

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des sciences de l'ingénieur

Département de Chimie industrielle

MEMOIRE DE MAGISTER

en chimie industrielle

Spécialité : Génie des procédés

INFLUENCE DES INTERACTIONS ENTRE BIOPOLYMERES / PROTEINES EN PRESENCE DE SELS SUR LA FORMULATION ET LA STABILITE DES EMULSIONS

Par

Nadjia SABRI

Devant le jury :

H. Khalaf	Professeur, Université de Blida	Président
A. Aouabed	Maître de Conférences, Université de Blida	
Examineur		
A. Badis	Docteur, Université de Blida	
Examineur		
N. Ayachi	Chargé de Recherche, CRD Saidal	Examineur
A. Hadj Sadok	Chargé de cours, Université de Blida	Invité
N. Moulai-Mostefa	Professeur, C. U. Médéa	Rapporteur

Blida, Mars 2005

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord mes parents, pour m'avoir encouragé à tracer ce chemin, et pour toute leur aide et leurs conseils.

Je souhaite exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur N. MOULAI-MOSTEFA, Professeur au Centre Universitaire de Médéa, pour avoir dirigé cette thèse. Je le remercie pour m'avoir guidé et orienté dans la réalisation de ce travail, pour ses précieux conseils et pour m'avoir fait profiter de son expérience et pour sa compréhension et ses encouragements.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mon profond respect à Monsieur A. HADJ SADOK, Chargé de Cours à l'Université de Blida, Je voudrais le remercier pour la confiance qu'il m'a accordée. Sa rigueur, son dynamisme et son dévouement ont été de puissants facteurs de motivation et sa grande culture scientifique a permis une critique constructive pour l'analyse des résultats obtenus pendant ces deux années. Sa grande disponibilité, son aide permanente et son soutien m'ont permis de mener à bien cette recherche.

Je remercie vivement Monsieur H. KHALAF, Professeur à l'Université de Blida, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.

Je remercie également Messieurs A. AOUABED, Maître de Conférence à l'université de Blida, A. BADIS, Docteur Chargé de Cours à l'Université de Blida, et Madame N. AYACHI, Chargée de Recherche au CRD / SAIDAL, d'avoir accepté de juger ce travail.

J'exprime ma profonde gratitude au Docteur CHAKOU, Directeur du CRD / SAIDAL, Madame A. GUELLOUR, Directrice du Laboratoire Galénique du CRD / SAIDAL pour m'avoir accueilli au sein de leur centre, et pour m'avoir permis de réaliser

une partie de ce travail de recherche. Je remercie également l'équipe du laboratoire galénique pour leur aide précieuse.

J'exprime tous mes remerciements à l'équipe du laboratoire de rhéologie du Département de Chimie Industrielle de l'Université de Blida et, à tous les étudiants en Post-Graduation en Chimie Industrielle, et à tous mes amis.

Enfin un grand merci à ma famille pour leur soutien tout au long de ces trois années.

RESUME

Dans ce travail, on s'est intéressé aux interactions qui peuvent avoir lieu entre, d'une part les protéines et les polysaccharides et d'autre part, entre ces deux constituants et les électrolytes. Ainsi notre objectif est d'étudier l'influence de l'ajout de NaCl sur les interactions associatives et/ou ségrégatives dans le cas d'émulsions fines stabilisées par du caséinate de sodium, par analyse des propriétés rhéologiques, notamment les paramètres caractéristiques de CASSON, et du potentiel zêta pour rendre compte du caractère électrostatique de ces interactions. La méthodologie expérimentale choisie pour organiser et rationaliser les essais, s'appuie sur les techniques des plans d'expériences. La présence des sels peut affecter les propriétés rhéologique et physico-chimique ainsi que la stabilité de ces produits. En effet, les électrolytes peuvent modifier la conformation des protéines et des polysaccharides, par neutralisation de leur charge électriques, comme ils peuvent générer une coacervation complexe ou augmenter leur incompatibilité.

ABSTRACT

In this work, we were interested on the interactions which can take place between, the proteins and polysaccharides, in the presence of electrolytes. Thus our objective is to study the influence of the NaCl addition on the associative and/or segregative interactions in the case of fine emulsions stabilized by sodium caseinate, by analysis of the rheological properties and the zeta potential. Design of experiments method is used for better tests organisation. The presence of salts can affect the rheological and physico-chemical properties and the emulsion stability. Indeed, the electrolytes can modify the conformation of proteins and polysaccharides, by electric neutralization of their charge, as they can generate a complex coacervation or increase their incompatibility.

الملخص

في هذا العمل، اهتمنا بالتأثيرات الممكنة من جهة بين البروتين و متعدد السكر و من جهة اخرى بين هاذين المركبين و الملح. ايضا هد فنا هو دراسة تأثير ملح الطعام على التفاعل التجميى و التفريقى فى حالة مستحلبات دقيقة مستقرة بفضل كازيينات الصوديوم، بتحليل الخصائص الريولوجية و الخصائص الزتامتريية لمعرفة الخاصية الالكتروستاتية لهذه التفاعلات. منهجية العمل المختارة لتنظيم و ترشيد التجارب' تركز على تقنية تخطيط التجارب. وجود الملح يؤثر على الخصائص الريولوجية و الفيزيوكيميائية وايضا ياثـر علي استقرار هذه المركبات. بالطبع الالكتروليتات تستطيع تغيير شكل البروتين و متعدد السكر و ذلك بتعديل الشحنات و يستطيع زيادة عدم توافقهم.

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Types d'émulsions	12
Figure 1.2	Structure du caseinate	15
Figure 2.1	Comportement d'un mélange de protéine et de polysaccharide	29
Figure 3.1	Représentation schématique du potentiel zêta	43
Figure 4.1	La formule développée de la gomme xanthane	63
Figure 4.2.	Courbe de relaxation d'un essai type	64
Figure 4.3	Courbe d'écoulement d'un essai type	65
Figure 4.4	Courbe de viscoélasticité d'un essai type	66
Figure 4.5	Histogramme de R^2 des réponses retenues de la phase aqueuse	69
Figure 4.6	Courbes d'influence du CN-Na sur τ_0 , η_c , ζ en fonction de la concentration du xanthane, NaCl=1mM	71
Figure 4.7	Courbes d'influence du xanthane sur τ_0 , η_c , ζ en fonction de la concentration du NaCl, CN-Na=3.25%	73
Figure 4.8	Courbe d'influence du NaCl sur τ_0 , η_c , ζ en fonction de la concentration du CN-Na, xanthane=0.25%	74
Figure 4.9	Courbes d'écoulement des émulsions	78
Figure 4.10	Photo microscopique de l'essai n° 10	79
Figure 4.11	R^2 des trois réponses	82
Figure 4.12	Courbes d'influence du CN-Na sur τ_0	84
Figure 4.13	Courbes d'influence du CN-Na sur τ_0	85
Figure 4.14	Courbes d'influence du CN-Na sur I-C	86
Figure 4.15	Courbes d'influence du xanthane sur τ_0	88
Figure 4.16	Courbes d'influence du CN-Na sur K	89
Figure 4.17	Courbes d'influence du xanthane sur I-C	91
Figure 4.18	Courbe d'influence de NaCl sur τ_0	92
Figure 4.19	Courbe d'influence de NaCl sur I-C	93
Tableau 1.1	Principaux caractères des caséines	13

Tableau 1.2	Composition moyenne des caséinates	14
Tableau 4.1	La fiche technique du caseinate utilisée	62
Tableau 4.2	Matrice d'expérience assortie aux valeurs expérimentales des paramètres rhéologiques et électrocinétique.	68
Tableau 4.3	Matrice de corrélation	70
Tableau 4.4	Matrice d'expérience	77
Tableau 4.5	Valeurs expérimentales des réponses en fonction des essais	81

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
REMERCIEMENTS	3
TABLE DES MATIERES	5
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	6
INTRODUCTION	8
1. LES EMULSIONS DE CASEINATE	11
1.1. Introduction	11
1.2. les caseines	12
1.3. Les émulsions à base de caseinate de sodium	16
2. LES INTERACTIONS PROTEINES/POLYSACCHARIDES/ELECTROLYTES	26
2.1. Introduction	26
2.2. Interactions en solution aqueuse	26
2.3. Interactions biopolymères/électrolytes dans les émulsions	31
2.4. Effet des caséines inadsorbées sur les interactions des gouttelettes et la stabilité des émulsions	36
3. LES METHODES DE CARACTERISATION	39
3.1. Introduction	39
3.2. Zamètrie	40
3.3. Eléments de rhéologie	46
3.4. Analyse microscopique	59
3.5. Analyse optique	59
4. PARTIE EXPERIMENTALE	61
4.1. Introduction	61
4.2. Produits et méthodes	61
4.3. Planification des expériences	67
4.4. Effets des facteurs de formulation sur les propriétés rhéologiques et physico-chimiques de la phase aqueuse	70
4.5. Effets de la combinaison biopolymères/NaCl sur la formation et la stabilité d'une émulsion à base de caséinate de sodium	75
CONCLUSION	94

APPENDICE

A. Liste des symboles

96

REFERENCE

98

INTRODUCTION

Les émulsions sont des systèmes hétérogènes thermodynamiquement instables constitués d'un liquide dispersé sous forme de gouttelettes dans un autre liquide non miscible, d'où les caractères des émulsions évoluent plus ou moins rapidement au cours de leur conservation. La stabilité minimale peut être augmentée en présence des surfactifs, des agents viscosifiants et des composés solides finement divisés.

Les protéines et les polysaccharides sont des composants indispensables pour la formulation des émulsions alimentaires. Les protéines sont des matériaux tensioactifs naturels constituées de parties hydrophobes flexibles, stabilisent les gouttelettes d'huile contre la floculation et/ou la coalescence par la formation d'un enduit protecteur. Tandis que les polysaccharides composés filamenteux souvent nommés hydrocolloïdes ou gommes, augmentent la viscosité et forment des gels dans des systèmes aqueux.

Dans la phase aqueuse des émulsions, ces biopolymères créent une texture souhaitable, et stabilisent les gouttelettes contre une séparation gravitationnelle. Ils ne sont pas des vrais émulsifiants puisqu'ils ne s'adsorbent pas activement sur l'interface liquide. Par ailleurs, la plupart des produits alimentaires formulés à base de ces deux constituants nécessitent un enrichissement avec des sels minéraux, qui sont absolument indispensables à la vie au même titre que les lipides, les glucides, les protides et les vitamines. Toutefois, la présence de ces sels peut affecter les propriétés rhéologiques et physico-chimiques ainsi que la stabilité de ces produits. Les sels augmentent la concentration ionique dans la phase aqueuse, réduisent la répulsion électrostatique entre les gouttelettes et favorisent ainsi la séparation de phases. Généralement, les ions de l'électrolyte se lient à la surface des gouttelettes de l'émulsion, diminuant l'importance de leur potentiel électrocinétique et réduisant de ce fait la répulsion électrostatique entre les gouttelettes. Des études sur l'influence des électrolytes sur la stabilité des systèmes colloïdaux ont démontré que selon la valence, la solubilité et le type d'ion de sel, les forces de répulsion électrostatiques peuvent être réduites par la compression de la double couche électrique et de l'adsorption

spécifique des ions. En effet, les électrolytes peuvent modifier la conformation des protéines et des polysaccharides, par neutralisation de leur charge électrique. Ils peuvent également générer une coacervation complexe ou augmenter leur incompatibilité. Ces interactions électrostatiques et d'incompatibilité sont liées étroitement, entre autres, aux propriétés rhéologiques et électrocinétiques de la solution polymérique.

L'attraction et la répulsion sont les deux types principaux d'interaction qui se produisent entre les protéines et les polysaccharides et peuvent avoir comme conséquence la formation d'un complexe ou l'immiscibilité des deux biopolymères (incompatibilité thermodynamique). En général, il est connu que la complexation entre les protéines et les polysaccharides sur la surface des gouttelettes d'une émulsion peut améliorer la stabilité. Ceci est attribuable à la formation d'une couche stabilisante stérique plus épaisse et plus forte autour des gouttelettes. Par contre une interaction répulsive entre protéines et polysaccharides peut, quant à elle, soit stabiliser un colloïde en immobilisant les particules dispersées dans un réseau gélifié, fragile ou fort, soit avoir un effet déstabilisant en induisant une séparation de phase ou une floculation par déplétion.

On voit donc que la présence du sel dans des systèmes formulés avec des protéines n'a pour seul effet d'équilibrer la formulation, la stabilité du système peut être affectée. C'est pourquoi, dans cette étude, on s'est intéressé à l'influence du chlorure de sodium (NaCl) sur les interactions à l'échelle structurale qui peuvent exister dans une émulsion contenant des protéines et des polysaccharides. On a cherché tout d'abord à évaluer les effets de la concentration des constituants sur les propriétés rhéologiques et zétamétrique en adoptant une stratégie de planification expérimentale pour la conduite des expériences et pour la connaissance des effets propres des paramètres sur les réponses. Notre intérêt s'est porté sur le caséinate de sodium, protéine très utilisée pour ses propriétés émulsifiantes et sa structure macromoléculaire, le xanthane qui est un polysaccharide hydrocolloïde souvent employé comme agent stabilisant et viscosifiant et le chlorure de sodium (NaCl). L'objectif de cette étude est de comprendre les mécanismes responsables du comportement et de la stabilité des émulsions. Sachant que le comportement de l'émulsion dépend de celui de la phase aqueuse, on s'est donc intéressé en premier lieu à la caractérisation de la phase aqueuse de l'émulsion et on a procédé par la suite à la caractérisation de l'émulsion.

La présente étude est composée de deux parties, une partie théorique composée de trois chapitres :

- Dans le premier on donne un aperçu sur les émulsions de caséinate et les phénomènes d'instabilité.
- Le second est consacré à une étude sur les interactions pouvant avoir lieu entre les biopolymères et l'effet du sel sur ces interactions.
- Dans le troisième, un aperçu sur les méthodes de caractérisations rhéologique, zétamétrique et microscopique est donné.

La partie expérimentale est composée de deux parties:

- Une étude physico-chimique et rhéologique de la phase aqueuse.
- Une étude physico-chimique et rhéologique de l'émulsion.

On achèvera cette étude par une conclusion générale.

CHAPITRE 1

LES EMULSIONS DE CASEINATE

1.1. Introduction

Une émulsion est un système hétérogène et métastable comportant au moins un liquide non miscible intimement dispersé dans un autre sous forme de gouttelettes, dont le diamètre ($d < 0.1 \mu\text{m}$). De tels systèmes, possèdent une stabilité minimale qui peut être accrue par l'addition d'agents appropriés, tels que des surfactifs, et des polymères [1]. On utilise pour cela des produits tensioactifs naturels, tel que les protéines et les polymères non adsorbants comme les polysaccharides.

L'importance industrielle des émulsions et le champ extrêmement vaste de leurs applications ont fait de l'émulsification le sujet de beaucoup d'études. L'efficacité de l'émulsification dépend, entre autres facteurs du mode d'agitation et de son intensité, et de la manière suivant la quelle l'agent émulsifiant est introduit.

En pratique, dans la plupart des émulsions, l'une des phases liquides est aqueuse et la seconde n'a évidemment qu'une solubilité limitée dans l'eau. Suivant la nature de la phase dispersée (eau ou huile), on distingue deux formes : (Fig 1.1) : représente les deux types d'emulsion [1].

- a- Emulsion huileuse où la phase dispersée est l'eau.
- b- Emulsion aqueuse où la phase dispersée est l'huile.

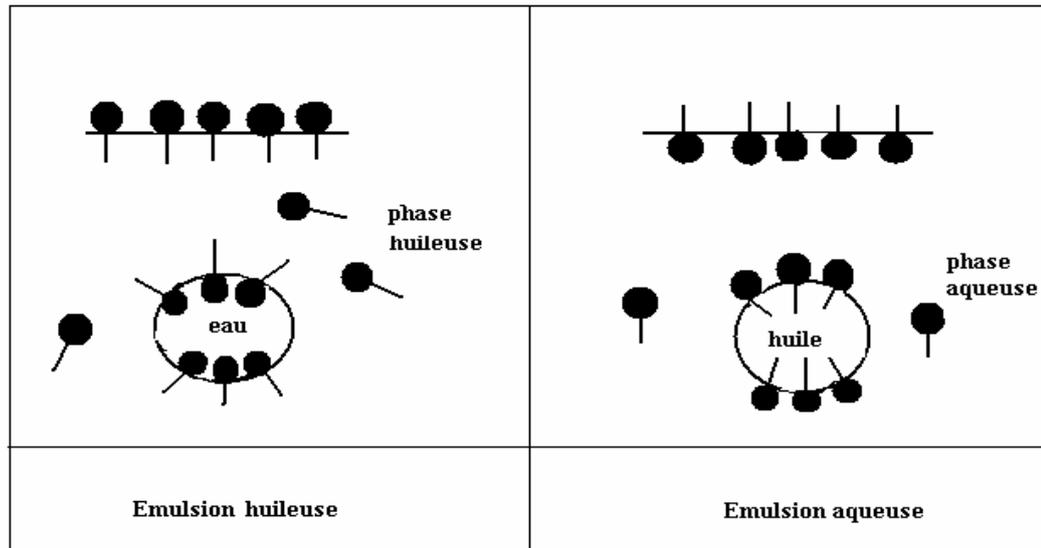


Figure 1.1. Types d'émulsions

Le lait, produit Important est un aliment presque complet contenant des sels minéraux essentiels et des vitamines indispensables pour un bon fonctionnement de l'organisme et il renferme de plus des lipides et des protéines. Les protéines se révèlent être des composantes importantes du lait, puisqu'un litre de lait contient de 30 à 32 grammes de protéines. Les protéines du lait de vache sont constituées de 80% de caséines et 20% sous forme de bêta lactoglobuline [2].

1.2. les caseines

Les caséines, sont des phosphoprotéines ou le groupement phosphate est attaché à la chaîne d'acides aminés. Ce groupement phosphate se lie principalement au groupement hydroxyle d'un acide aminé composant la caséine, soit la sérine ou la thréonine. Les caséines sont composées de trois protéines semblables, les caséines α , β et κ . Ces trois protéines, qui peuvent être fractionnées par électrophorèse, diffèrent principalement par leur masse molaire, allant jusqu'à 26000 g/mol, et leur nombre de groupement phosphate [3]. Elles sont liées ensemble et forment des complexes stables en présence d'ions de calcium (Ca^{2+}). On appelle ces complexes des micelles. Comme toutes les protéines, les caséines sont constituées d'une séquence d'acides aminés.

Les caséines ont des propriétés très spécifiques, ce qui a limité leur large utilisation dans de nombreuses industries. Le tableau 1.1 représente les principaux caractères des caséines.

Tableau 1.1 : Principaux caractères des caséines [4].

Propriétés	Caséine α_{s1}	Caséine β	Caséine χ
Poids moléculaire	24 000	24 000	19000-23 000
Point isoélectrique	4,1	4,5	3,7
Solubilité en présence de Ca^{++} 0,03 M			
à 4° C	-	+	+
à 25° C	-	-	+

(-) : non soluble

(+) : Soluble

L'insolubilité de la caseine interdit son utilisation dans de nombreux domaines où l'on a besoin d'un produit soluble, c'est pour permettre cette utilisation que la technique des caséinates a été mise au point : soit par la préparation des solutions alcalines « caseinates », soit par dispersion des protéines dans des solutions acides « sel de caseine ». Les protéines du lait dans leurs formes solubles et dispersées, ont d'excellentes propriétés émulsifiantes, pour cela elles sont largement répandues comme agents stabilisants des émulsions alimentaires [5].

