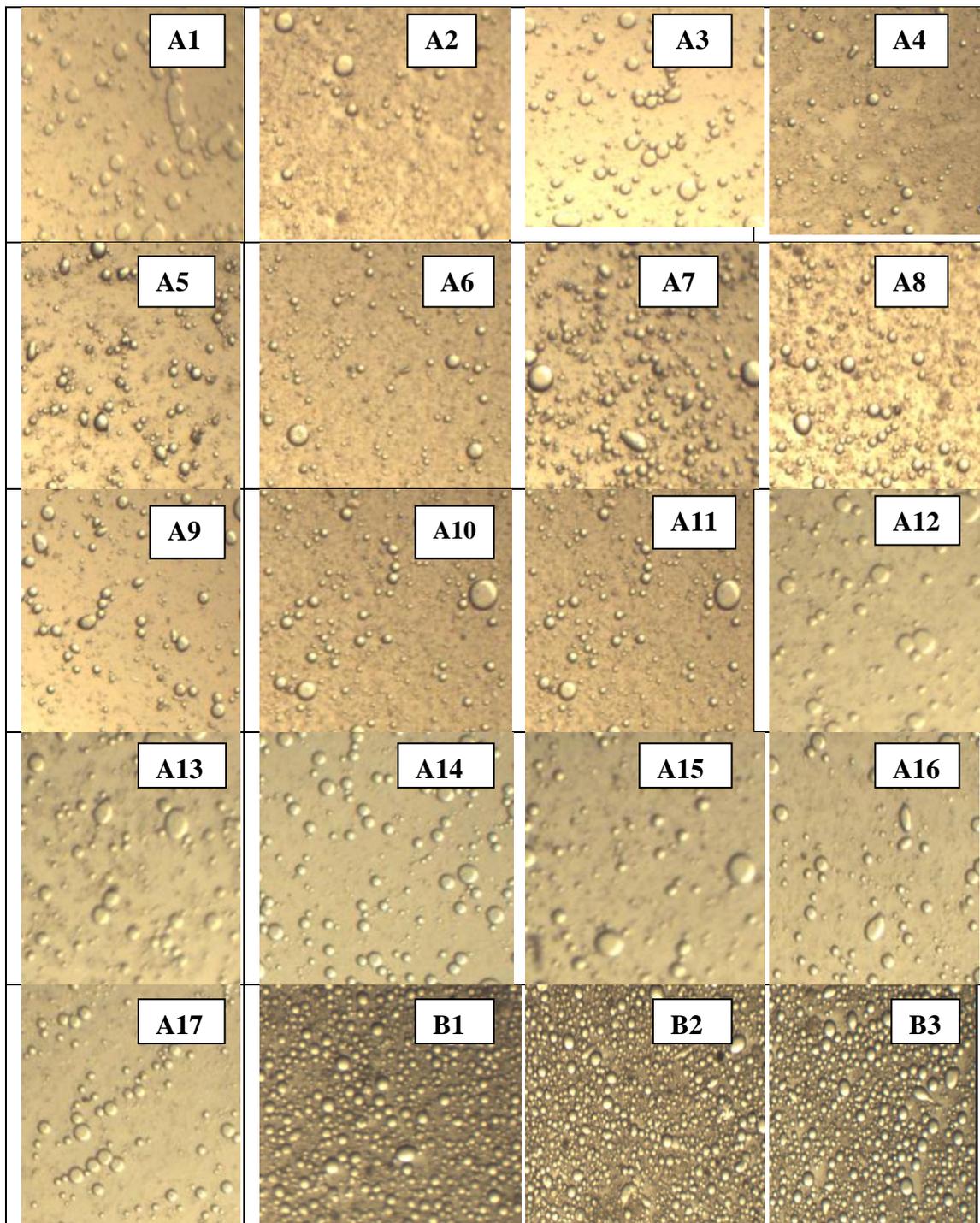
Muller-Hinton gélosé (M-H) : (g/l)

Infusion de viande de boeuf.....	3g
Hydrolysate acide de caséine.....	17.5g
Amidon	01.5g
Agar.....	16g

Eau physiologique 9% (NaCl)

Chlorure de Sodium.....	9g
Eau ppi qsp	1000ml

ANNEXE 2



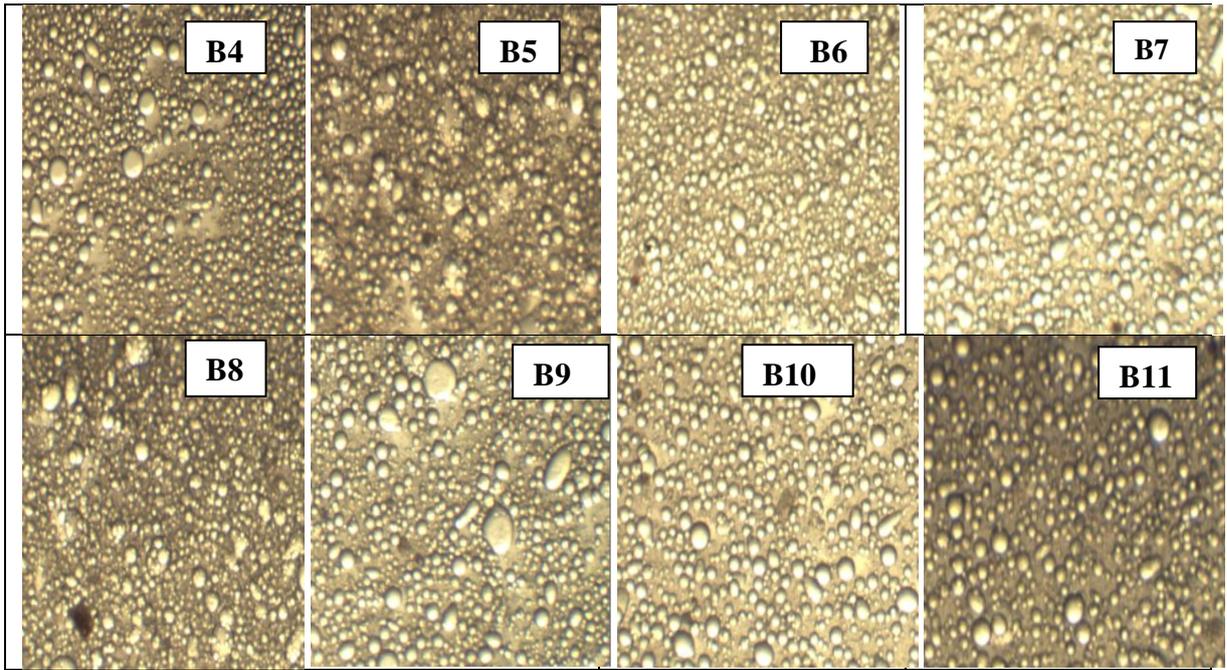


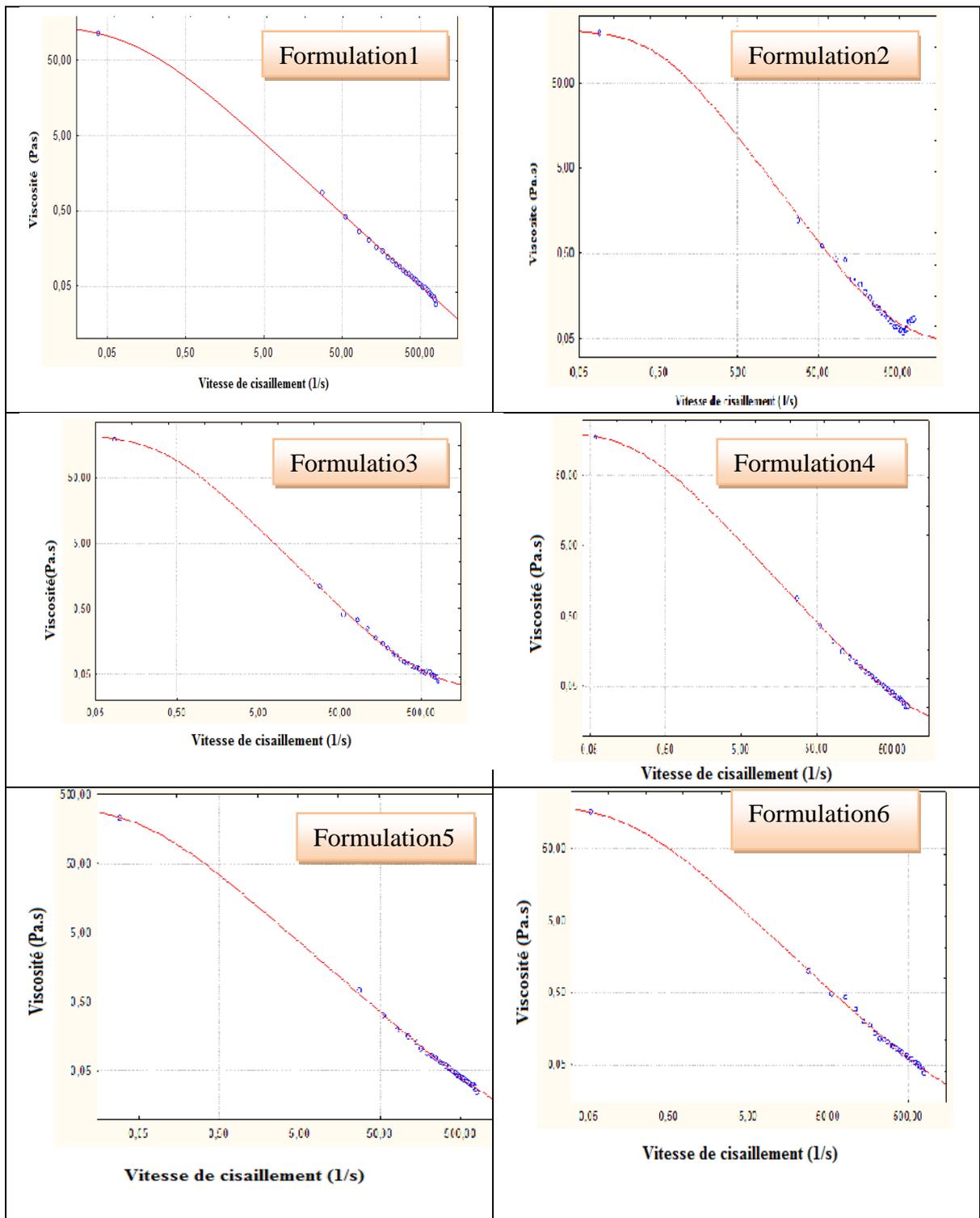
Figure16. Résultats du microscope optique de la série 1 (A) et la série 2 (B)

ANNEXE 3

Tableau 24 .Table de Fisher-Snedecor ($\alpha= 5\%$)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348
21	4.325	3.467	3.072	2.840	2.685	2.573	2.488	2.420	2.366	2.321
22	4.301	3.443	3.049	2.817	2.661	2.549	2.464	2.397	2.342	2.297
23	4.279	3.422	3.028	2.796	2.640	2.528	2.442	2.375	2.320	2.275
24	4.260	3.403	3.009	2.776	2.621	2.508	2.423	2.355	2.300	2.255
25	4.242	3.385	2.991	2.759	2.603	2.490	2.405	2.337	2.282	2.236
26	4.225	3.369	2.975	2.743	2.587	2.474	2.388	2.321	2.265	2.220
27	4.210	3.354	2.960	2.728	2.572	2.459	2.373	2.305	2.250	2.204