1.2.1. Préparation des caséines acides et des caséinates

Le lait écrémé est acidifié à pH 4.6 sous l'action des acides (HCl ou H₂SO₄) ou des ferments lactiques. A ce pH, le complexe micellaire est détruit et les caséines s'agrègent et précipitent sous la forme d'un coagulum. Le coagulum est séparé du lactosérum acide (fraction du lait restant soluble) par centrifugation. Il est extensivement lavé à l'eau pour le débarrasser du lactose, des sels et de l'acide. La caséine acide obtenue contient environ 50 % d'eau. A ce stade-là, soit on passe au séchage et broyage, ce qui donnera une poudre de caséine acide, soit on solubilise la caséine dans l'eau par addition d'une solution alcaline de NaOH, KOH ou Ca(OH)₂ selon le type de caséinate que l'on désire obtenir. Certains producteurs préfèrent réaliser cette neutralisation par voie sèche. Dans ce cas, la caséine contenant 50 à 60 % d'eau est mélangée dans une extrudeuse ou dans un broyeur sécheur

avec l'alcali choisi [5]. Par la suite, le séchage de la dispersion de caséinate est réalisé par atomisation ou sur un sécheur à cylindres. Des procédés différents donnent lieu à des qualités de poudres différentes.

Mise à part la qualité microbiologique et la composition chimique des caséinates, des propriétés telles que la solubilité, la viscosité, la capacité émulsifiante et moussante détermineront le choix du caséinate à utiliser pour une certaine application.

1.2.2. Composition des caseinates

Le caséinate de sodium est un mélange contenant non seulement les monomères principaux de la caséines α_{s1} , β et χ , mais également des petites quantités de lipides et de sels minéraux (particulièrement les ions de calcium). Sa composition moyenne est représentée dans le tableau 1.2.

Tableau 1.2 : Composition moyenne des caséinates [5].

Constituants	Pourcentage
Teneur maximale en humidité	6
Protéine (base sèche)	93 (+/- 1%)
Cendre	4,5
pH	6,8-7,2
Graisse	1,5
Hydrates de carbone	1,5

C'est en fonction de leurs utilisations dans les industries que le fabricant a mis au point différents caséinates en utilisant différents sels. Ces caséinates sont le caséinate de sodium, de calcium, de potassium, de magnésium, d'ammonium et d'aluminium.

La figure 1.1 représente la structure du caseinate.

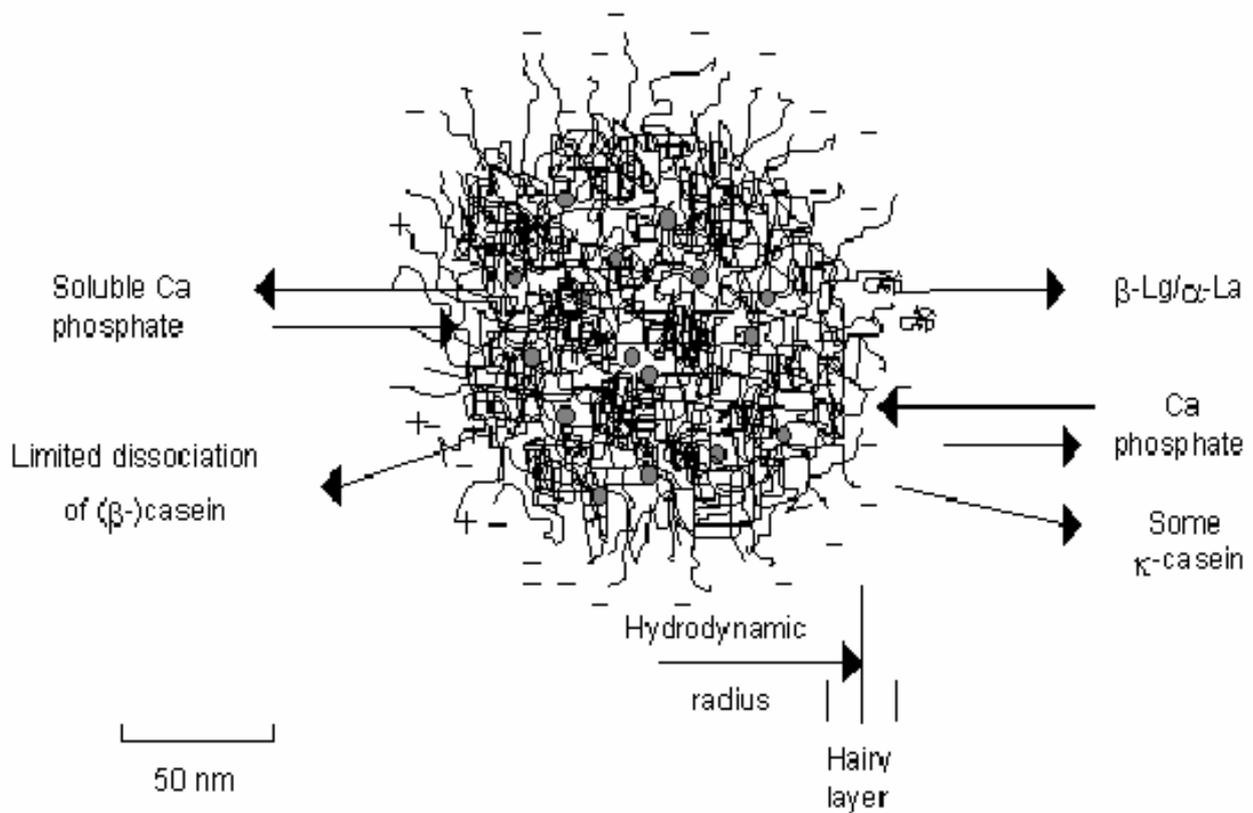


Figure 1.2. structure du caseinate [5]

1.2.3. Caractères des caséinates

La solubilité des caséinates augmente avec le pH et la teneur en calcium. Le caséinate à haute teneur en calcium est moins soluble que celui à basse teneur en calcium. Par ailleurs, une diminution du pH accentue la blancheur des solutions de caséinate, cette blancheur peut être augmentée par l'ajout de chlorure de calcium.

Il faut aussi noter que les caséinates préparés sans précautions particulières ont généralement un goût amer ou de colle qui freine leur utilisation dans l'alimentation.

La viscosité des solutions de caséinates est en fonction de leur concentration, elle croît avec la concentration des caseinates et avec l'abaissement de la température et pour des pH inférieurs à 6.

1.2.4. Applications des caséines et caséinates

Si par le passé la principale utilisation de la caséine était la fabrication d'un plastique appelé galalithe, actuellement elle est employée dans les colles, les peintures, l'industrie du papier et des ciments à cause de son pouvoir liant.

Dans l'industrie alimentaire, les caséines et les caséinates sont utilisés pour leurs qualités nutritionnelles et fonctionnelles. Ainsi, la caséine est un ingrédient important dans les fromages fondus et les préparations diététiques.

Les caséinates ont une teneur en protéines sur extrait sec élevée (90 à 95%) et de très bonnes propriétés fonctionnelles [6]. Ainsi, le caséinate de sodium est un bon émulsifiant et a une bonne capacité de rétention d'eau. Pour ces raisons, il est utilisé depuis fort longtemps en tant qu'émulsifiant dans l'industrie de la salaisonnerie. Les mêmes caractéristiques sont exploitées dans la préparation des plats cuisinés, des sauces et potages déshydratés, des crèmes glacées et fouettées. Les caséinates sont aussi utilisés, pour leur teneur élevée en protéines, dans la fabrication de biscuits protéinés, des imitations de fromage pour les pizzas et les plats cuisinés, en diététique, en nutrition clinique sous forme hydrolysée et dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique [7].

Les sels de caséinate sont par ailleurs utilisés dans d'autres domaines pour diverses applications :

- Préparation des céréales, des boissons et des formules de substitution pour nourrissons. Le caséinate est rajouté à ces produits pour améliorer les qualités nutritionnelles.
- Préparation de certains fromages pauvre en matières grasse pour leur donner une texture crémeuse.
- Préparation des émulsions stables à la stérilisation puisqu'ils ont un pouvoir émulsifiant.
- Fabrication des fibres protéiques artificielles à partir de la caséine en transformant la structure globulaire de cette protéine fibreuse. Ces fibres entrent dans la composition de tissus qui possèdent les mêmes propriétés que la laine.

1.3. Les émulsions à base de caseinate de sodium

1.3.1. Introduction

En fait la plupart des produits alimentaires et cosmétiques livrés sur le marché sont des émulsions. Dans les deux cas, elles sont stabilisées principalement par des produits tensioactifs naturels tels que les protéines, les lipides, une petite quantité d'agents tensioactifs non ioniques et une variété de combinaisons de tous ces agents. La complexité des protéines elles-mêmes et la composition de plusieurs composants des systèmes alimentaires exigent certainement de la recherche sur des systèmes modèles afin de comprendre les facteurs et les mécanismes principaux régissant les propriétés et la stabilité des émulsions.

1.3.2. Phénomène d'instabilité des émulsions

La stabilité d'une émulsion est l'une des propriétés fondamentales et la plus importante, et le système ne sera classé parmi les émulsions, que si sa stabilité atteint un certain minimum. On mesure la stabilité par la vitesse avec laquelle les gouttelettes de la phase dispersées se rassemblent pour former une masse de liquide de plus en plus grande qui se sépare par la gravité en formant une phase massique distincte. Des émulsions formées à partir de deux liquides purs forment rarement des émulsions stables. Pour une émulsion huile dans eau stabilisée par des protéines lactiques comme émulsifiant, la distribution initiale de la taille des gouttelettes est un facteur important influençant la durée de conservation de l'émulsion.

Pour les émulsions industrielles, on recherche ordinairement une bonne stabilité dans des conditions normales d'emmagasinage. Dans certaines applications, au contraire, on désire le plus souvent que l'émulsion se casse. Par exemple, on utilise fréquemment les émulsions pour introduire d'une façon commode une phase huileuse dans un système, c'est le cas des insecticides. Dans tous ces exemples, il faut que l'émulsion se casse et que la phase aqueuse soit éliminée par évaporation pour obtenir l'effet recherché. En général, on représente la stabilité par le temps de conservation sans rupture d'une émulsion aux conditions ordinaires d'emmagasinage.

On effectue ordinairement des essais accélérés de stabilité en augmentant l'effet gravitationnel, par exemple par centrifugation, et en déterminant la vitesse de séparation des deux phases. On peut aussi, dans certains cas établir une relation entre la stabilité et la

loi de séparation. La stabilité aux températures élevées, aux agents chimiques et la résistance aux actions mécaniques sont également importantes [8].

Les différents mécanismes d'instabilité sont le crémage, la coalescence, la floculation, la diffusion d'OSTWALD et l'inversion de phases.

a. Crémage

Le crémage est le mouvement des gouttelettes d'huile, sous l'effet de la gravité ou d'une force centrifuge, pour former une couche concentrée au dessus de l'émulsion sans changement de la distribution de la taille des gouttelettes [9]. La vitesse de crémage est donnée par la loi de STOCKES [1] :

$$V = \frac{r^2}{9} \frac{g^2}{\eta} (D_1 - D_2) \quad (1.1)$$

De l'étude de cette formule, on déduit qu'une émulsion est d'autant plus stable que :

- ✓ Le rayon r des globules est plus petit d'où l'intérêt de préparer des émulsions aussi fines que possible ;
- ✓ La différence de densité $(D_1 - D_2)$ entre les deux liquides est faible ;
- ✓ La viscosité η de la phase dispersante est élevée d'où l'intérêt d'ajouter à la phase dispersante des produits qui augmentent sa viscosité.

b. Coalescence

La coalescence est la fusion irréversible de deux ou plusieurs gouttelettes d'émulsion pour former une seule grosse gouttelette. En ce qui concerne la durée de vie d'une émulsion, la coalescence est une forme d'instabilité bien plus sévère que le crémage, quand elle est perçue par le consommateur elle est presque toujours considérée comme inacceptable.

Quand deux gouttelettes se rapprochent l'une de l'autre, leur coalescence dépend de la stabilité du mince film liquide de la phase continue qui les sépare. Le contrôle de la stabilité contre la coalescence est d'une grande importance pratique [1].

Deux méthodes ont été employées pour estimer l'intensité de la coalescence d'une émulsion. La première méthode était une mesure directe de la séparation d'une couche distincte d'huile en haut de l'émulsion fortement concentrée. Ces mesures ont été effectuées

avec les grands tubes à centrifuger. La fraction d'huile séparée après que l'ultracentrifugation a été faite, est calculée à partir du volume mesuré de la couche d'huile.

La méthode a été vérifiée contre une mesure précise de la fraction d'huile restante dans l'état émulsionné. La deuxième méthode était une observation qualitative du changement de la distribution de la taille des gouttelettes des émulsions. La coalescence a été indiquée par une augmentation de la distribution de la taille vers de plus grands rayons de gouttelettes ou par occurrence d'un second pic dans la distribution de la taille à de plus grands rayons de gouttelettes. Souvent de grandes gouttelettes ou une couche distincte d'huile flottent en haut de l'émulsion. Cette " huile libre " était due à la coalescence mais n'a pas été représentée dans la distribution de la taille des particules due aux grandes dimensions des volumes d'huile. Le volume de la couche d'huile séparée a été mesuré, et de là, la fraction d'huile séparée a été calculée.

c. Flocculation

La flocculation correspond à la formation au sein de l'émulsion d'agrégats constitués par l'association d'un nombre plus ou moins grand de particules de la phase dispersée. Les particules sont liées les unes aux autres par des forces d'attraction. Les émulsions huile dans eau stabilisées par les protéines sont particulièrement amenées à la flocculation par l'intermédiaire d'un certain nombre de mécanismes. On sait qu'en milieu aqueux, les caséines, molécules amphiphiles, s'assemblent en micelles, rassemblant leurs zones hydrophobes à l'intérieur. On sait également que ces micelles sont chargées négativement. L'existence de ces charges électriques expliquent, dans une large mesure, la stabilité de la solution. En effet, les micelles sont soumises à des répulsions électrostatiques dont l'intensité croît au fur et à mesure que les particules se rapprochent. Il suffit de neutraliser ces charges par des charges positives pour annuler les forces de répulsion et provoquer l'agglomération des micelles, qui remontent à la surface du lit. Celui-ci est dès lors séparé en deux phases, le caillé (partie solide) et le lactosérum (partie liquide). C'est le phénomène de flocculation.

Parmi les différentes sortes de flocculation, on cite la flocculation par déplétion qui est un mécanisme réversible de déstabilisation dû à la présence de composés non adsorbés tels que des polymères ou encore de petites particules. Dans le cas des émulsions stabilisées par des caséines, la flocculation par déplétion peut être induite par un excès de protéines présentes dans la phase continue sous forme de submicelles [10] et/ou par un excès de

tensioactifs hydrosolubles qui s'auto-associent en micelles [11]. Les émulsions floculées par déplétion présentent un comportement pseudo plastique.

L'intensité des interactions de déplétion est sensiblement influencée par la concentration en protéines non adsorbées et par l'addition d'électrolytes [12, 13]. Le deuxième type de floculation est la floculation par pontage avec un polymère non adsorbant.

La vitesse de floculation est régie par la loi de SMOLICKOVSKY [14].

$$\frac{1}{n} = at + \frac{1}{n_0} \quad (1.2)$$

Où n_0 est le nombre de particules au temps initial, n représente le nombre de particules isolées ou d'agrégats au temps t et a est un coefficient.

D'un point de vue qualitatif, différents types de structures d'émulsion peuvent se présenter, selon la fraction volumique et la force d'interaction entre les gouttelettes.

Dans les émulsions concentrées, les agrégats individuels perdent leur identité et peuvent de ce fait donner une émulsion floculée semi-continue qui occupe la totalité du récipient. Les états faiblement floculés et ressemblant à des gels sont généralement thixotropiques et rhéo-fluidifiants en raison de la destruction des floculats par application d'une force de cisaillement et de leur réapparition quand on cesse de l'appliquer.

d. Diffusion d'OSTWALD

La croissance de plus grosses gouttelettes aux dépens de plus petites par transport de masse de phase soluble dispersée à travers le milieu de dispersion est appelée diffusion d'OSTWALD. Il résulte de la diffusion d'OSTWALD un changement des propriétés physico-chimiques des émulsions (rhéologie et stabilité). L'effet de la diffusion d'OSTWALD est négligeable sauf si la phase dispersée est au moins légèrement soluble dans la phase continue.

e. Inversion de phases

L'inversion de phases est un phénomène par lequel des émulsions, contenant des fractions volumiques élevées de phase dispersée, peuvent s'inverser en passant par exemple d'une émulsion huile dans eau à eau dans huile.

Ce phénomène apparaît généralement après addition de certains agents, ou par modification de température, ce qui conduit à un changement de la valeur de la balance lipophile/hydrophile (HLB) du tensioactif ou du polymère stabilisant [15].

1.3.3. Stabilité des émulsions

La stabilité colloïdale des gouttelettes d'une émulsion de caséine est déterminée par le potentiel d'interaction entre les couches de caséine adsorbée. Si l'énergie libre d'interaction est répulsive l'émulsion sera stable, mais si l'énergie libre d'interaction est essentiellement attractive sur une certaine gamme de séparation, alors les gouttelettes tenderont à flocculer, avec des implications défavorables pour la coalescence et le crémage. En pratique, si la floculation se produit, elle dépend de l'équilibre global des forces électrostatiques, des forces stériques et, des forces de VAN DER WAALS.

Les contributions stériques et électrostatiques combinées à l'énergie libre d'interaction sont particulièrement sensibles à l'épaisseur et à la structure de la couche de protéine. La théorie de SCF (self-consistent-field) a été employée pour estimer l'énergie d'interaction entre une paire de surface en présence de α_{s1} ou β caséine adsorbés. L'énergie libre est calculée dans des conditions d'équilibre à l'intérieur permettant à toutes les espèces de se distribuer en dehors de l'espace. Pour tous les deux α_{s1} et β caséines à pH de 5,5 à 7 et à une force ionique de 1 à 100 mM, il y a une grande interaction positive pour des séparations étroites correspondant à la répulsion forte de surface-surface [16]. Cependant, la gamme répulsive est considérablement plus grande pour β que pour α_{s1} caséines à pH 6 et force ionique 10 mM. Une répulsion stérique plus forte pour les surfaces couvertes de β caseine est due à une plus grande épaisseur de la couche adsorbée.

La stabilité colloïdale d'une émulsion huile dans eau est rendue possible grâce à une couche d'émulsifiants hydrosolubles adsorbée à l'interface qui maintient les gouttelettes d'huile séparées les unes aux autres par stabilisation électrostatique et/ou par stabilisation stérique. Une émulsion parfaitement stable ne présente aucun changement perceptible (a) de la distribution de la taille des particules, (b) du degré de floculation des gouttelettes, (c) de la répartition verticale de la fraction volumique dans le récipient [17].

En partant de l'hypothèse que les gouttelettes dispersées sont suffisamment petites pour que le mouvement Brownien l'emporte sur le crémage, le facteur prépondérant dans la stabilité des émulsions est le degré de floculation des gouttelettes. Celui-ci dépend de la nature des interactions entre les gouttelettes qui est déterminé par les propriétés de l'interface (épaisseur, distribution de charges, répartition de l'émulsifiant) et par les propriétés de la phase continue (pH, force ionique, température).

La stabilité d'une émulsion est déterminée par le comportement des gouttelettes dispersées dans la phase continue, qui sont soumises à un mouvement brownien très important par rapport à leur vitesse.

De ce fait, les gouttelettes s'entrechoquent souvent. Si au cours de leur collision, les gouttelettes forment des gouttes plus grosses (phénomène de coalescence), il en résulte la séparation entre la phase aqueuse et la phase organique. Dans ce cas, l'émulsion est instable. Lorsque les gouttelettes coalescent sous l'effet du mouvement brownien, l'aire interfaciale entre les deux phases diminue et la tension interfaciale devient négative.

Dans ce cas, l'émulsion est instable thermodynamiquement. Ce système déséquilibré va donc se redisperser spontanément jusqu'à ce que la tension interfaciale redevienne nulle. L'émulsion retrouve sa stabilité du point de vue thermodynamique.

Ce phénomène de stabilité des émulsions à base de protéines de lait a fait l'objet de plusieurs travaux récents. Toutes les études indiquent la complexité des phénomènes de l'adsorption de protéine aux interfaces liquides et leurs conséquences sur la stabilité des émulsions. Les protéines sont souvent employées pour former et stabiliser des émulsions huile dans eau, et en conséquence un grand nombre de travaux expérimentaux ont été réalisés sur les émulsions et sur les propriétés interfaciales.

KOCZO et al. [18] ont rapporté un mécanisme de stabilité pour des émulsions alimentaires dues aux microcouches de submicelles de caséinate de sodium dans les films liquides minces entre de grosses particules. L'existence des couches de submicelles a empêché les grosses particules de s'approcher; de ce fait l'émulsion alimentaire se stabilise. Des variations de la structure des particules sous cisaillement ont été étudiées par ACKERSON et CLARCK [19].

Ils ont constaté le phénomène suivant : lorsque les dispersions de particules colloïdales sphériques chargées ont été soumises à une vitesse croissante de cisaillement, la structure des particules montre une transition réversible et elle devient une structure amorphe à une vitesse de cisaillement élevée.

Une étude récente [20] a été effectuée sur les changements de la taille des particules, de la surface couverte et de la composition sur la stabilité des émulsions formées avec l'huile de soja et le caséinate de sodium. Cette étude a montré que l'addition de NaCl (0-1000 mM) avant et après l'homogénéisation n'a eu aucun effet significatif sur la taille moyenne des gouttelettes de l'émulsion dans tous les systèmes d'émulsion étudiés. Dans les émulsions préparées avec 1 ou 3% (w/w) de caséinate, l'addition de NaCl jusqu'à 40mM a eu comme conséquence une augmentation de la concentration en protéine à la surface. Ceci semble être due en grande partie à l'adsorption augmentée de α_{s1} -caséine à la surface de la gouttelette, en particulier dans les émulsions formées avec 1% du caséinate. L'émulsion formée avec 3% du caséinate en absence de NaCl a montré une floculation étendue des gouttelettes de l'émulsion qui ont eu comme conséquence une très faible stabilité au crémage. L'addition de NaCl jusqu'à 200 mM a diminué l'intensité de la floculation et a amélioré la stabilité au crémage.

HUNT et DALGLEISH [20] ont étudié l'effet de KCl sur le comportement de l'adsorption des protéines de caséinate et de petit lait. Ils ont rapporté qu'en augmentant la concentration de KCl au delà de 25 mM, le diamètre des gouttelettes et la composition de la surface sont modifiés. Dans les émulsions contenant 20% d'huile de soja et 2% de caséinate, la proportion de α_{s1} -caséine adsorbée augmente aux dépens de la β -caséine quand la concentration de KCl est augmentée jusqu'à 200 mM. Ils ont employé une concentration simple en caséinate (2%) dans leur étude. SRINIVASAN et al. [21, 22] ont rapporté que la teneur totale en protéines affecte l'adsorption concurrentielle: la β -caséine a été préférentiellement adsorbée dans les émulsions préparées avec de faibles concentrations en caséinate de sodium (< 2%), mais la α_{s1} -caséine a été préférentiellement adsorbée dans les émulsions formées avec des quantités plus élevées de caséinate.

DICKINSON et GOLDING [23] ont constaté que les émulsions réalisées avec des concentrations en caséinate $\geq 2\%$ étaient nettement moins stables que des émulsions réalisées avec des concentrations inférieures en caséinate. Cette instabilité a été attribuée à

la floculation par déplétion, qui s'est produite en raison d'une augmentation de la protéine inadsorbée. Les effets de la force ionique sur la stabilité au crémage et la floculation par déplétion sont inconnus. Dans les émulsions préparées avec 1% de caséinate de sodium, l'addition de NaCl, avant l'émulsification, jusqu'à 40mM a causé une augmentation de l'estimation de stabilité, mais l'addition d'avantage de NaCl jusqu' à 500 mM n'a causé aucun effet sur la stabilité. Avec l'addition de 1000 mM NaCl, la stabilité a diminué légèrement. L'addition de NaCl aux émulsions après qu'elles aient été formées a eu comme conséquence des effets semblables sur la stabilité. Cette dernière a été nettement affectée par l'addition de NaCl dans le cas des émulsions réalisées avec 3% de caséinate de sodium. Les résultats actuels ont clairement prouvé que l'addition de NaCl au caséinate de sodium avant ou après l'émulsification affecte la surface couverte en protéines et sa composition.

Par ailleurs, le phénomène de l'incompatibilité thermodynamique dans des mélanges aqueux de polymère a été également étudié [24]. Fondamentalement, ce phénomène comporte la séparation ségrégative de deux polymères non-interactifs dus aux restrictions enthalpique et entropique et mène à la formation de deux phases aqueuses, chacune d'elles étant concentrée en un polymère.

SYRBE et al. [25] ont prouvé que certaines protéines de lait et plusieurs polysaccharides, tels que la maltodextrine, le dextrane, ou la méthylcellulose étaient thermodynamiquement incompatibles et conduisent à la séparation de phases sous certaines conditions de concentration en polymère, de température et de la force ionique.

Une émulsion contenant des protéines et des polysaccharides peut donc être soumise à plusieurs processus d'instabilité, y compris la floculation des gouttelettes d'huile et la séparation thermodynamique de phases.

1. 3. 4. Influence de la viscosité sur la stabilité de l'émulsion

La viscosité est une autre propriété importante des émulsions. Il peut arriver que la viscosité d'une émulsion ne soit pas supérieure à celle de la phase extérieure isolée, c'est le cas en général des émulsions diluées.

La viscosité augmente avec la concentration de la phase dispersée et peut atteindre des valeurs telles que le système se comporte pratiquement comme un solide. Pour des systèmes qui donnent, suivant la concentration, des émulsions H/E et E/H, la courbe de la

viscosité en fonction du rapport des volumes pourra présenter un maximum au voisinage du point d'inversion. Une viscosité élevée est généralement favorable à la stabilité d'une émulsion, puisqu'elle diminue la fréquence des collisions entre les globules dispersés et simultanément l'énergie des collisions.

La viscosité des émulsions est directement liée à la structure de celles-ci, c'est à dire au rapport volumique des phases dispersées et continues. Pour des émulsions diluées et des gouttelettes sphériques rigides, la viscosité est donnée par la relation d'EINSTEIN :

$$\eta = \eta_0 (1 + 2.5 \phi) \quad (1.3)$$

Où η_0 est la viscosité de la phase continue pure, η la viscosité de l'émulsion et, ϕ représente le volume de la phase dispersée/volume de la phase continue.

CHAPITRE 2

INTERACTIONS PROTEINES/POLYSACCHARIDES/ELECTROLYTES

2.1.Introduction

Comme dans la plupart des systèmes colloïdaux, les interactions entre de grosses particules à l'intérieur des émulsions alimentaires ont des effets très importants sur la stabilité et sur la texture des produits. Ils peuvent déterminer les propriétés rhéologiques et l'aspect du produit, aussi bien que son instabilité physique, reflétés dans les changements de l'uniformité ou la perte d'homogénéité. Beaucoup de facteurs, tels que la concentration en protéine, la gomme, la température, la vitesse de cisaillement, la concentration de l'huile et la polydispersion des particules, et les particules non-adsorbées, peuvent induire de grosses interactions entre les particules et affecter la stabilité des émulsions alimentaires.

2. 2. Interactions en solution aqueuse

2.2.1. Généralités sur les différents types d'interaction

Dans une solution aqueuse, les propriétés physico-chimique et rhéologiques dépendent fortement des interactions qui existent entre ces molécules. En général, on distingue plusieurs interactions intermoléculaires [9]. En solution aqueuse, plusieurs types d'interactions peuvent se manifester :

a- Interactions électrodynamiques

Elles décrivent les interactions d'attraction entre atomes, appelées aussi forces de LIFSHITZ-VAN DER WAALS. Ces forces comprennent les trois phénomènes liés, sur lesquels est basée la première théorie de stabilité des colloïdes hydrophobes. Cette théorie est celle de DERJAGUIN-LANDAU- VERWEY-OVERBEEK (DLVO). Parmi ces interactions, on cite :

- Interaction de VAN DER WAALS-KEESOM,
- Interaction de VAN DER WAALS-DEBYE,
- Interaction de VAN DER WAALS-LONDON.

b- Les interactions polaires (donneur d'électrons-accepteur d' électrons)

Elles sont appelées interactions acide-base de LEWIS. Parmi ces interactions, on distingue les interactions hydrophobes d'attraction .

c- Les interactions électrostatiques

Les particules colloïdales lipophiles possèdent habituellement une charge électrique négative située à leur surface. DERJAGUIN et al. [26] ont montré, selon leur théorie de la double couche (D.L.V.O), le mécanisme de stabilité des colloïdes. Pour deux particules colloïdales amenées à se rapprocher sous l'effet de l'agitation ou par effet thermique, il y aura une interaction au niveau de leur double couche . L'énergie totale d'interaction (V_T) entre les deux particules peut alors se décomposer en énergie de répulsion (V_R) due au potentiel électrique et une énergie d'attraction (V_A) due au force de cohésion de VAN DER WAALS qui sont fonction de la distance entre les deux particules.

Lorsque deux surfaces chargées se rapprochent au point que leurs doubles couches électriques commencent à se chevaucher, cela engendre une force répulsive qui tend à s'opposer à tout rapprochement supplémentaire. L'origine physique de la répulsion peut s'expliquer par un effet de la pression osmotique. La tendance des molécules de solvant à diffuser dans la zone de chevauchement se traduit par une interaction répulsive entre les surfaces [9].

d- Mouvement thermique brownien

Généralement dans les suspensions de macromolécules et de particules, le mouvement brownien a toujours lieu à des températures supérieures à 0 °K, où toutes les particules ou molécules grandes ou petites, sont dotées d'une énergie libre du mouvement brownien.

2.2.2. Interactions entre bio polymères en solution aqueuse

Lorsqu'une protéine et un polysaccharide anionique sont dans une même solution, trois types de comportement peuvent être observés (Figure 2.1). Premièrement, les deux polymères peuvent être en deux phases distinctes sans interagir, où chacune des phases est enrichie en l'un ou l'autre des polymères. Cet état, appelé incompatibilité thermodynamique ou séparation de phases ségrégative, existe lorsque les interactions entre polymères d'une même nature sont favorisées au détriment de celles entre polymères de natures différentes. L'incompatibilité dépend des charges relatives sur chaque polymère, du pH, de la flexibilité des chaînes du polysaccharide, du poids moléculaire des polymères, de la concentration en sels ainsi que de la concentration en solides totaux [27].

Le deuxième cas, rarement observé, se produit lorsque les macromolécules forment un mélange homogène spontané sans interagir. Cet état de co-solubilité est en constante compétition avec celui d'incompatibilité thermodynamique. Plus l'écart entre les poids moléculaires des macromolécules augmente, plus le déséquilibre entre les forces attractives et répulsives s'accroît, et plus il y a de risques de voir une incompatibilité entre les polymères. Seuls quelques exemples de co-solubilité ont été rapportés dans la littérature, dont le cas de l'albumine de sérum bovin (BSA) et de la pectine [28], ce système est stable de pH 3 à 8 et de 0,1 à 1,0 M de NaCl, et devient instable en présence de 6 M d'urée. Les deux polymères sont maintenus non seulement par des interactions électrostatiques, mais aussi par des liaisons hydrogène.

Troisièmement, il peut y avoir présence de deux phases où les polymères de charges opposées se retrouvent principalement dans la même phase. Cette compatibilité thermodynamique, ou séparation de phases associative, est caractérisée par la formation d'un complexe protéine/polysaccharide, aussi appelé coacervat, maintenu majoritairement par des interactions électrostatiques. Dans ce cas, les polysaccharides s'adsorbent sur les surfaces des protéines. Si la quantité de polymère n'est pas assez grande pour couvrir complètement la protéine, un polysaccharide peut s'adsorber sur plus d'une protéine extérieure, liant de ce fait deux particules ou plus de protéines. Un tel processus s'appelle également le coacervation complexe [29]. C'est un phénomène qui se produit souvent dans le mélange de biopolymères dans lesquels, ces derniers ont des charges opposées.

En résumé, les polysaccharides adsorbés sur les protéines induisent des attractions efficaces entre les protéines et les particules colloïdales. L'attraction entre les protéines induites par les polysaccharides non-adsorbés conduisent à une séparation de phases. Les interactions entre polysaccharides et protéines ont fait l'objet d'études visant à mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la formation de complexes et leurs applications possibles.

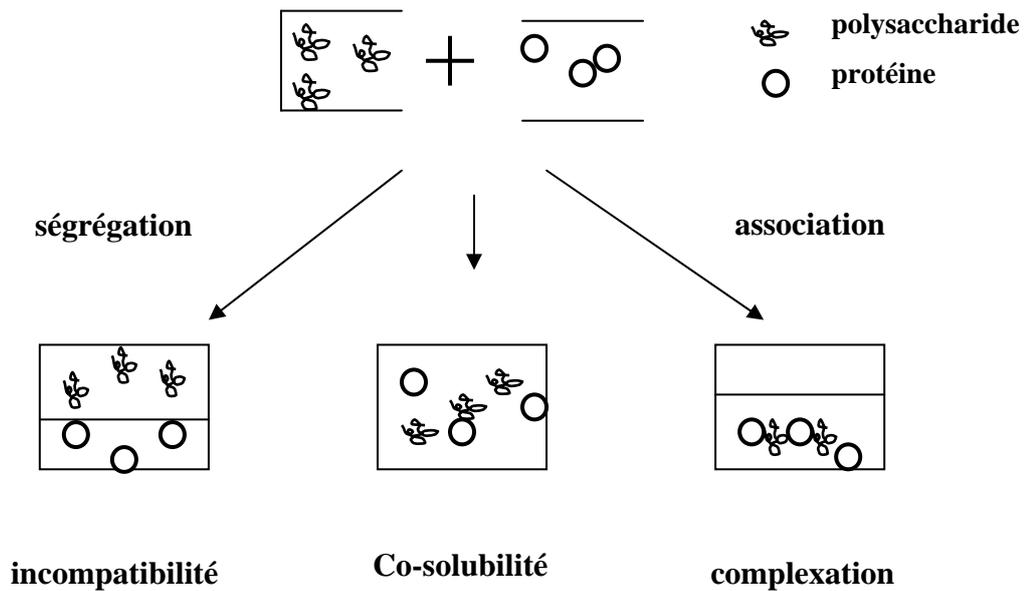


Figure 2.1 . Comportement d'un mélange de protéine et de polysaccharide

2.2.3. Interactions biopolymères/électrolytes en solution aqueuse

Beaucoup de produits à base de protéines et de polysaccharides (boissons pour athlètes, formule infantile...) nécessitent un enrichissement avec des sels minéraux. Il est donc important de comprendre comment l'addition de ces sels modifie les propriétés rhéologiques et physico-chimiques et affectent la stabilité de ces produits.

L'ajout de sels à une solution de lactoglobuline (β -lg) favorise les interactions non polaires en neutralisant les charges de la protéine. Le calcium induit des distorsions structurales locales dans la protéine native en formant des ponts intramoléculaires [30]. Ces ponts calciques augmentent l'hydrophobicité de la protéine et la réactivité des groupements sulfhydryles.

L'ajout de calcium dans une solution de β -lg partiellement dénaturée induit la formation d'un gel maintenu par des ponts calciques intermoléculaires. La valence des ions incorporés à la solution de β -lg joue un rôle important dans le mécanisme de gélification. Le chlorure de sodium modifie peu l'hydrophobicité de la β -lg et la réactivité des groupements sulfhydryles. La gélification d'une solution de β -lg en présence de chlorure de sodium est plus lente que celle observé avec le chlorure de calcium [31].

L'incompatibilité des protéines avec tous les types de polysaccharides devient plus prononcée avec l'augmentation de la concentration en sel. Les systèmes contenant les polysaccharides neutres et sulfatés ont un bas point critique. Ceci correspond à une concentration c^* en sel de $0,1 \text{ mol/dm}^3$ pour le neutre et de $0,3 \text{ mol/dm}^3$ pour les polysaccharides sulfatés [32]. Les polysaccharides sont complètement compatibles avec les protéines aux concentrations en sel au-dessous de c^* . Dans ces conditions, les polysaccharides neutres et sulfatés peuvent former des composés solubles avec les protéines [33]. La dissociation de ces composés avec l'augmentation de la force ionique a comme conséquence l'incompatibilité des biopolymères. On devrait également noter qu'il y a un autre argument à caractère plus général pour expliquer les effets ioniques sur l'incompatibilité des protéines avec des polysaccharides neutres à pH différents de pH_i .

Selon SCHMIDT [34], l'association des monomères de caséine a été favorisée en augmentant la concentration ionique et en diminuant le pH. Ceci est vraisemblablement dû à la réduction de la répulsions électrostatique.

L'agrégation et la dispersibilité sont souvent étudiés en littérature [35]. Par exemple la solubilité de la protéine de soja diminue avec l'augmentation de la force ionique jusqu'à $0,01 \text{ M}$ et augmente alors à une force ionique plus élevée. Discutant ce résultat sur la base de l'effet des ions sur les interactions hydrophobes, DAMODARAN et KINSELLA [36] ont conclu que la diminution de la répulsion électrostatique entre les protéines peut augmenter les interactions hydrophobes entre leurs surfaces non polaires et mener à la formation d'un aggregat insoluble. C'est sur la base de la connaissance de l'agrégation de monomères que les protéines agrègent dans une masse insoluble au point isoélectrique parce que la répulsion électrostatique entre les particules diminue pendant que la charge nette tend vers zéro.

Lorsque les particules deviennent plus étroites, les forces coulombiennes entre les charges positives et négatives des résidus de protéine, les attractions de VAN DER WAALS et la liaison d'hydrogène tiendraient alors la masse ensemble contre les forces de dispersion.

En général, dans les solutions concentrées d'électrolyte, les ions occupent une fraction significative de tout le volume de la solution. Les molécules de protéine sont si étroites ensemble que des ions sont exclus de la région entre les particules de protéines. Ceci cause un déséquilibre dans la pression osmotique locale exercée par les ions sur les protéines. En plus Les ions monovalents (Na^+ , Li^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) forment une matrice gélifiée lorsque les forces ioniques sont de l'ordre de 100 mM alors que pour les ions divalents (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+}) il suffit de faibles concentrations (10 -20 mM) [37].

2.3. Interactions biopolymères/électrolytes dans les émulsions

2.3.1. Interactions entre les gouttelettes d'une émulsion

L'énergie d'interaction est l'énergie libre nécessaire au rapprochement de deux gouttelettes éloignées d'une distance infinie jusqu'à une très faible distance. Les trois contributions les plus importantes à cette énergie sont les forces électrostatiques, les forces de VAN DER WAALS, les forces dites stériques des couches interagissantes de polymères et, dans certains systèmes, les forces d'hydratation, les forces hydrophobes et les forces de déplétion des polymères qui ne s'adsorbent pas .