28	4.196	3.340	2.947	2.714	2.558	2.445	2.359	2.291	2.236	2.190
29	4.183	3.328	2.934	2.701	2.545	2.432	2.346	2.278	2.223	2.177
30	4.171	3.316	2.922	2.690	2.534	2.421	2.334	2.266	2.211	2.165
40	4.085	3.232	2.839	2.606	2.449	2.336	2.249	2.180	2.124	2.077
50	4.034	3.183	2.790	2.557	2.400	2.286	2.199	2.130	2.073	2.026
60	4.001	3.150	2.758	2.525	2.368	2.254	2.167	2.097	2.040	1.993
70	3.978	3.128	2.736	2.503	2.346	2.231	2.143	2.074	2.017	1.969
80	3.960	3.111	2.719	2.486	2.329	2.214	2.126	2.056	1.999	1.951
90	3.947	3.098	2.706	2.473	2.316	2.201	2.113	2.043	1.986	1.938
100	3.936	3.087	2.696	2.463	2.305	2.191	2.103	2.032	1.975	1.927
150	3.904	3.056	2.665	2.432	2.274	2.160	2.071	2.001	1.943	1.894
200	3.888	3.041	2.650	2.417	2.259	2.144	2.056	1.985	1.927	1.878
400	3.865	3.018	2.627	2.394	2.237	2.121	2.032	1.962	1.903	1.854