Dans l'eau, des particules colloïdales ou des gouttelettes portent une charge électrique neutre. Il ya deux sources principales de charge de surface : l'ionisation des groupes acides et basiques et l'adsorption de petits ions aux dépens de la solution. Dans les émulsions stabilisées par des protéines, les principaux groupes ionisables présents à la surface sont les groupes carboxyliques (qui donnent $-\text{COO}^-$) et des groupes aminés (qui donnent NH_3^+). Le signe et la valeur de la densité moyenne de charge de surface dépendent du pH. L'adsorption préférentielle des anions confère une charge nette négative à la surface des gouttelettes stabilisées par des tensions actifs non ioniques [38]. Au sein des couches de protéines adsorbées, les groupes carboxyliques ont tendance à se trouver plus près de la surface hydrophobe de la particule que les groupes aminés.

Quand deux particules de même charge se rapprochent l'une de l'autre, cela provoque une augmentation de la concentration des petits ions de charge opposée (contre-ions) dans l'interstice, ce qui engendre une force répulsive entre ces particules. Cette force provient du chevauchement des doubles couches électriques entourant les deux particules.

La présence des molécules de polymères dans la solution ou à l'interface huile-eau modifie l'énergie d'interaction entre deux gouttelettes d'émulsion. La stabilisation par un polymère irréversiblement adsorbé (protéine) est appelée stabilisation stérique.

Ainsi, les trois conditions qui devraient être remplies pour obtenir une stabilisation stérique efficace sont les suivantes [9] :

- Il devrait y avoir une couverture complète de la surface par le polymère adsorbé. Sinon un pontage par les polymères peut se produire, donnant lieu à une attraction inter particulaire.
- Les polymères devraient être fortement liés à la surface mais certaines séquences de segments devraient dépasser dans la phase continue afin de constituer une barrière stérique d'épaisseur appréciable.
- Les segments de polymères éloignés de la surface devraient être dans un bon solvant, sinon l'attraction peut se produire.

2.3.2. Interactions entre polysaccharides et protéines adsorbées aux interfaces

Les polysaccharides sont rarement utilisés seuls comme agents émulsifiants ou moussants en raison de leur faible activité de surface ; cependant ils sont souvent utilisés pour stabiliser des émulsions ou des mousses [39]. Lorsque l'on considère la composition et la structure des films adsorbés dans les colloïdes alimentaires, on doit s'intéresser à la nature des interactions entre les polysaccharides et les protéines adsorbées, et aussi à l'influence de ces interactions sur la stabilité du colloïde. En général, on peut aussi supposer qu'une interaction attractive protéine-polysaccharide peut améliorer la stabilité en formant une couche de stabilisation stérique plus épaisse et plus résistante; ou alors, qu'elle peut déstabiliser une émulsion par formation de ponts de polysaccharides entre les gouttelettes recouvertes de protéines.

Une interaction répulsive entre protéines et polysaccharides peut, quant à elle, soit stabiliser un colloïde en immobilisant les particules dispersées dans un réseau gélifié, fragile ou fort, soit avoir un effet déstabilisant en induisant une séparation de phases ou une floculation par déplétion.

D'un point de vue technologique, on peut imaginer que l'association idéale de protéines et de polysaccharide serait celle qui, dans la formulation du colloïde alimentaire, se traduirait par des résultats optimums associant le rôle émulsifiant de la protéine et le rôle stabilisant du polysaccharide.

Les interactions les plus fortes entre protéines et polysaccharides se rencontrent lorsqu'un lien covalent existe entre ces molécules de façon à former une seule macromolécule amphiphile. Le maintien de la solubilité et de l'intégrité moléculaire dans une large plage de condition de solvant (pH, force ionique, température) est le principal avantage d'une liaison covalente par rapport à une interaction non-covalente (électrostatique par exemple) entre protéines polysaccharides.

L'association de protéines alimentaires et de polysaccharides de qualité alimentaire, dans les conditions optimales pour la stabilisation de colloïdes alimentaires, offre une opportunité pour éliminer les ingrédients «non naturels» de nombreux produits manufacturés. Les développements récents dans la compréhension des compétitions pour l'interface et des interactions dans les films de protéines adsorbés constituent une base solide pour des progrès ultérieurs dans ce domaine [40].

2.3.3. Interactions entre couches de caséines adsorbées aux interfaces

La stabilité d'une dispersion de gouttelettes d'huile recouvertes de caséines est déterminée par la nature des interactions entre particules. Ces interactions peuvent être attractives ou répulsives et se situent entre particules, au niveau des couches interfaciales. Ces résultats procurent un moyen pratique de prédire le comportement des émulsions formées à partir d'un mélange de caséines. A l'interface huile/eau, les protéines ne sont pas adsorbées en totalité : seule une partie de la molécule de caséine est en contact direct avec l'interface tandis que l'autre est déployée dans la phase aqueuse. La molécule de caséine α_{S1} , quant à elle, forme une boucle entre deux zones d'ancrage.

Dans la gamme de pH 5,5 – 7,0 et pour des forces ioniques ne dépassant pas 0,1 M, on peut s'attendre à une forte répulsion entre gouttelettes à faible distance interparticulaire (δ 5 nm) due à la prédominance de la caséine β . Sa conformation offrant un encombrement spatial plus important que celui de la caséine α_{S1} , les répulsions stériques sont par conséquent plus fortes.

Cette répulsion diminue d'intensité lorsqu'on abaisse le pH dans la région du point isoélectrique des caséines. A pH acide et forces ioniques élevées, l'énergie libre des interactions entre particules recouvertes de caséine α_{S1} devient négative pour des distances interparticulaires supérieures à 5 nm, alors que celle des interactions entre particules recouvertes de caséine β demeure positive quelle que soit la distance interparticulaire et indépendamment du pH et de la force ionique. Il en découle que la stabilité des dispersions de particules recouvertes de caséine β est supposée être insensible à l'addition d'électrolytes monovalents quelle que soit la concentration, tandis que les émulsions à base de caséine α_{S1} sont sensées flocculer à des forces ioniques supérieures à environ 0,1 M. Cette théorie est en accord avec les expériences de stabilité colloïdale effectuées sur des émulsions modèles faites à partir des caséines pures et de mélanges de caséines [41]. On ne trouve dans la littérature que quelques exemples de mesures directes des interactions entre surfaces recouvertes de caséines [42].

Parmi les techniques de mesure des interactions dynamiques interparticulaires, on peut citer une technique de collision de particules en flux laminaire [43]. L'appareil utilisé est constitué de deux plaques de verre parallèles entre lesquelles on fait passer un flux laminaire. Une particule est fixée sur celle du haut et une autre est mobile entre les deux plaques. Grâce à ce dispositif, on peut observer les interactions entre les particules en reproduisant des conditions de stabilité colloïdale ortho cinétique ou de cisaillement comme dans un rhéomètre en tenant compte du mouvement Brownien et des forces hydrodynamiques [44].

Les données obtenues à partir des expériences de collision entre gouttelettes d'huiles recouvertes de caséines ont été comparées aux résultats des études théoriques et empiriques

sur les potentiels d'interactions. A pH neutre, les résultats obtenus convergent vers une prédominance des potentiels répulsifs à large rayon d'action.

Pour obtenir une stabilisation stérique efficace, il est nécessaire que le solvant soit de bonne qualité afin de favoriser le déploiement des parties hydrophiles de la protéine dans la phase aqueuse. L'entropie de répulsion stérique induite par la couche de protéines adsorbées peut se transformer en énergie attractive si la qualité du solvant est diminuée. La floculation peut aussi être causée par un défaut en protéines.

Lors de l'homogénéisation, s'il n'y a pas assez de protéines pour recouvrir la totalité des interfaces huile/eau formées, les protéines se fixent sur plusieurs gouttelettes à la fois et entraînent un phénomène de floculation dite « par pontage » [45]. La floculation des systèmes à base de caséines est très souvent obtenue par abaissement du pH ou par addition d'ions de calcium. Puisque la fixation des ions de calcium sur les groupements phosphosérine des caséines influence fortement les interactions intramoléculaires des caséines ainsi que leur auto-association. Il n'est pas surprenant de constater que l'ajout d'ions de calcium provoque aisément la floculation des émulsions à base de caséines [46].

A pH 5,5 et en présence d'électrolytes, les gouttelettes recouvertes de caséine β ne s'interagissent pas à faible force ionique (0,05 M NaCl). En revanche, à des forces ioniques supérieures, les gouttelettes recouvertes de caséine α_{S1} restent agrégées après collision, pour une concentration en NaCl de 0,2 M [47].

2.3.4. Effet du sel sur les interactions entre biopolymères

Les interactions stériques sont l'un des mécanismes stabilisants les plus importants dans les émulsions alimentaires. Cependant, certaines émulsions sont stabilisées par des combinaisons stériques et électrostatiques et de leurs interactions. La présence de NaCl dans la phase aqueuse des émulsions stabilisées par des émulsifiants (protéines) peut influencer les interactions entre les gouttelettes par les mécanismes suivants :

✓ En présence de l'électrolyte, l'épaisseur de la double couche électrique qui entoure les gouttelettes d'huile est réduite. Dans ce cas, la répulsion électrostatique entre les gouttelettes diminue jusqu'au point où elle ne pourrait plus empêcher ni la floculation ni le crémage. En d'autres termes, la neutralisation de la charge extérieure se produit à des

distances plus courtes quand la concentration de la charge opposée dans la solution augmente, permettant de ce fait l'aggrégation des gouttelettes.

✓ Le potentiel zêta diminue en présence de NaCl, ce qui peut être expliqué par le mécanisme d'interaction électrostatique.

✓ Les sels changent l'organisation structurale de l'eau en influençant la force des associations hydrophobes modifiant par conséquent la manière dont les agents tensioactifs s'adsorbent sur une interface mélangée [48].

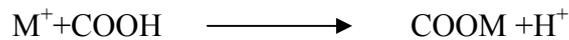
✓ DEMETRIADES et MC CLEMENT [49] ont montré que le NaCl réduit la viscosité de la phase aqueuse et accélère la vitesse de crémage à des fortes concentrations. Ils ont montré aussi que les émulsions à base de protéines sont plus sensibles au sel que celles à base d'un tensioactif synthétique (tween 20) parce que les forces ioniques déstabilisent les émulsions à base de protéines.

✓ KULMYRZAEV et SCHUBERT [50] ont étudié l'influence du KCl sur les propriétés physico-chimiques d'une émulsion stabilisée avec du petit lait. Cette étude a prouvé que les ions K^+ et de Cl^- sont les ions indifférents dans les émulsions, parce que l'augmentation de la force ionique n'a pas changé le point isoélectrique de la protéine. La réduction du potentiel zêta avec l'augmentation de la force ionique est provoquée seulement par la réduction de la double couche électrique. On lui a également montré que l'aggrégation des gouttelettes des émulsions stabilisées par les protéines de petit lait dépend fortement du pH et de la concentration en chlorure de potassium; l'émulsion était fortement instable à l'aggrégation près du point isoélectrique en raison de la charge extérieure relativement basse des gouttelettes. Ces résultats sont très importants pour la production des émulsions de nourriture enrichies par le potassium, qui peuvent être également employées pour empêcher l'insuffisance de potassium dans le corps humain. Pour produire une émulsion qui est stable à l'aggrégation, il est important d'ajuster le pH à 4 ou à 6. A ces conditions, les émulsions restent stables à l'aggrégation quand la concentration en KCl est aux environs de 100 mM [51].

✓ Le sel a également un effet sur le pH. Ce dernier diminue lorsque la concentration du sel augmente [52]. Ceci est dû à plusieurs facteurs:

- Le sel modifie la constante d'équilibre de l'eau.

- Les charges positives des ions du sel peuvent déplacer les ions des groupements acides des protéines.



✓ Le potentiel d'interaction entre les couches de β -caseine est prédit comme fortement répulsif à toutes les forces ioniques, ce qui conduit à une bonne stabilité stérique et électrostatique des gouttelettes de l'émulsion couvertes par la β -caseine. En revanche, le potentiel d'interaction entre les couches de α_s -caseine est prévu d'être attractif aux séparations intermédiaires au dessus d'une certaine concentration ionique, qui est conformée à une stabilité plus faible des gouttelettes couvertes de α_s -caseine vis à vis de la floculation par de simple électrolytes [NaCl ou KCl].

2.4. Effet des caséines inadsorbées sur les interactions des gouttelettes et la stabilité des émulsions

A chaque fois qu'un système colloïdal contient des espèces inadsorbées de taille très petite, il ya possibilité d'existence d'une interaction attractive de déplétion entre les paires de particules dispersées. C'est parce que lors des séparations interparticules étroites, les espèces inadsorbées sont entropiquement exclues de l'espace intervenant. Le gradient de pression osmotique local résultant produit une attraction efficace interparticule appelée force de déplétion [53].

Les gouttelettes des émulsions couvertes de caseine présentent une floculation par déplétion en présence de polysaccharides non-adsorbants. La floculation par déplétion peut-elle également se produire par des protéines inadsorbées restant dans la phase aqueuse après la préparation de l'émulsion ? Selon la théorie courante, les différentes molécules de caseine sont trop petites pour induire une attraction par déplétion entre les gouttelettes [54]. Mais si les caséines inadsorbées étaient assemblées en de petits agrégats, alors une attraction suffisamment forte par déplétion pourrait être envisagée [23].

Une fois reconstitué dans l'eau, le caséinate de sodium existe en tant que petites particules de protéines assemblées sur elles même appelées les sub-micelles (diamètre 10-20 nm) en équilibre avec les molécules libres de caseine. Ces sub-micelles approximativement sphériques produisent des structures posées en films aqueux minces, et elles offrent des possibilités intéressantes pour produire une force appréciable de déplétion.

CHAPITRE 3

LES METHODES DE CARACTERISATION

3.1. Introduction

Les milieux dispersés se caractérisent par une plus ou moins grande stabilité dans le temps qu'il est important d'analyser afin d'améliorer éventuellement les formulations mais aussi déterminer les dates de péremption ou les conditions de stockage. Les techniques existantes pour mesurer la stabilité des solutions dispersées sont variées parmi lesquelles, on cite la rhéologie, la zétamétrie, la granulométrie et la microscopie.

Caractériser la stabilité des systèmes concentrés est l'un des défis majeurs pour la science des colloïdes. La combinaison des méthodes physico-chimique, rhéologique et microscopique a permis de déterminer l'influence des interactions sur la composition de la surface, sur la structure et sur la viscoélasticité des couches adsorbées. Un changement dans la composition chimique du système peut conduire à une agglomération qui est souvent critique dans bien des projets industriels ou scientifiques. On l'associe souvent avec une chute du potentiel zêta des particules. En effet la répulsion électrostatique est un des phénomènes qui empêche l'agrégation. C'est pourquoi il est si important de suivre l'évolution du potentiel zêta. La valeur du potentiel zêta mesurée indique la force de répulsion présente et permet de prédire la stabilité à long terme du produit. Si toutes les particules en suspension ont un potentiel zêta négatif ou positif important, elles tendent à se repousser mutuellement et ne peuvent se rassembler. En revanche, si leur potentiel zêta est faible, aucune force ne les empêche de se rassembler et de flocculer. L'effet du pH, la concentration en additif ou la force ionique du milieu liquide sur le potentiel zêta peut apporter des informations sur la formulation du produit permettant d'atteindre une stabilité maximale. Cette mesure a de très nombreuses applications notamment en médecine, biologie, pharmacie et en formulation et contrôle de la stabilité des dispersions.

La rhéologie est aussi l'une des méthodes essentielles pour étudier la stabilité des systèmes dispersés et les procédés de préparation de produits nécessitant inmanquablement l'écoulement de la matière. Dans ce cas, il est donc nécessaire de connaître le comportement de cette matière pour déterminer les forces à mettre en jeu et, fournir des modèles mathématiques.

Par ailleurs, de très nombreuses méthodes d'étude des émulsions font appel à des examens au microscope. L'étude au microscope permet de déterminer non seulement la grosseur des particules de l'émulsion mais l'homogénéité des gouttelettes. Une bonne émulsion stable doit donner au microscope une multitude de gouttelettes très fines, de diamètre homogène et animées d'un mouvement brownien intense, cette méthode permet aussi de reconnaître la présence d'une émulsion multiple.

Les Critères de validité d'une méthode de mesure sont :

- **Reproductibilité suffisante** : la reproductibilité désigne la variation des chiffres obtenus lors de la mesure de la même grandeur au cours de plusieurs essais.
- **Justesse suffisante** : la justesse d'une méthode désigne l'écart entre la valeur mesurée et la valeur réelle .
- **Une limite de détection suffisante** : par limite de détection, on désigne la plus faible variation détectable d'un paramètre déterminé.
- **Une spécificité suffisante** : par spécificité, on entend que la méthode utilisée explore un paramètre bien défini et n'est pas perturbée par la variation éventuelle d'un autre paramètre méconnu.

3. 2. Zétamétrie

3. 2. 1. Généralités

La stabilité des émulsions et des dispersions, la nature des interactions entre les particules et les électrolytes, les caractéristiques rhéologiques des préparations peuvent être estimées par la détermination du potentiel zêta. Une dispersion présentant un potentiel zêta inférieur à 10 mV en valeur absolue est souvent instable alors qu'une valeur supérieure à 30 mV lui confère une bonne stabilité [55].

En règle générale, il a été observé que plus la valeur absolue du potentiel zêta est élevée, plus on se rapproche des conditions de stabilité des dispersions et inversement, plus elle est faible donc proche de zéro, plus on tend vers l'agrégation des particules qui a lieu lorsque les forces d'attractions interparticulaires de VAN DER WAALS deviennent prépondérantes par rapport aux forces de répulsion électrostatiques [56].

Le potentiel zêta mesure l'importance de la répulsion ou de l'attraction entre les particules. Il donne une description détaillée du mécanisme de la dispersion et constitue un élément essentiel dans le contrôle de la dispersion électrostatique. La mesure du potentiel zêta est un paramètre extrêmement important dans un grand nombre de secteurs, notamment, les céramiques, la pharmacie, la médecine, le traitement des minéraux et le traitement des eaux ainsi que les boissons en général [26].

Les systèmes Zêtasizer de Malvern Instruments permettent une mesure scientifique et objective qui fait correspondre l'expérience pratique avec les nouvelles performances escomptées. En mesurant les paramètres fondamentaux connus pour affecter la stabilité, tels que le potentiel zêta, la taille des particules, le pH et la conductivité, les chercheurs peuvent identifier, mesurer et faire varier ces paramètres.

Dans la formulation de nouvelles suspensions ou émulsions, l'une des tâches les plus longues consiste à mesurer la stabilité des formulations dans des conditions variées. Le potentiel zêta peut être utilisé pour tester les formulations potentielles et rejeter les mauvaises au début du processus, ce qui réduit le coût de l'étude de stabilité. Il permet également une meilleure compréhension des mécanismes de stabilité et contribue ainsi à l'amélioration de la qualité des produits [57].

3. 2. 2. Potentiel zêta

Une charge de surface se forme quand un solide et un liquide sont en contact. Cette charge de surface peut être produite par des mécanismes de dissociation de groupes ioniques en surface du solide, par l'adsorption de groupements et/ou d'ions chargés de la solution ou par dissolution inégale des ions du réseau cristallin. Cette charge de surface est balancée électriquement par des ions de la solution, de charge opposée, entourant les particules solides.

Les charges de surface et les ions entourant les particules appelées ions complémentaires (Counter ions) forment la double couche électrique (Electric double layer).

Dans les phénomènes électrocinétiques, la force mise en jeu n'est pas la charge à la surface du solide, mais la charge nette de l'interface entre le liquide hydrodynamiquement lié à la surface des particules et le fluide. Le potentiel électrique (en volt) à cette interface est appelé le potentiel Zêta. L'application d'un champ électrique alternatif à un colloïde produit un déplacement des particules dans ce champ en fonction du potentiel Zêta. S'il existe une différence de densité entre les particules et le liquide, ce mouvement oscillatoire des particules produit une impulsion dans le liquide.

3.2.3. Distribution ionique autour d'une particule colloïdale

La distribution ionique des charges autour d'une particule est décrite dans la figure 3.1. En partant du centre de la particule chargée, on rencontre une première couche appelée couche stationnaire ou d'HELMOLTZ constituée d'ions de signes opposés à ceux de la particule chargée et une deuxième couche appelée couche diffuse ou de GOUY et CHAPMEN constituée d'ions et de molécules d'eau si l'eau est le solvant. L'ensemble des deux couches constitue la double couche électrique de STERN. Le rayon de l'enveloppe externe de la couche stationnaire s'appelle rayon de cisaillement, c'est une donnée importante pour déterminer la mobilité de la particule. La différence de potentiel entre l'enveloppe externe de la couche stationnaire et l'enveloppe externe de la couche diffuse porte le nom du potentiel zêta ζ ou potentiel électrocinétique. ζ S'exprime en volt [58].

Quelle que soit la nature des interfaces (liquide/gaz, liquide/liquide, liquide/solide) son électrisation est systématique, ce qui génère un potentiel électrique dans son proche voisinage. Ce potentiel électrique, appelé potentiel zêta, est accessible expérimentalement par diverses techniques. Sa connaissance est utile pour améliorer la compréhension des mécanismes d'adsorption, de stabilité, de réactivité interfaciale; il intervient dans des domaines tels que la flottation, la floculation et la mouillabilité.

Le potentiel zêta d'une suspension ou d'une émulsion est l'un des principaux paramètres influant sur la stabilité de la suspension. La surveillance de ce paramètre peut réduire le temps de formulation des produits et, permet de découvrir les mécanismes

responsables de la stabilité de la dispersion et d'optimiser la floculation lorsque c'est nécessaire.

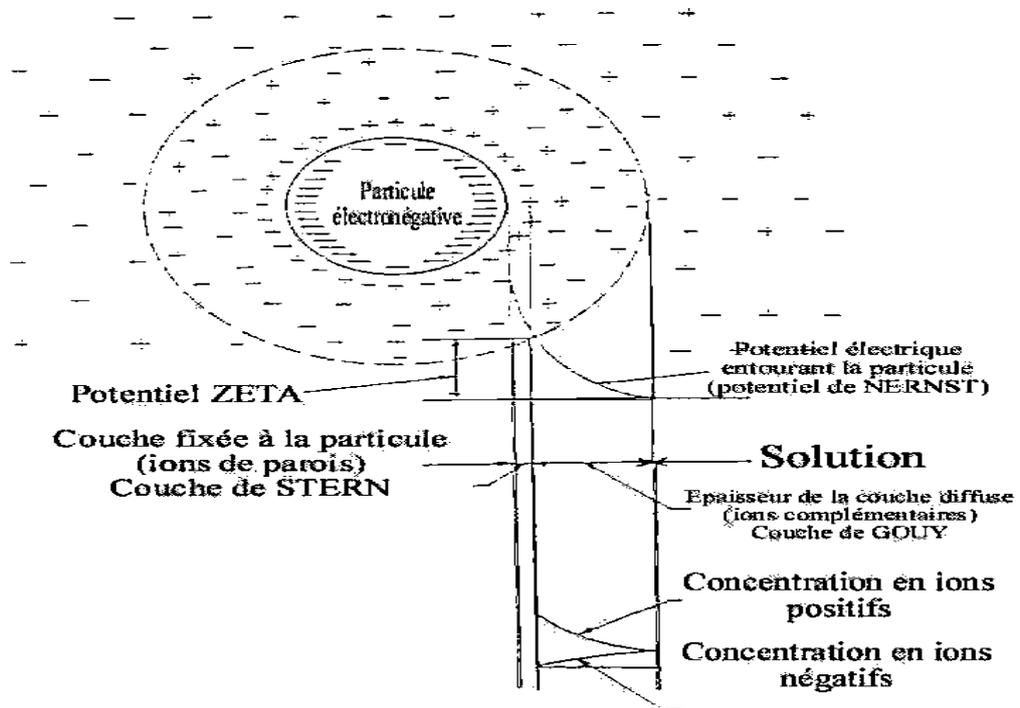


Figure 3.1. Distribution ionique des charges autour d'une particule [59]

Le potentiel zêta d'une particule, qui est la charge globale que la particule acquiert dans le milieu liquide dans lequel elle est plongée, peut être mesuré avec un Zêtasizer Nano Z . La valeur du potentiel zêta mesuré indique la force de répulsion présente et permet de prédire la stabilité à long terme du produit. Si toutes les particules en suspension ont un potentiel zêta négatif ou positif important, elles tendent à se repousser mutuellement et ne peuvent se rassembler. En revanche, si leur potentiel zêta est faible, aucune force ne les empêche de se rassembler et de floculer. L'effet du pH, la concentration en additif ou la force ionique du milieu liquide sur le potentiel zêta peut apporter des informations sur la formulation du produit permettant d'atteindre une stabilité maximale.

3. 2. 4. Méthodes de mesure

La mesure du potentiel zêta est essentiellement assurée par des procédés d'électrophorèse ou d'électro-osmose. Ces expériences consistent, dans le premier cas, à déterminer par observation microscopique directe la vitesse de déplacement d'une particule colloïdale dans un champ électrique: l'appareil s'appelle le zêta mètre. Dans le deuxième cas, on mesure la vitesse de déplacement d'un liquide soumis à un champ électrique dans

un tube capillaire, la migration du liquide étant visualisée en créant une bulle dans la colonne liquide. Toutefois quel que soit le principe de mesure, les appareils actuellement disponibles sont plus adaptés à l'étude des suspensions qu'à celles des émulsions. Les deux grands types d'appareils les plus utilisés sont ceux à analyse de transfert de masse électrophorétique et ceux à micro électrophorèse (observation microscopique du déplacement électrophorétique) en veine liquide [59].

3. 2. 5. Calcul du potentiel zêta

Les différentes évaluations du potentiel zêta à partir des vitesses de migration électrophorétique dérivent des conceptions fondamentales de la double couche électrique. Elles reposent sur des équations fondamentales [58] :

a. Conception d'HELMHOLTZ : Equation de VONSMOLUCHOWSKI

Selon l'hypothèse d'HELMHOLTZ [58], si les ions d'une charge donnée sont liés à la surface d'une particule dispersée, les ions de charge opposée ou contre-ions s'alignent parallèlement à ces derniers, formant ainsi une double couche de charges électriques. La relation employée en électrophorèse par VONSMOLUCHOWSKI sert à évaluer le potentiel en fonction de la vitesse de migration électrophorétique .

$$\xi = \frac{4.\pi.\eta.V_e}{\epsilon.E} \quad (3.1)$$

Où ξ est le potentiel zêta (mV), η est la viscosité de la solution, V_e est la vitesse de déplacement électrocinétique, ϵ est la constante diélectrique du milieu et, E représente le champ électrique.

L'équation de VONSMOLUCHOWSKI, élaborée à partir du modèle d'une double couche plane, ne tient compte ni de la forme ni de la taille des particules.

La théorie d'HELMHOLTZ implique une brutale chute de potentiel à l'interface liée à une très faible épaisseur de la double couche.

b. Conception de GOUY : Equation de HUCKEL

Lorsque la force ionique de la solution est très faible, l'épaisseur de la double couche devient importante et la conception d'une double couche diffuse proposée par GOUY

semble convenir. La densité des contre-ions décroît exponentiellement au fur et à mesure que la distance par rapport à la paroi chargée augmente. Ainsi, pour des particules sphériques uniquement et pour des très faibles valeurs de la double couche, l'équation de HUCKEL peut être utilisée [1].

$$\xi = \frac{6.\pi.\eta.V_c}{\varepsilon.E} \quad (3.2)$$

c. Conception d'HENRY : Equation de HENRY

Henry a montré que les équations de VONSMOLUCHOWSKI et HUCKEL sont les formes limites d'une équation plus complexe. En outre, cette équation relie deux conceptions de la double couche comme l'a proposé STERN. Ce modèle décrit une double couche mixte constituée d'une partie fixe et une partie diffuse. L'équation de HENRY peut s'expliquer de la manière suivante :

$$\xi = \frac{6.\pi.\eta}{\varepsilon.E} \frac{1}{1+Ff(K.a)} \quad (3.3)$$

Où F est le facteur d'effet retard électrophorétique et K.a représente l'épaisseur de la double couche.

3. 2. 6. Paramètres à prendre en compte dans la mesure du potentiel zêta

Un problème fondamental se pose lors de la mesure du potentiel zêta, à savoir l'obligation de diluer les émulsions. La mesure du potentiel zêta sur des systèmes riches en phase dispersée entraîne des problèmes au plan pratique et théorique.

Il est certain que le potentiel zêta mesuré sur des émulsions diluées est différent de celui existant effectivement dans une émulsion non diluée, la dilution modifiant un grand nombre de paramètres; pour limiter ces modifications, il est souhaitable de diluer les émulsions dans un milieu correspondant à la composition de leur phase dispersante. Lors de la mise au point de la mesure du potentiel zêta des émulsions, il est important de tenir compte des caractéristiques de la phase dispersée et dispersante [1] : nature de la phase dispersée, comportement chimique, taille des particules, distribution granulométrique des particules, nature de la phase dispersante, pH, viscosité et force ionique

3. 3. Eléments de rhéologie

3. 3. 1. Introduction

La rhéologie est une branche de la mécanique physique qui étudie l'écoulement de la matière condensée, et en particulier la viscosité et la rigidité. C'est une discipline qui traite de l'écoulement et les déformations de matériaux sous l'action de contraintes [60]. L'objectif est de donner un cadre théorique permettant de décrire les comportements mécaniques complexes des matériaux solides, en prenant en compte à la fois les échelles de taille des matériaux et de température, et l'influence du type de contrainte appliquée au matériau, notamment la vitesse de déformation.

3. 3. 2. Principales grandeurs utilisées en rhéologie

3. 3. 2. 1. Contrainte de cisaillement (Shear stress)

Soit une force F appliquée à une surface A , d'un écoulement. La contrainte tangentielle τ , qui est une grandeur dynamique, est alors définie comme étant le rapport de la force F à la surface A , et elle s'écrit :

$$\tau = \frac{F}{A} \quad (3.4)$$

τ s'exprime en Pascal ou en N/m^2 dans le système MKSA, ou en dyne/cm^2 dans le système CGS.

3. 3. 2. 2. Déformation et vitesse de déformation

Ce sont deux grandeurs cinématiques fondamentales, qui décrivent le mouvement du matériau dans l'espace, au cours du temps; indépendamment des contraintes qui lui ont donné naissance. Pour définir la déformation de cisaillement, il est souhaitable d'envisager le cas particulier d'un mouvement de cisaillement laminaire présentant une symétrie plane.

On définit la déformation de cisaillement dans le cas de symétrie plane, où deux couches fluides séparées par une distance dx et se déplaçant l'une par rapport à une autre avec une vitesse u , par la relation :

$$\gamma(x, t) = \frac{du(x, t)}{dx} \quad (3.5)$$

La vitesse de cisaillement est la variation de la déformation au cours du temps, et on peut la calculer comme suit:

$$\frac{d\gamma}{dt} = \dot{\gamma} = \frac{d}{dt} \frac{dx}{dz} = \frac{d}{dz} \frac{dx}{dt} = \frac{dv}{dz} \quad (3.6)$$

Sa dimension est l'inverse du temps (s^{-1}).

3.3.2.3. Viscosité

La viscosité caractérise l'aptitude d'un fluide à s'écouler, elle est manifestée par sa résistance à la déformation, ou bien au glissement relatif de ses couches, au cours de l'écoulement d'un fluide visqueux le long d'une paroi solide. Les coefficients de viscosité sont des grandeurs physiques qui jouent un rôle essentiel en rhéologie, on distingue :

a. Viscosité absolue η

Elle n'est fonction que de la température et de la pression extérieure, son unité est Pa.s dans le système MKSA et, elle est définie par la relation suivante:

$$\mu = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad (3.7)$$

b. Viscosité apparente

Par analogie avec les fluides Newtoniens, la viscosité apparente est introduite comme étant le rapport entre la contrainte de cisaillement et la vitesse de cisaillement correspondante. Elle dépend de la température et de la pression extérieure.

c. Viscosité cinématique

Elle s'exprime en m^2/s dans le système MKSA et, elle est définie par la relation suivante :

$$\nu = \frac{\mu}{\rho} \quad (3.8)$$

3. 3. 3. Equations rhéologiques d'état, Rhéogrammes

Tout système mécanique obéit à une équation fondamentale qui établit une relation entre les grandeurs cinématiques décrivant ce mouvement et les grandeurs dynamiques. Il existe en rhéologie une relation entre la déformation γ et la contrainte de cisaillement τ . Cette relation dépend des propriétés et de la nature du matériau, de la température et de la pression extérieure. Elle s'écrit donc :

$$\gamma = f(\tau, T, P) \quad (3.9)$$

Les courbes qui traduisent graphiquement l'équation rhéologique d'état sont appelées rhéogrammes. Le comportement d'un fluide peut être différent si on change les conditions de cisaillement. Ces dernières peuvent exprimer les relations entre :

- La contrainte de cisaillement τ et la déformation de cisaillement γ .
- La contrainte de cisaillement τ et la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$.
- La déformation de cisaillement γ et le temps (test de fluage).
- La contrainte de cisaillement τ et le temps (test de relaxation).

Toutes ces expressions sont données à T et P constantes.

3. 3. 4. Classification des fluides réels en fonction de leur comportement rhéologique

Les fluides réels sont caractérisés par deux principaux comportements rhéologiques : les fluides indépendants du temps, et les fluides dépendants du temps.

3. 3. 4. 1. Fluides indépendants du temps

Ce sont les fluides pour lesquels il existe une relation entre la contrainte de cisaillement τ et la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$. Leur comportement rhéologique est indépendant de la durée d'application de la contrainte [61]. Leur équation générale s'écrit :

$$\tau = f(\dot{\gamma}) \quad (3.10)$$

A . Fluides Newtoniens

Ces fluides sont caractérisés par une relation proportionnelle entre la contrainte de cisaillement τ et la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$. Cette relation s'écrit :

$$\tau = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (3.11)$$

où μ est la viscosité dynamique du fluide (Pa.s).

La viscosité dynamique est indépendante de la vitesse de cisaillement. Elle ne dépend que de la température, de la pression et de la nature du fluide [62].

B . Fluides non Newtoniens

Les fluides non Newtoniens sont caractérisés par une relation générale de type :

$$\tau = \mu_{app} \dot{\gamma} \quad (3.12)$$

Où μ_{app} est la viscosité apparente dépendante de la vitesse de cisaillement (Pa.s).

Les raisons du caractère non Newtonien d'un fluide sont liées à la taille des particules, leur concentration dans la phase continue, leur forme, leur nature et leur aptitude à la déformation ou bien la réactivité physico-chimique de la phase continue notamment dans le cas des suspensions colloïdales. On distingue deux catégories principales de fluides non Newtoniens au comportement indépendant du temps [63]:

➤ Les fluides à contrainte seuil

Les fluides plastiques de type BINGHAM.

Les fluides plastiques de type HERSCHEL-BULKLEY.

Les fluides de type CASSON et CASSON généralisé.

➤ Les fluides sans contrainte seuil de type OSTWALD DE WAELE

Les fluides pseudo plastiques ou rhéofluidifiants.

Les fluides dilatants ou rhéoépaississants.

a. les fluides à contrainte seuil

➤ Le modèle de BINGHAM : Il est défini par la loi :

$$\begin{cases} \tau = \tau_s + \eta_p \dot{\gamma} & \text{si } \tau > \tau_s \\ \dot{\gamma} = 0 & \text{si } \tau < \tau_s \end{cases} \quad (3.13)$$

Où τ_s : est la contrainte seuil (Pa) et η_p :, la viscosité plastique (Pa. s)

➤ Le modèle de CASSON : Il est caractérisé par l'équation suivante :

$$\begin{cases} \tau^{1/2} = \tau_s^{1/2} + \mu_p^{1/2} \dot{\gamma}^{1/2} & \text{si } \tau > \tau_s \\ \dot{\gamma} = 0 & \text{si } \tau < \tau_s \end{cases} \quad (3.14)$$

➤ Le modèle de CASSON généralisé

$$\begin{cases} \tau = \tau_s + k \dot{\gamma}^n + \mu_\infty \dot{\gamma} & \text{si } \tau > \tau_s \\ \dot{\gamma} = 0 & \text{si } \tau < \tau_s \end{cases} \quad (3.15)$$

Où n est l'indice de structure, K est l'indice de consistance, τ_s est la contrainte seuil et μ_∞ représente la viscosité à l'infini.

➤ Le modèle de HERSCHEL-BULKLEY

$$\begin{cases} \tau = \tau_s + k \dot{\gamma}^n & \text{si } \tau > \tau_0 \\ \dot{\gamma} = 0 & \text{si } \tau < \tau_0 \end{cases} \quad (3.16)$$

où n est l'indice de consistance et K représente la consistance.

b. Les fluides sans contrainte seuil

Les principales catégories de fluides sans contrainte seuil sont :

- Les fluides pseudo-plastiques,
- Les fluides dilatant.

b. 1. Les fluides pseudo plastiques (rhéofluidifiants)

Leur comportement rhéologique diffère essentiellement de celui des fluides plastiques par le fait que les fluides pseudo plastique ne présentent pas de contrainte seuil d'écoulement [64].

La viscosité apparente de tels fluides diminue progressivement lorsque la vitesse de cisaillement augmente. OSTWALD a proposé pour représenter les courbes d'écoulement de ces fluides, la relation dite la loi d'OSTWALD DE WAELE :

$$\tau = k\dot{\gamma}^n \quad (3.17)$$

où n est l'indice de consistance et K , la consistance.

b. 2. Les fluides dilatants (rhéoépaississants)

Ces fluides obéissent également à la loi d'OSTWALD mais avec $n > 1$, autrement dit, la viscosité apparente croît avec la vitesse de cisaillement.

Ce type de comportement a été initialement mis en évidence sur des suspensions de forte teneur en solide. Au repos, le volume libre entre les particules est minimal; il est occupé par le liquide suspendant qui enrobe chaque particule d'une fine pellicule qui joue le rôle de lubrifiant.

Au fur et à mesure que la vitesse de cisaillement augmente, le liquide est insuffisant pour combler tout le volume interstitiel. Les tensions de cisaillement provoquent peu à peu la rupture de ces films, et aux frottements solides-liquides initiaux, se substituent alors des frottements solide-solide qui entraînent une augmentation de la viscosité apparente de la suspension.

3.3.4.2. Fluides dépendants du temps

Le comportement rhéologique des fluides dépendants du temps a été expliqué par des modifications de leur structure interne. Ces modifications peuvent être très rapides, dans ce cas, le temps n'intervient pas de manière apparente dans les équations d'écoulement, la viscosité apparente est alors fixée uniquement pour une valeur donnée de la contrainte ou de la vitesse de cisaillement. Par contre, si les modifications de la structure interne du fluide sont lentes, les caractéristiques de l'écoulement du fluide seront influencées par les traitements antérieurs, et la viscosité apparente dépendra dans ce cas d'un autre paramètre qui est le temps. Alors, on distinguera trois catégories de fluide dépendant du temps :

- Les fluides thixotropes
- Les fluides rhéopexes,
- Les fluides viscoélastiques.

A. Fluides thixotropes

Tout corps dont la viscosité apparente a tendance à décroître dans le temps lorsqu'il est soumis à un cisaillement constant est dit thixotrope. Cette diminution de la viscosité est due à la destruction progressive de sa structure tridimensionnelle. La thixotropie est un processus réversible: après suppression du cisaillement et un temps de repos suffisant, la structure initiale se régénère graduellement. Exemples: suspension de bentonite, des émulsions eau dans huile et certains dérivés de la cellulose (Solution de méthyle cellulose).