ANNEXE 4



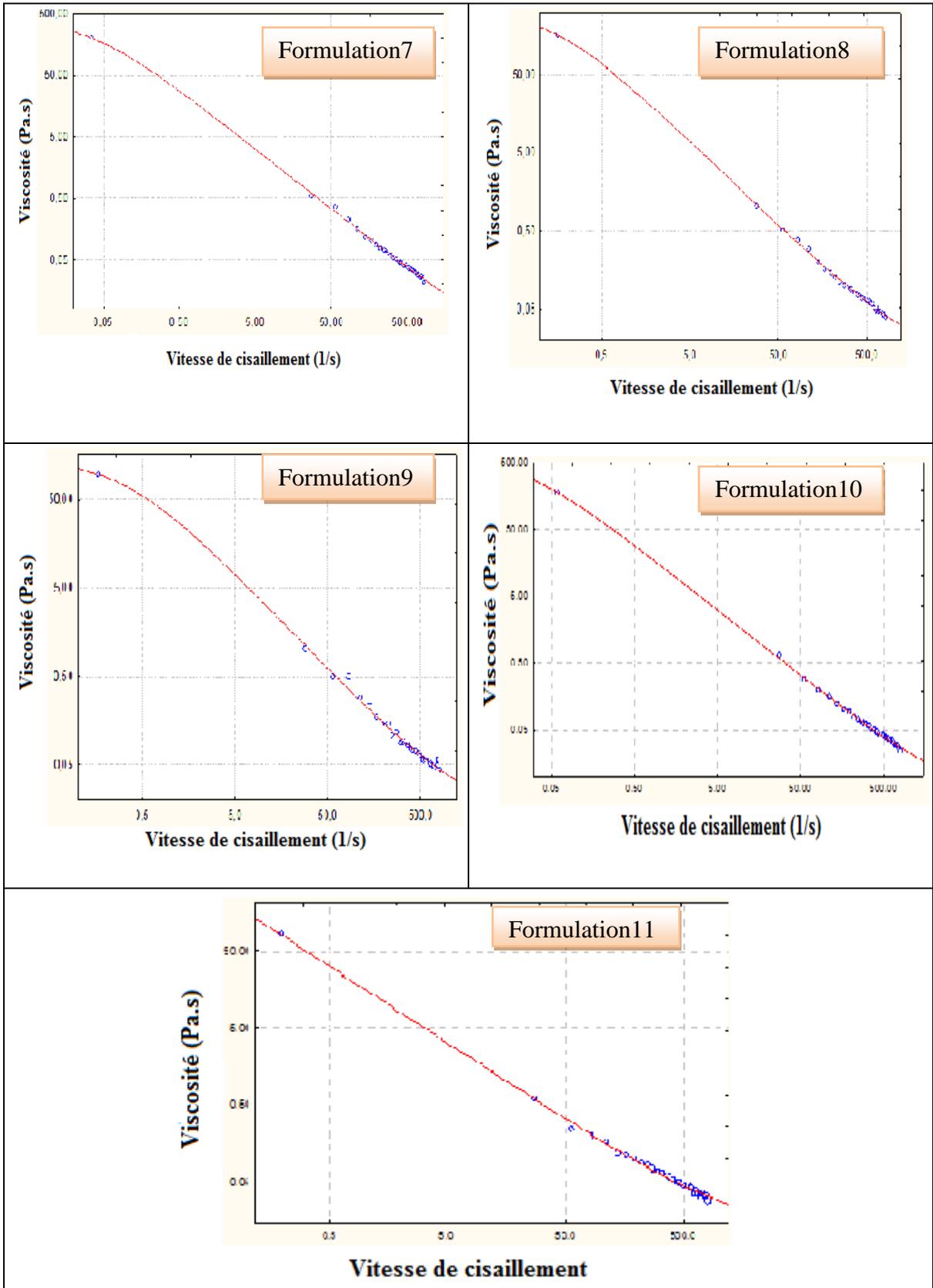


Figure 17. Viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement des émulsions formulées