B. Fluides rhéopexes

La rhéopexie ou l'antithixotropie est le phénomène inverse de la thixotropie pour une contrainte donnée (Ou cisaillement donné), la viscosité apparente augmente avec le temps.

C. Fluides viscoélastiques

Un fluide viscoélastique est un fluide qui possède à la fois des propriétés de viscosité et d'élasticité : leur comportement s'apparente à la fois au comportement du solide élastique parfait et du liquide visqueux newtonien. Tous les matériaux présentent à des degrés divers, des propriétés viscoélastiques.

3.3.5. Etude des propriétés viscoélastiques

3.3.5.1. Fonctions de fluage et de relaxation

Les fonctions de fluage et de relaxation sont les fonctions essentielles en viscoélasticité linéaire. La connaissance d'une seule d'entre elles permet d'accéder à toutes les propriétés viscoélastiques du matériau. La fonction de fluage $f(t)$, ou encore appelée fonction de complaisance élastique $J(t)$, est la déformation résultante de l'application d'une contrainte constante d'amplitude unité à l'instant $t = 0$.

La fonction de relaxation $g(t)$ est la contrainte résultante de l'application, à l'instant $t = 0$, d'une déformation constante d'amplitude unité.

3.3.5.2. Modèles viscoélastiques élémentaires

Le comportement d'un corps viscoélastique linéaire est intermédiaire entre le comportement d'un solide élastique parfait, est d'un liquide visqueux newtonien.

1. Solide élastique parfait

L'équation rhéologique du solide élastique parfait (Loi de HOOK) s'écrit :

$$\gamma(t) = J\tau(t) \quad (3.18)$$

Où, J est la complaisance élastique (Pa^{-1}). On utilise aussi le module élastique ou module de Coulomb $G = 1/J$. La fonction fluage de ce solide s'écrit :

$$\begin{cases} f(t) = J \\ t \geq 0 \end{cases} \quad (3.19)$$

Le solide élastique parfait est représenté en rhéologie par un ressort de coefficient de complaisance élastique J .

2. Liquide visqueux Newtonien

Son équation rhéologique a pour expression :

$$\frac{d\gamma(t)}{dt} = \frac{\tau(t)}{\mu} \quad (3.20)$$

Le liquide visqueux Newtonien se souvient de toutes les contraintes qui lui ont été appliquées dans le passé. Si la contrainte est annulée à un certain instant, la déformation demeure constante et égale à la valeur qu'elle possédait au même instant; la déformation est irréversible. Son comportement est bien un comportement d'un liquide, soumis à une contrainte constante τ_0 , la déformation croît linéairement avec le temps, le matériau s'écoule indéfiniment.

$$\gamma(t) = \tau_0 \frac{t}{\mu} \quad (3.21)$$

La fonction fluage est obtenue en remplaçant dans l'équation (3.21) τ_0 par l'unité :

$$f(t) = \frac{1}{\mu} \quad (3.22)$$

Le liquide visqueux Newtonien est symbolisé par un amortisseur de coefficient de viscosité μ .

3. Solide de KELVIN- VOIGT

Il est constitué par l'association en parallèle d'un ressort de complaisance élastique J , et d'un amortisseur de coefficient de viscosité μ . Dans une association en parallèle, la déformation subie par l'ensemble est égale à la déformation subie par chaque branche, et la contrainte imposée à l'ensemble est la somme des contraintes imposées à chaque branche. L'équation rhéologique du solide de KELVIN-VOIGT s'écrit alors :

$$\mu \frac{d\gamma}{dt} + \frac{1}{J} \gamma = \tau \quad (3.23)$$

La résolution de l'équation différentielle (3.23) fournit la fonction de fluage. Elle est représentée par une exponentielle croissante dont l'expression est donnée par :

$$f(t) = J(1 - \exp(-\frac{t}{\theta})) \quad (3.24)$$

Avec : $\theta = \mu J$

Le coefficient θ , qui possède les dimensions d'un temps, est appelé temps de retard. On comprend l'origine de cette dénomination en comparant les graphes des fonctions de

fluage d'un solide parfaitement élastique et d'un solide de KELVIN-VOIGT, de même les coefficients de complaisance élastique J .

4. Modèle de MAXWELL

Il est constitué par l'association en série d'un ressort de complaisance élastique J et d'un amortisseur de coefficient de viscosité μ . L'équation rhéologique du fluide de MAXWELL s'écrit:

$$\gamma(t) = J\tau(t) + \frac{1}{\mu} \int_0^t \tau(t) \partial t \quad (3.25)$$

La déformation qui conduit à la fonction de fluage est:

$$f(t) = J + \frac{1}{\mu} \quad (3.26)$$

En résumé, un liquide de MAXWELL est un liquide visqueux possédant une élasticité instantanée.

3.3.6. Etude des propriétés viscoélastiques en régime dynamique

Il existe, en viscoélasticité linéaire, un autre type d'expérience qui présente un intérêt fondamental et qui consiste à étudier le matériau de façon dynamique, en lui imposant une contrainte (déformation) qui varie sinusoïdalement au cours du temps avec la fréquence f . Le fluide ayant un comportement linéaire, la déformation (contrainte) varie aussi sinusoïdalement et à la même fréquence mais avec un déphasage δ . L'amplitude de la contrainte est proportionnelle à l'amplitude de la déformation. La contrainte peut alors être décomposée, en une composante en phase avec la déformation et une composante en quadrature de phase avec la déformation. La contrainte et la déformation sont représentées par les relations :

$$\tau = \tau_0 \sin(\omega t + \delta) \quad (3.27)$$

$$\gamma = \gamma_0 \sin \omega t \quad (3.28)$$

Où, τ_0 et γ_0 représentent l'amplitude maximale de la contrainte et de la déformation, δ représente le déphasage de la contrainte par rapport à la déformation.

On introduit les nombres complexes en faisant correspondre aux grandeurs réelles τ et γ les grandeurs complexes τ^* , γ^* :

$$\tau^* = \tau_0 \exp[i(\omega t + \delta)] \quad (3.29)$$

$$J^* = \frac{1}{G^*} = \frac{\gamma^*}{\tau^*} \quad (3.30)$$

Où, G^* est le module de rigidité complexe ou module élastique complexe, J^* représente la complaisance élastique complexe.

Ces grandeurs complexes (G^* et J^*) sont indépendantes du temps et leurs expressions dépendent évidemment des propriétés du matériau. La connaissance d'une seule de ces fonctions est suffisante pour caractériser complètement le matériau. τ^* peut s'écrire également de la manière suivante [65]:

$$\begin{aligned} \tau^* &= \tau_0 \sin(\omega t + \delta) = \tau_0 \sin \omega t \cos \delta + \tau_0 \cos \omega t \sin \delta \\ &= G'(\omega) \gamma_0 \sin \omega t + G''(\omega) \gamma_0 \sin(\omega t + \frac{\pi}{2}) \end{aligned} \quad (3.31)$$

Avec :

$$G'(\omega) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad (3.32)$$

$$G''(\omega) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad (3.33)$$

$G'(\omega)$ est la composante du module en phase avec la déformation, appelé module de conservation, car il caractérise l'énergie emmagasinée dans l'échantillon sous forme élastique. $G''(\omega)$ est la composante du module en quadrature de phase avec la

déformation, appelé module de perte, car il caractérise l'énergie dissipée dans l'échantillon sous forme visqueuse.

D'un point de vue physique, le concept de viscoélasticité linéaire sous-entend que l'état du système observé n'évolue pas au cours de la déformation ; on suppose, en particulier, que les effets d'orientation des chaînes macromoléculaires (dans le cas des polymères) sont négligeables et ne modifient pas les propriétés du milieu. Cela revient en fait à dire qu'on observe le comportement moléculaire du matériau en ne modifiant pas significativement la position des molécules par rapport à l'équilibre. Les mesures doivent donc impérativement être effectuées dans ces conditions. La détermination du domaine linéaire s'effectue par l'observation de l'évolution des modules G' et G'' lors d'une augmentation de la déformation ; une diminution de ces paramètres indique la limite de déformation acceptable. Ce domaine dépend de la fréquence et sa détermination devrait donc être menée à chaque fréquence de travail ; toutefois son étendue augmente lorsque la fréquence diminue ; aussi, un domaine déterminé à haute fréquence est valable à plus basse fréquence. Un champ de contrainte ou de déformation, conduit en changeant l'amplitude du signal d'entrée à une fréquence constante, est employé pour déterminer les limites du comportement viscoélastique linéaire en identifiant une valeur critique du paramètre de champ [66]. Dans la région linéaire, les propriétés rhéologiques ne dépendent pas de la contrainte (ni de la déformation).

3. 3. 7. Rhéologie des émulsions

La rhéologie est une technique largement utilisée dans l'industrie alimentaire pour la conception et le développement d'un nouveau produit, et dans le laboratoire pour étudier la structure et la stabilité. Les propriétés rhéologiques des systèmes alimentaires modèles ont été intensivement étudiées ces dernières années, par exemple des gels de polysaccharide [67]. La détermination des propriétés rhéologiques constitue non seulement l'un des meilleurs moyens d'études de l'influence des paramètres de formulation et des procédés de fabrication sur les qualités d'un produit, mais aussi une méthode de contrôle de la reproductibilité de la production.

Dans une étude récente, DICKINSON et GOLDING [68] ont montré que le comportement rhéologique des émulsions concentrées huile/eau, préparées à différentes concentrations C en caséinate de sodium, était très dépendant de C . Lorsque le rapport protéine /huile varie (c'est à dire, à fraction volumique d'huile constante), trois types de comportement rhéologique ont été mis en évidence :

(1) un comportement faiblement rhéofluidifiant, dépendant du temps, associé à une floculation par pontage, lorsque $C < C_0$, C_0 étant la concentration qui assure juste le recouvrement total des gouttelettes; (2) un comportement newtonien stable, lorsque $C \approx C_0$; (3) un comportement fortement rhéofluidifiant, associé à la floculation par déplétion, si $C > C_0$, avec apparition d'une région rhéoépaississante.

Ainsi, les gouttelettes d'émulsion sont chargées électriquement, si bien que la viscosité d'une émulsion varie avec la concentration d'électrolytes ou le pH du milieu de dispersion. La distorsion de l'environnement ionique autour de chaque gouttelette d'émulsion sous l'effet du cisaillement dû à l'écoulement, n'a qu'un effet très réduit. Ce phénomène appelé effet électro visqueux primaire est présent quelle que soit la fraction volumique et même à dilution infinie. Pour les émulsions et les dispersions non diluées, l'effet des forces de répulsion électrostatique est plus important ; il augmente le diamètre de collision effectif des particules chargées lors de l'écoulement. Cet effet électrovisqueux secondaire constitue une source supplémentaire de dissipation de l'énergie, ce qui donne une viscosité plus élevée par rapport à une suspension de sphères non chargées. L'effet électrovisqueux tertiaire est lié aux variations de dimension des polyélectrolytes induites par les modifications de force ionique ou de pH du milieu de dispersion.

Cet effet concerne à la fois les protéines adsorbées à la surface des gouttelettes d'émulsion et tout polysaccharide chargé de la phase aqueuse présente entre les gouttelettes. À force ionique faible, la répulsion entre charges identiques de la même molécule provoque une expansion de la chaîne de polyélectrolyte susceptible de modifier le comportement rhéologique de l'émulsion et de l'interface, ainsi que les interactions effectives entre gouttelettes d'émulsion. Dans les mêmes conditions, les interactions électrostatiques attractives entre les protéines et les polysaccharides de charge nette opposée peuvent également avoir un effet majeur sur la rhéologie.

3. 4. Analyse microscopique

A l'heure actuelle, le procédé d'analyse microscopique est rendu automatique grâce à la transmission de l'image microscopique sur écran et l'emploi d'un système de balayage de l'image transmettant les informations à un ordinateur qui effectue les classifications et les calculs nécessaires.

Une émulsion stable doit donner au microscope une multitude de gouttelettes très fines, de diamètre homogène et animées d'un mouvement brownien intense. Les principales difficultés inhérentes à la technique microscopique sont :

➤ L'obtention d'images floues, rendant toute appréciation de la dimension particulaire, pour les petites particules animées par le mouvement brownien. Pour supprimer ce phénomène, le procédé de dilution fait intervenir des produits tels que la gélatine ou des polysaccharides qui immobilisent les particules en augmentant la viscosité du milieu.

➤ L'apparition de halos autour des particules. Ces halos empêchent l'estimation correcte du diamètre particulaire.

Pour cette raison, le microscope optique ordinaire permet difficilement la définition des particules ayant une taille inférieure à deux micromètres avec suffisamment de précision. Le microscope électronique a été employé pour mesurer la distribution des particules d'émulsion très fine telles que les émulsions destinées à l'administration intraveineuse dont la dimension des globules ne peut, en aucun cas, dépasser la dimension des chylomicrons [69].

3. 5. Analyse optique

La dimension particulaire peut également être mesurée par des méthodes optiques basées sur la détermination, soit de la réduction de l'intensité de lumière directement transmise à travers la dispersion diluée (Méthodes turbidimétriques ou néphélométriques), soit de la lumière diffractée par les particules perpendiculairement au rayon incident monochromatique (light-scattering).

Ces techniques sont limitées à la détermination de la dimension moyenne des particules et ne permettent pas l'évaluation de la distribution. La méthode de diffusion de la lumière (light- scattering) permet également de déterminer les interactions colloïdales entre les couches adsorbées sur différentes surfaces par des analyses de collisions dynamiques des gouttelettes d'émulsion couvertes de protéine, dans l'écoulement de cisaillement [70]. Plusieurs chercheurs ont utilisé ces méthodes avec succès:

➤ Les propriétés des émulsions huile dans eau stabilisée par des protéines de lait, sont déterminées par la rhéologie superficielle de structure de la couche adsorbée à l'interface

huile-eau. L'analyse des profils normaux de densité de segment à la surface montre des différences dans la structure entre les couches adsorbées de caséine désordonnée et de la protéine globulaire de petit lait. Des études systématiques de la stabilité et de la rhéologie des systèmes modèles d'émulsion huile dans eau faites avec des protéines laitières en tant qu'agents émulsifiants donnent la relation entre les propriétés des couches adsorbées et la stabilité de l'émulsion [70].

➤ Des mesures rhéologiques interfaciales de cisaillement ont été réalisées pour étudier les interactions interfaciales entre protéine-protéine [71]. Cette étude a montré que La viscosité interfaciale de cisaillement du caséinate de sodium à une interface de huile-eau est légèrement plus haute que celle des protéines pures α_{s1} -caséine et β -caséine dans les mêmes conditions. C'est probablement dû à la présence de la k-caséine en caséinate de sodium .

➤ DICKINSON et al. [42] ont utilisé la rhéologie, le potentiel zêta, la méthode de diffusion de la lumière (dynamic light scattering) pour étudier l'influence du sel sur des émulsions à base de caseine.

➤ KEOWMANEECHAI et MCCLEMENTS [72] ont aussi utilisé les méthodes décrites précédemment pour étudier l'influence du CaCl_2 et du KCl sur les propriétés physico-chimiques d'une émulsion à base de protéine.

➤ HEMAR et HORNE ont utilisé la rhéologie dynamique pour déterminer les propriétés d'une émulsion à base de protéine [73].

CHAPITRE 4

PARTIE EXPERIMENTALE

4. 1 Introduction

Il apparaît que les phénomènes de séparation de phase enregistrés dans les mélanges polysaccharides/protéines sont causés essentiellement par des interactions négatives de floculation par déplétion et d'incompatibilité thermodynamique. Ces interactions dépendent de la concentration des deux espèces polymériques et de la fraction volumique d'huile dans le cas des émulsions. Par ailleurs, la présence du sel dans ces systèmes complexes semble porter des modifications notables sur l'état de conformation des macromolécules, voir la structure de la chaîne macromoléculaire. Les conséquences d'une telle transformation ont une incidence fondamentale sur le rôle viscosifiant souhaité du polysaccharide.

Ainsi, l'objectif de cette étude expérimentale consiste à étudier l'influence de l'ajout d'un sel (NaCl) sur les interactions d'association ou de ségrégation dans une solution polymérique, par analyse des propriétés rhéologiques, notamment les paramètres caractéristiques de CASSON, et du potentiel zêta pour rendre compte du caractère électrostatique de ces interactions. Sachant que de la stabilité de la phase aqueuse, dépend celle de l'émulsion, on va étudier l'influence des paramètres de formulation de la phase aqueuse sur les propriétés et la stabilité d'une émulsion à base de caséinate de sodium où les effets du sel combinés avec les deux biopolymères sera évalué.

La méthodologie expérimentale choisie pour organiser et rationaliser les essais, s'appuie sur les techniques des plans d'expériences.

4. 2. Produits et méthodes

4.2.1. Produits utilisés

- Le caséinate de Sodium est une protéine anionique équilibrée, qui se présente sous forme de poudre soluble dans l'eau à pH neutre. Elle a des propriétés émulsifiantes. Elle est

fournie par ARMOR Protéines, France. Le tableau 4.1 représente la fiche technique du caseinate utilisée.

Tableau 4.1. Caractéristiques physico-chimiques du caséinate

• <u>Caractéristique physique</u>		
Aspect	Poudre	
Couleur	Crème	
Goût	Typique	
pH	6.5-7.0	
• <u>Composition chimique</u>		
Protéines	88% min	96% sur sec.
Humidité	6% max.	
Cendre+ Matière grasse	6% max.	
Lactose	0.2% max.	
Sodium	1.3%	
• <u>Analyse microbiologiques</u>		
Flore aérobie mésophile	30 000/g max.	5 000g/ max.
Flore aérobie thermophile	5 000 g max.	
Coliformes	absence/ 0.1 g	
Levures+moisissures	100 g max.	
Staphylococcus Aureus	absence/ 0.1 g	
Salmonelles	absence/ 25 g	

• La gomme xanthane est un biopolysaccharide anionique naturel. Elle est fournie par la société RHODIA, Algérie. Le squelette moléculaire du xanthane est similaire à celui de la cellulose. Il s'agit d'un polymère du D-glucose dont les liaisons sont en b (1-4) (Figure 4.1). Un maillon glucose sur deux est substitué en position 3 par une chaîne latérale trisaccharidique comportant un résidu acide glucuronique, et deux résidus mannose, l'un sous forme d'acétate, l'autre sous forme pyruvate. Il résulte de cette structure qu'il s'agit d'une molécule anionique, caractère primordial pour comprendre son comportement, son affinité et ses interactions. La molécule se conforme sous forme de simple, double ou triple hélice qui s'interagit avec d'autres molécules du polymère pour former un réseau complexe. Le xanthane est soluble dans l'eau (froide ou chaude), il est insoluble dans les solvants organiques, y compris l'éthanol. Sa propriété fondamentale est son action de contrôle de la rhéologie des systèmes aqueux et son effet stabilisant des systèmes multiphasiques aqueux, qu'il s'agisse de stabiliser un liquide (émulsion), un solide (suspension), ou un gaz (mousse). Le xanthane étant une molécule anionique qui est compatible avec les molécules de même nature ou non ionique, mais n'est pas compatible avec les espèces cationiques. La présence d'ions Na^+ et K^+ augmente la viscosité et la stabilité de la dispersion.