ANNEXE 5

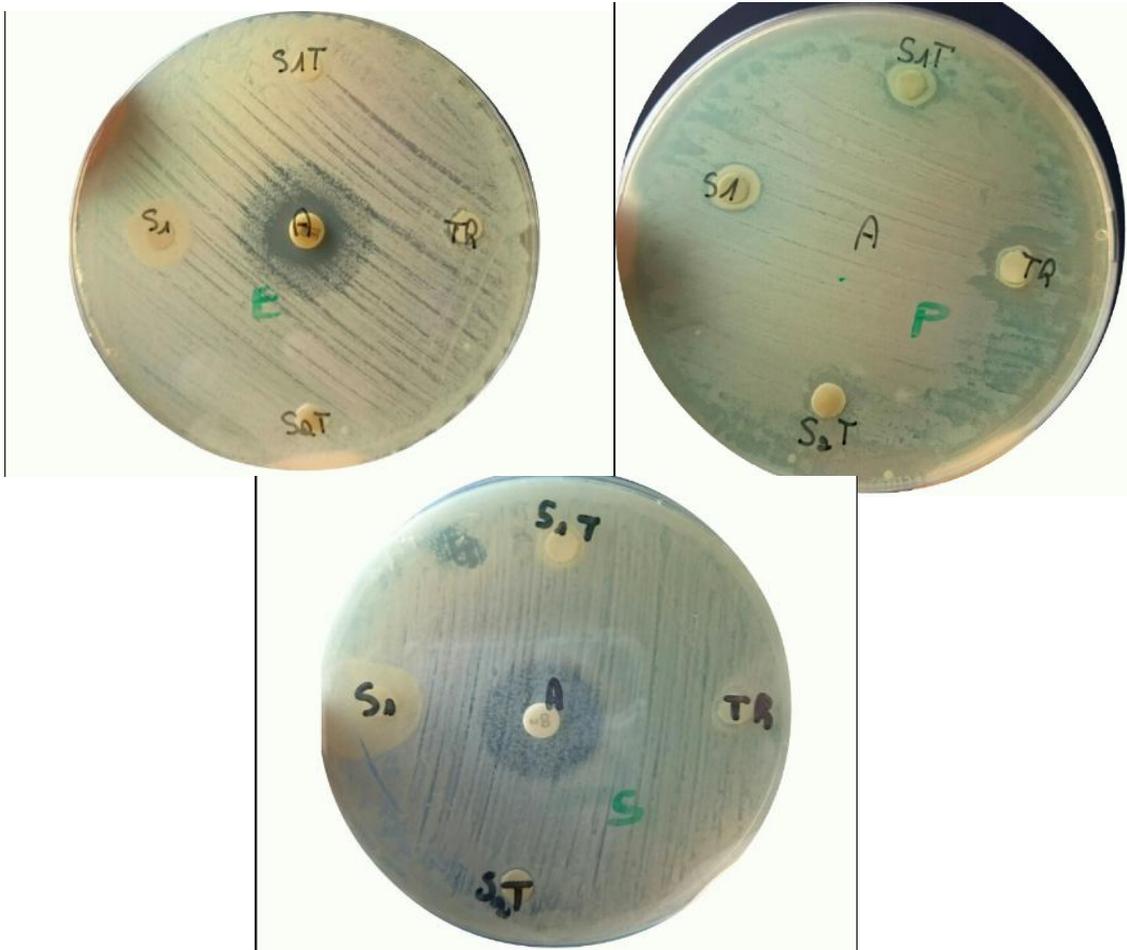


Figure18. Résultats de l'activité antibactérienne.