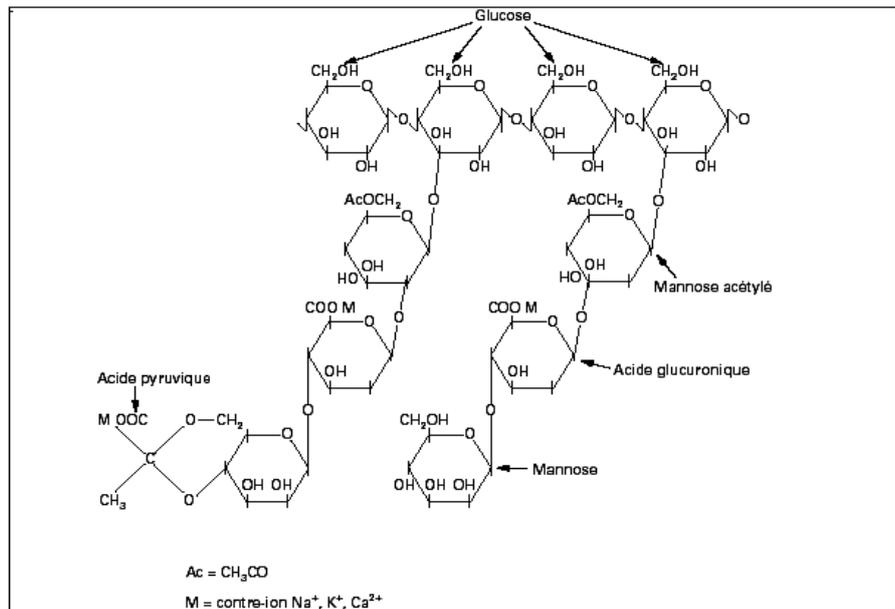


Figure 4.1. Formule développée de la gomme xanthane [73].

- Le chlorure de sodium (NaCl) est fourni par Nen Tech LTD. Brixworth-Northants-U.K LOT 127115.
- L'azide de Sodium (N₃Na) est utilisé comme agent de conservation, il se présente sous forme de cristaux blancs, il est soluble dans les solutions aqueuses et est utilisé comme agent antimicrobien.
- L'eau distillée est utilisée comme phase aqueuse pour la préparation des différentes formulations.

4.2.2 Méthodes

4.2.2.1. Analyse rhéologique

La mesure des paramètres rhéologiques est assurée grâce à l'utilisation d'un rhéomètre de marque PAAR PHYSICA RHEOLAB MCR 300, qui est muni du logiciel US 200 afin de contrôler la commande de l'appareil et le traitement des données. Par ailleurs, c'est à l'issue de l'ajustement des courbes d'écoulement par le modèle de CASSON, que la contrainte seuil, τ_0 et la viscosité limite, η_c ont été sélectionnées comme caractéristiques des rhéogrammes des solutions polymériques. Egalement, suite à un test oscillatoire, en rampe de déformation, que nous avons fait ressortir les valeurs du module

de conservation, G'_{o} , associé au domaine de viscoélasticité linéaire. Aussi, les étapes de caractérisation suivantes sont utilisées dans cette étude :

a. Test de relaxation

La courbe de relaxation est obtenue en imposant une contrainte de cisaillement de 5 Pa pendant 200 s. De ce test on peut avoir le temps d'équilibre à partir duquel la viscosité atteint un palier associé à un équilibre dynamique entre les forces d'attraction de VANDER WAALS et la force de répulsion de cisaillement. La figure 4.2 représente la courbe de relaxation de l'échantillon 10, choisi comme modèle.

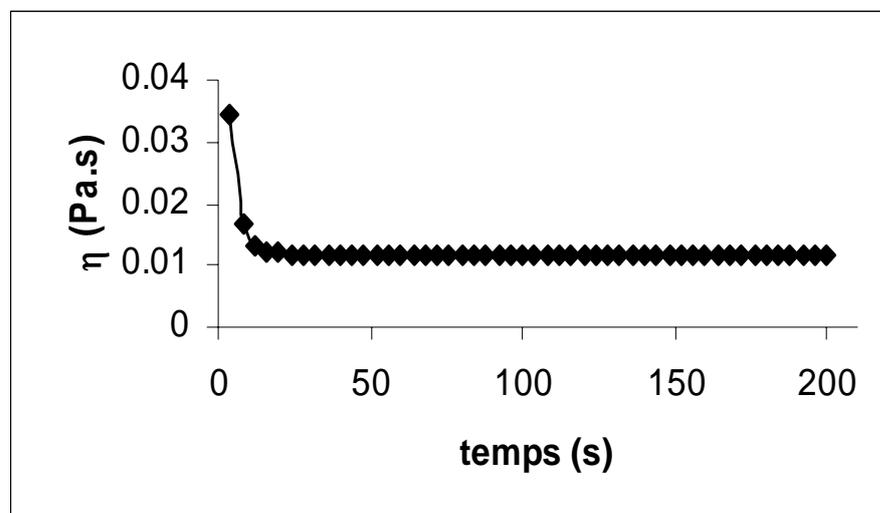


Figure 4.2. Courbe de relaxation d'un essai type (Essai n° 10)

b- courbe d'écoulement

Pour ce test on applique une vitesse de déformation qui varie de 1 à $1000s^{-1}$, le nombre de points est 50, et le temps entre chaque mesure est égal au temps d'équilibre déduit du test de relaxation (figure 4.3). Les paramètres rhéologiques qui rendent compte de ce rhéogramme non newtonien sont dégagés, à l'issue de l'ajustement mathématique de cette courbe d'écoulement expérimentale. On se propose d'ajuster ces rhéogrammes par quelques modèles usuels (CASSON, HERSCHEL-BULKLEY, OSTWALD, et BINGHAM). Le logiciel US 200 assure le traitement mathématique de l'ajustement.

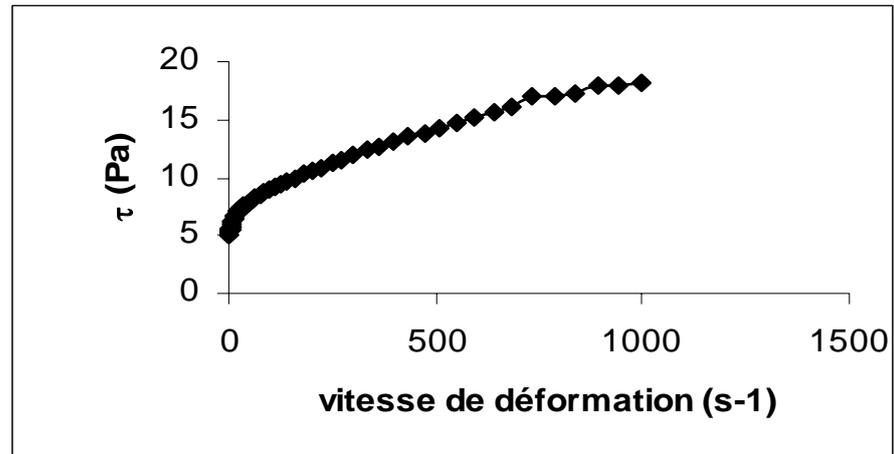


Figure 4.3. Courbe d'écoulement d'un essai type (Essai n° 10)

Le modèle rhéologique qu'on estime le plus représentatif est celui de CASSON. Ce choix est justifié par le fait qu'il présente un nombre faible de facteur (η_c et τ_0) et du fait que ces paramètres sont explicables au sens physique. Le modèle de Casson s'écrit comme suit :

$$\left\{ \begin{array}{ll} \tau^{1/2} = \tau_0^{1/2} + \eta_c^{1/2} \dot{\gamma}^{1/2} & \text{Si } \tau \geq \tau_0 \\ \dot{\gamma} = 0 & \text{Si } \tau \leq \tau_0 \end{array} \right.$$

Où τ_0 est la Contrainte seuil et η_c est la Viscosité limite obtenue pour une vitesse de déformation à infinie.

c. Tests viscoélastiques

Des essais oscillatoires sont utilisés pour examiner les différents types de matériaux viscoélastiques, des liquides de basse viscosité, pâtes, gels, polymères ou élastomères et solides rigides. On fait subir aux solutions des tests oscillatoires, en faisant varier la déformation γ de 1 à 100 %, avec une vitesse angulaire constante ($\omega = 10 \text{ s}^{-1}$) [74].

La figure 4.4 Montre l'évolution du module de conservation (G') et celui de perte (G'') en fonction de la déformation.

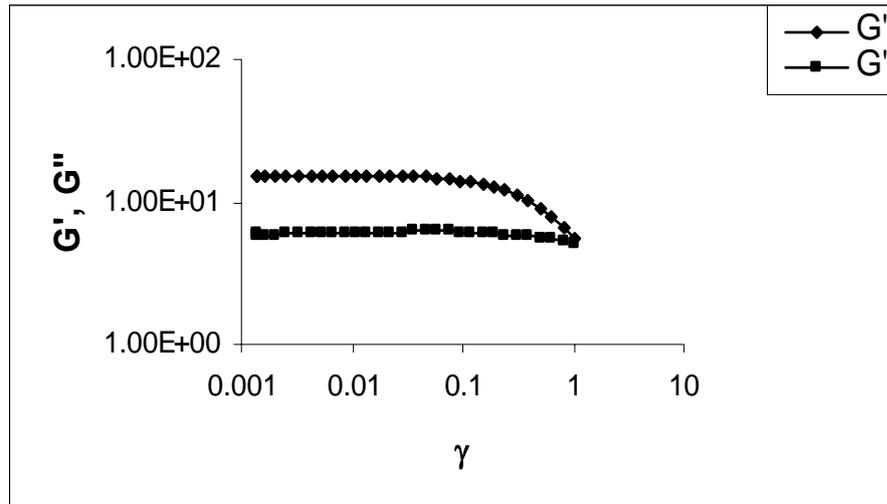


Figure 4.4. Courbe de viscoélasticité d'un essai type (Essai n° 10)

La valeur du G' est une mesure de l'énergie de déformation stockée dans l'échantillon pendant le cisaillement. G' représente le comportement élastique. La valeur du G'' est une mesure de l'énergie de déformation utilisée dans le matériau pendant le cisaillement, et perdue après. Cette énergie est employée pendant le processus de changement de la structure ou dissipée dans l'environnement entourant sous forme de chaleur. Ainsi, G'' représente le comportement visqueux.

Les courbes de viscoélasticité (figure 4.4) montrent que G' est supérieur à G'' , ce qui permet de déduire qu'il s'agit en fait d'un comportement d'un solide viscoélastique. Ici, le comportement élastique domine sur le comportement visqueux. La structure montre une certaine rigidité (structure d'un gel). On tire de ce test le module G'_0 , qui est le module de conservation au repos, représenté par un palier dans la courbe de la figure 4.4 et, le module de perte au repos, G''_0 .

4.2.2.2. Analyse électrocinétique

La mesure du potentiel zêta est effectuée à l'aide d'un zétamètre de marque Malvern Zétasizer 2000. Le pilotage de cet appareil est assuré par le logiciel Zêta Mode v 1.6. A noter, que les échantillons doivent être limpides, ce qui nécessite une dilution de 1/10. On mesure alors le potentiel Zêta, ξ (mV).

Le potentiel zêta ζ représente la charge électrostatique que les particules acquièrent quand elles sont mises en suspension dans un liquide contenant des ions.

L'inconvénient de cette étude est la nécessité de diluer les solutions ce qui mène à un changement de l'environnement ionique. La dispersion circule à l'intérieur de la cellule et on mesure la mobilité électrophorétique des particules. Ceci permet d'en déduire le potentiel zéta de la surface des particules dispersées. Le potentiel zéta est calculé grâce à la loi de HENRY.

4.2.3. Préparation des solutions

Les solutions aqueuses sont préparées en faisant dissoudre des quantités appropriées de caseinate de sodium, de xanthane, du NaCl, en présence de 0.01% d'azide de sodium (pour éviter les contaminations microbiennes) dans de l'eau distillée. La dissolution des constituants est assurée à l'aide d'un agitateur, pendant 20 heures, à température ambiante.

4.3. Planification des expériences

4.3.1. Objectifs

La démarche adoptée dans ce travail, pour organiser les expériences est basée sur la planification des expériences. Le recours à cette méthode permet d'obtenir des modèles prévisionnels des réponses (propriétés) étudiées, en fonction des constituants du système colloïdal. Compte tenu de l'objectif visé par cette étude, la stratégie de planification expérimentale la plus adéquate repose sur une modélisation en surface de réponse (RSM), par un modèle d'ordre 2 pour tenir compte de toutes les interactions doubles entre les facteurs et des effets non monotones éventuels:

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + a_{11}x_1^2 + a_{22}x_2^2 + a_{33}x_3^2 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{23}x_2x_3$$

Où y est la réponse et τ_0 , η_c , ζ , G'_0 et X_1 , X_2 et X_3 sont des facteurs adimensionnels, compris entre -1 et 1, et sont associés aux concentrations [23, 50, 75] de Caseinate de Na [0.5% – 6%], Xanthane [0% – 0.5%] et de NaCl [1 – 100 mM] respectivement .

4.3.2. Définition des réponses

Les réponses obtenues à l'issue des différentes analyses physicochimiques et rhéologiques effectués sur les essais sont :

- La viscosité limite de CASSON, η_c , (Pa.s) et la contrainte seuil, τ_0 , (Pa) du modèle rhéologique de CASSON, obtenus au terme d'ajustement des rhéogrammes.
- Le module de conservation G'_0 (Pa), issus de l'étude viscoélastique.

➤ Le potentiel Zêta, ζ (mV) .

La matrice d'expérience qui répond à nos objectifs est de type D-optimal, contenant 27 essais, avec 3 répétitions au centre, pour tenir compte de la variabilité naturelle, due aux facteurs éventuels non contrôlés (tableau 4.2).

Tableau 4.2 : Matrice d'expériences assortie aux valeurs expérimentales des paramètres rhéologiques et électrocinétique.

Essai	CN-Na (%)	NaCl (mM)	Xanthane (%)	τ_o (Pa)	η_c (mPa.s)	G'o (Pa)	ξ (mV)
1	0.5	100	0	0,14	3	0,7	-31,6
2	6	1	0	0,29	1,74	0,712	-43
3	2.33333	100	0	0,08	1	0,7	-21,7
4	0.5	100	0.3333	3,82	3,7	9,7	-66,3
5	0.5	100	0.5	0,16	1	0,6	-37,6
6	0.5	4.64159	0	0,12	1,5	0,7	-31
7	0.5	21.5443	0	1,84	18	5,26	-61,3
8	6	100	0.5	4,27	5,6	9,4	-55,1
9	3.25	10	0.25	0,56	3,2	1,65	-45,3
10	6	1	0.5	1,75	8,7	5	-57,9
11	2.33333	1	0.5	0,63	6,2	5,39	-48,1
12	6	1	0.3333	0,12	2,1	0,8	-24,8
13	0.5	1	0	0,1	1	5	-25
14	0.5	1	0.5	4,18	4,8	9,7	-36,3
15	6	21.5443	0	2,52	14,5	5	-45,9
16	6	1	0.1666	2,01	4,7	5,39	-47,7
17	6	4.64159	0.5	0,25	5,4	0,85	-39,6
18	6	100	0	0,32	9,4	0,9	-39,5
19	3.25	10	0.25	0,25	1,1	1,3	-22,2
20	0.5	4.64159	0.5	0,25	1,1	0,75	-25,2
21	6	100	0.1666	0,28	1,2	6,2	-23,1
22	3.25	10	0.25	3,97	4	9,18	-47,3
23	4.16667	1	0	2,24	13,6	7,1	-52,7
24	6	100	0.3333	1,31	5	3,1	-54,5
25	4.16667	100	0.5	1,34	5,1	3,3	-52,5
26	3.25	10	0.25	1,3	1,5	3	-53
27	0.5	1	0.1666	1,28	4,6	3,1	-53,3

4.3.3. Modélisation en surface de réponse

La qualité au sens statistique des résultats, obtenue à l'issue des ajustements, est conditionnée par le coefficient expliquant la variance, R^2 , qui indique à quel point le modèle explique les valeurs observées. Plus il est proche de 1, plus le modèle est bien ajusté (adéquat). Les valeurs de R^2 en fonction des réponses sont représentées sur l'histogramme suivant (figure 4.5) :

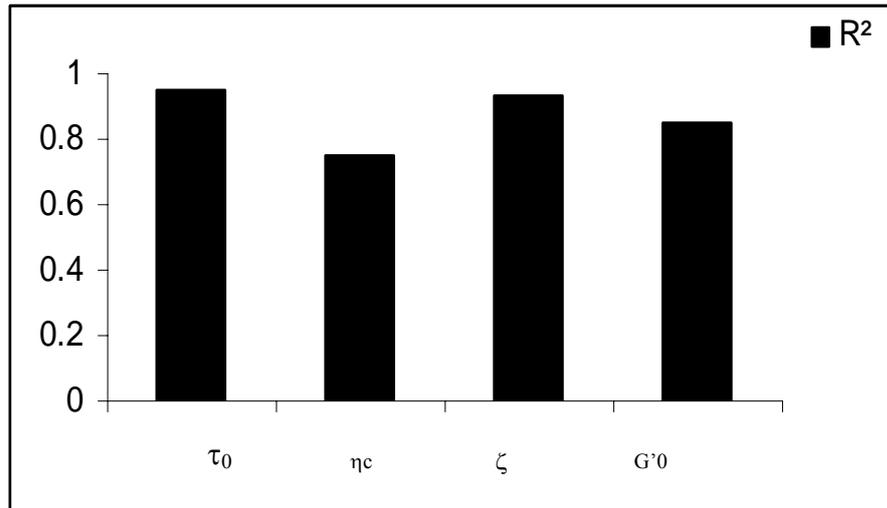


Figure 4.5 Histogramme de R^2

Au regard des valeurs de ce coefficient, on peut dire que les modèles obtenus sont significatifs, ce qui permet de déterminer les effets des trois constituants sur les réponses. Les modèles polynomiaux exprimant chaque réponse en fonction des facteurs de formulation s'écrivent :

- Pour la contrainte seuil τ_0

$$\tau_0 \text{ (Pa)} = 1.37 - 0.15 X_1 + 1.40 X_2 - 0.57 X_3 - 0.14 X_1^2 + 0.46 X_2^2 - 0.20 X_3^2 - 0.15 X_1 X_2 - 0.26 X_1 X_3 - 0.69 X_2 X_3$$

- Pour la viscosité de CASSON η_c

$$\eta_c \text{ (mPa.s)} = 5.43 - 0.34 X_1 + 2.66 X_2 + 1.98 X_3 + 0.54 X_1^2 - 0.22 X_2^2 - 0.92 X_3^2 - 0.23 X_1 X_2 - 0.90 X_1 X_3 + 1.02 X_2 X_3$$

- Pour le potentiel zêta ζ

$$\zeta \text{ (mV)} = -44.03 + 5.91 X_1 - 11.38 X_2 + 0.59 X_3 - 0.87 X_1^2 + 2.48 X_2^2 + 3.20 X_3^2 + 2.87 X_1 X_2 - 2.87 X_1 X_3 + 1.32 X_2 X_3$$

➤ Pour le module de conservation G'_0

$$G'_0(\text{Pa}) = 1.16 - 0.21 X_1 + 1.04 X_2 - 0.34 X_3 - 0.169 X_1^2 + 0.26 X_2^2 + 0.07 X_3^2 - 0.28 X_1 X_2 - 0.11 X_1 X_3 - 0.46 X_2 X_3$$

Dans l'objectif de déceler les réponses dépendantes utilisées dans le plan d'expérience, on représente la matrice de corrélation (tableau 4.3) :

Tableau 4.3. Matrice de corrélation

	τ_0	η_c	G'_0	ζ
τ_0	1	0.35379	0.883036	0.75254
η_c	0.35379	1	0.289321	-0.469488
G'_0	0.883036	0.289321	1	-0.593058
ζ	-0.75254	-0.469488	-0.593058	1

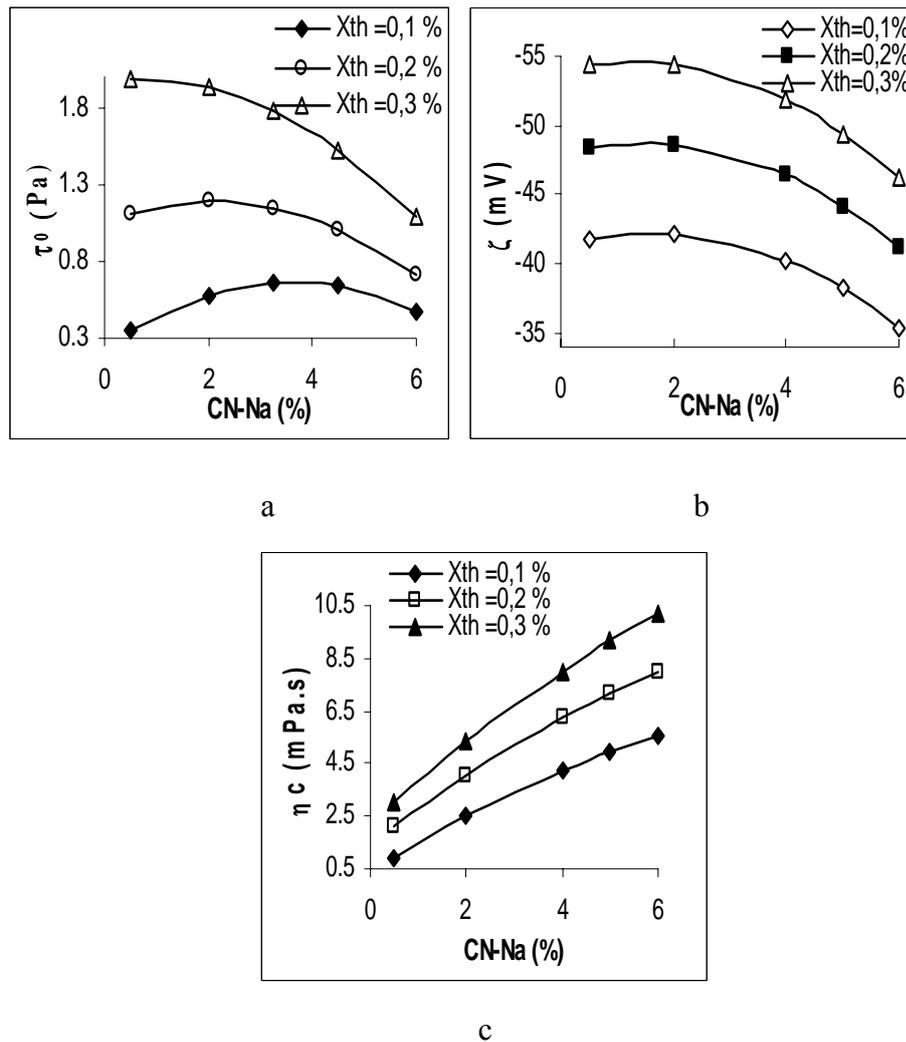
A l'examen des valeurs des quatre réponses dans la matrice, on remarque que τ_0 et G'_0 sont dépendants, car leur coefficient de corrélation, R est de 0,88. Donc, il n'est pas utile de les garder toutes les deux et on se propose à cette effet de maintenir τ_0 .

Aussi, on se propose quant à la suite du travail de déterminer l'effet de chaque facteur de contrôle sur les caractéristiques rhéologiques et électrocinétiques de la solution étudiée.

4. 4. Effets des facteurs de formulation sur les propriétés rhéologiques et physicochimiques de la phase aqueuse

4.4.1. Effet du caséinate de sodium

On représente dans les figures 4.6 a, b et c, les courbes d'influence du Caséinate de sodium (CN-Na) sur τ_0 , η_c , ξ en fonction de la concentration du xanthane (Xth), la quantité du sel rajoutée est de 1mM. Le but recherché est en fait d'identifier une éventuelle interaction entre les deux biopolymères.



Figures 4.6–a, b, c: Courbes d'influence du CN-Na sur τ_0 , η_c , ζ en fonction de la concentration du xanthane, NaCl=1mM

Les courbes de τ_0 (figure 4.6-a) sont toutes non monotones : La première partie croissante est associée à l'absence des interactions d'hydrophobie entre le CN-Na et le xanthane, si bien que l'ajout de la protéine fait renforcer la structure et donc τ_0 . Quant au tronçon décroissant, la structure subit un relâchement qui est d'autant important que la CN-Na augmente. Cette fragilisation de la cohésion de la structure est due essentiellement à la présence d'interaction d'hydrophobie ségrégative d'origine thermodynamique.

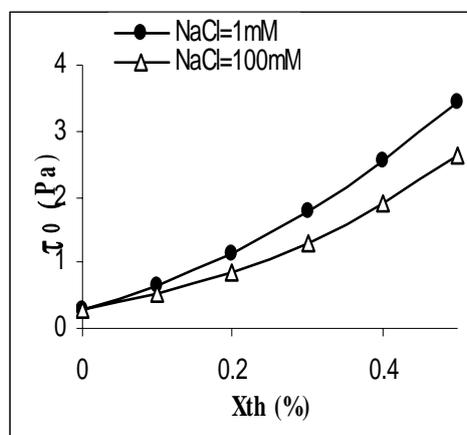
Le potentiel zêta, dans le domaine des faibles concentrations de CN-Na (<2%), est quasiment insensible à la variation du CN-Na (figure 4.6-b.). La plupart des protéines sont individuelles ou en sub-micelles, si bien que ζ ne varie pas, du fait du caractère faiblement anionique de ces protéines d'une part et du fait que la valeur de ζ est imposée par la

quantité du polysaccharide anionique présente dans la solution. En revanche, au delà de la concentration de CN-Na de 2%, ξ enregistre un abaissement significatif, car l'augmentation de la concentration de CN-Na fait croître le nombre de sub-micelles qui ont un diamètre plus important, ce qui ralentit leur mobilité électrophorétique et par la même le potentiel zêta.

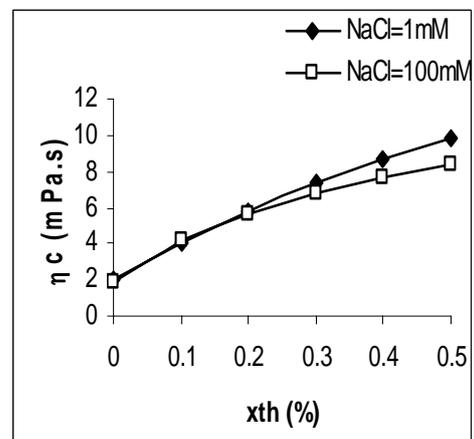
Pour ce qui est de l'effet du CN-Na sur la viscosité limite de CASSON (figure 4.6-c), il apparaît que cet effet est positif, car les interactions entre le xanthane et le CN-Na sont négligeables devant les forces de répulsion de dissociation et de cisaillement dues à l'écoulement extrême de la solution polymérique (vitesse de cisaillement infinie). Ainsi, l'addition des macromolécules du CN-Na et du xanthane fait croître la résistance à l'écoulement et donc la viscosité.

4.4.2. Effet du xanthane

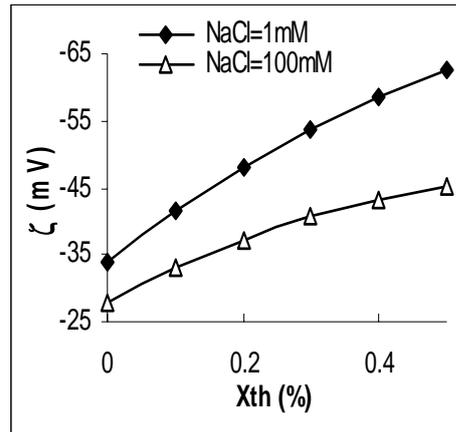
Le xanthane est un polysaccharide de grand poids moléculaire et est fortement anionique par rapport au CN-Na. On représente dans les figures 4.7 (a, b, c) les courbes d'influence de ce polysaccharide sur τ_0 , η_c et ζ en fonction de la concentration du NaCl, pour une concentration de CN-Na = 3.25%.



a



b



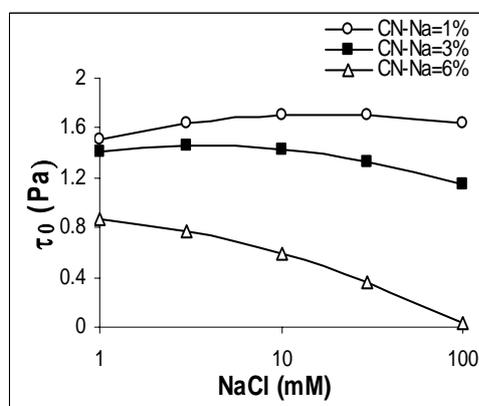
c

Figures 4.7 - a, b, c : Courbes d'influence du xanthane sur τ_0 , η_c , ζ en fonction de la concentration du NaCl, CN-Na=3.25%.

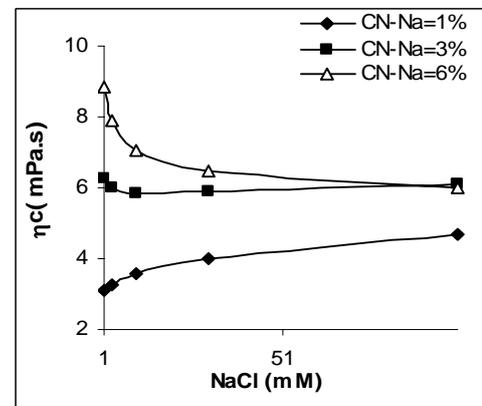
Ainsi, au regard de la figure 4.7 a, le xanthane semble renforcer la cohésion de la structure, car la contrainte seuil augmente dans tous les cas de figure. Ceci est plausible, du fait que cet ingrédient est très hydrophile et donc ne développe pas d'interaction négative avec le solvant. En ce qui concerne l'effet du xanthane sur ζ (figure 4.7 b), le potentiel zêta augmente avec l'accroissement du nombre de macro-ions anioniques du polyélectrolyte. Enfin, à la lumière de la figure 4.7 c, il est clair que l'augmentation de la concentration du xanthane, fait croître la viscosité limite de CASSON, par l'accroissement du nombre de macromolécules du biopolymère.

4.4.3. Effet du NaCl

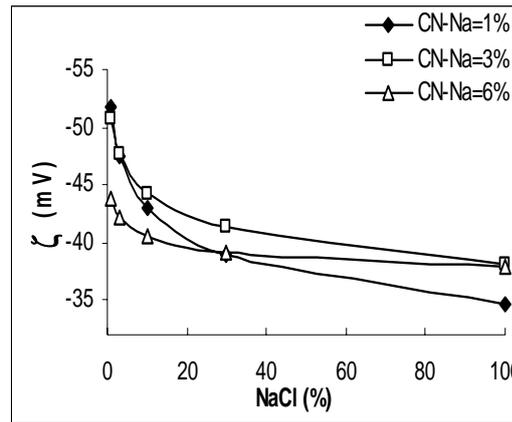
L'effet du sel sur les propriétés physico-chimiques des solutions aqueuses des solutions polymériques est représenté respectivement dans les figures 4.8-a, b, c.



a



b



c

Figures 4.8- a, b et c : Courbes d'influence du NaCl sur τ_0 , η_c , ζ en fonction de la concentration du CN-Na, xanthane=0.25%.

Au vu de la courbe 4.8 a, il est clair que l'effet du sel sur la contrainte seuil est tributaire de la quantité mise en jeu du caséinate. En effet, lorsque CN-Na est égal à 1%, τ_0 reste insensible à la variation de NaCl. En revanche, en augmentant la concentration du CN-Na à 3 % et à 6%, la courbe d'influence devient significative où l'on enregistre un abaissement considérable de la contrainte seuil τ_0 . Cet état de fait peut être justifié à l'échelle structurale par l'augmentation des interactions d'hydrophobie répulsives et du volume exclu qui génèrent une destruction de la structure. En effet, l'augmentation du caséinate fait que le système devient concentré en colloïde, si bien que les ions cationiques du milieu continu, se rapprochent des anions des macromolécules du xanthane et du CN-Na. En conséquence, la charge négative nette de ces deux macroions diminue, ce qui va croître les interactions attractives intra macromoléculaires de VAN DER WAALS : xanthane-xanthane et CN-Na - CN-Na. Il a été démontré que le xanthane, en présence du sel, change d'état : du simple hélice au double hélices [76], ce qui laisse supposer, qu'en effet, le sel favorise les interactions attractives xanthane-xanthane. Egalement, sous condition de concentration, il a été trouvé que les sites anioniques du CN-Na sont susceptibles d'être attaqués par les cations du sel pour les neutraliser [14], ce qui peut conduire à la formation accélérée des sub-micelles. Ainsi, la formation des agrégats du xanthane et de CN-Na, en présence de NaCl, va d'une part réduire les espaces libres dans la phase continue et par la même augmenter l'effet du volume exclu. Aussi, les interactions ségréatives entre ces deux espèces polymériques s'intensifient.

De la figure 4.8 b, il est évident que l'ajout de NaCl produit un changement notable sur la conformation des deux biopolymères, vu que la viscosité limite de CASSON diminue sensiblement lorsqu'on met beaucoup de CN-Na. Autrement dit, les interactions mécaniques de cisaillement extrêmes, associées à cette viscosité limite, n'ont pas pu vaincre les interactions répulsives d'incompatibilité thermodynamique.

La diminution du potentiel zêta, par la présence du NaCl (figure 4.8 c) est due à la compression de la double couche électrique par une partie des ions du sel, considérés comme des ions indifférents, et par adsorption des cations Na^+ sur les sites anioniques de la protéine et du polysaccharide, ce qui produit une neutralisation des sites occupés et par la même une réduction de la charge négative totale.

4.5. Effets de la combinaison biopolymères/NaCl sur la formation et la stabilité d'une émulsion à base de caséinate de sodium

4.5.1. Introduction

Nombreux sont les travaux qui ont été effectués sur l'effet que peut générer le rajout du sel sur la formation et la stabilité des émulsions à base de caséinate de sodium ainsi que sur leurs propriétés rhéologique et physicochimique. Il a été montré qu'un milieu fortement ionique en KCl (supérieur à 25 mM), peut déstabiliser ces émulsions, par modification de la taille des gouttelettes. Inversement, il peut améliorer la stabilité, par accroissement de la proportion adsorbée de α_{s1} caséine sur l'interface grasse [13]. En conséquence, la quantité restante du caséinate inadsorbée diminue, ce qui permet de réduire la floculation par déplétion des globules huileux [20] et par la même augmenter la stabilité. Par ailleurs, l'addition de CaCl_2 dans ces mêmes systèmes colloïdaux, ($2 \text{ mM} < \text{CaCl}_2 < 8 \text{ mM}$, 35 % d'huile et 4 % de caséinate de sodium, avec $\text{pH} = 6.8$) permet de rassembler les sub-micelles de caséinate, par pontage, en des agrégats (micelles de caséinate) qui elles, ne floculent pas par déplétion les gouttelettes grasses, à cause de leur diamètre qui est relativement important [14]. En conséquence le système devient plus stable d'une part et le comportement rhéologique tend vers un comportement newtonien.

Il se trouve en outre, que l'effet de NaCl change en fonction de la quantité mise en jeu de ce dernier [49]. En effet, il a été montré que pour une concentration inférieure à 0.5 % de NaCl, la concentration critique de floculation du polymère non adsorbant, augmente, ce qui permet d'avoir plus de possibilité d'obtenir des émulsions stables. En revanche,

lorsqu'on dépasse les 0.5 % d'électrolyte, on obtient le phénomène inverse, avec une élévation de la floculation, accompagnée d'une augmentation de la viscosité.

Aussi, notre propos dans ce deuxième volet, d'étude est de déterminer l'effet de NaCl de (1–100 mM) sur la stabilité et les propriétés rhéologiques des émulsions à base de caséinate de sodium contenant du xanthane. Les essais sont organisés par utilisation des préparations des phases aqueuses étudiées précédemment qu'on émulsifie avec l'addition d'une quantité d'huile de tournesol appropriée, suivant un plan d'expériences donné.

4.5.2. Préparation des émulsions

Les émulsions sont préparées en ajoutant les quantités d'huile de tournesol (Cévital, Algérie), adéquates aux phases aqueuses (tableau 4.4). On réalise l'émulsification à l'aide d'un homogénéiseur de type ULTRA-TURRAX, en fixant la vitesse de rotation à 24000 tr/mn., pendant 15 minutes.

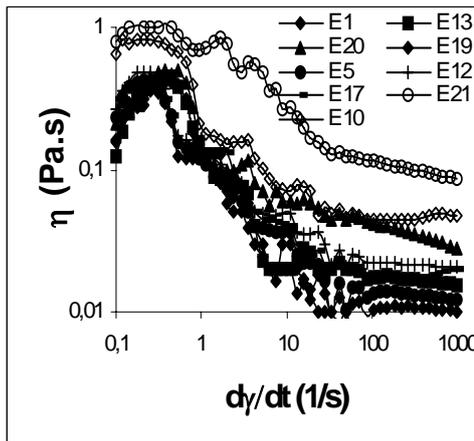
Tableau 4.4. Matrice d'expérience

Essai	Concentration de la phase aqueuse (%)	Concentration de la phase huileuse (%)
01	50	50
02	80	20
03	80	20
04	80	20
05	60	40
06	50	50
07	80	20
08	80	20
09	65	35
10	70	30
11	80	20
12	80	20
13	70	30
14	50	50
15	50	50
16	50	50
17	50	50
18	60	40
19	65	35
20	50	50
21	80	20
22	65	35
23	50	50
24	50	50
25	50	50
26	65	35
27	80	20

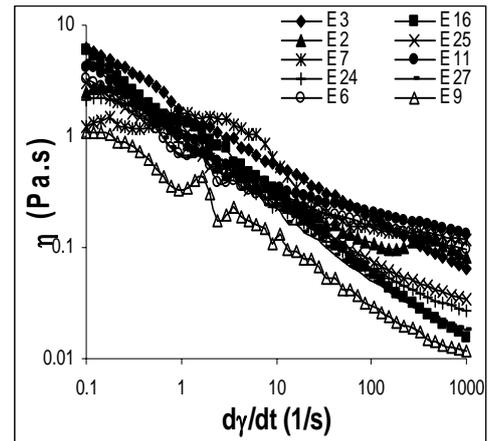
4.5.3. Méthodes de caractérisation des émulsions

4.5.3.1. Analyse rhéologique

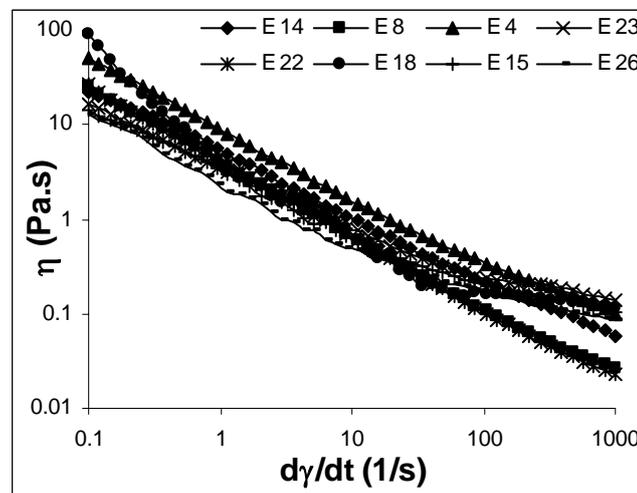
Cette analyse passe par les mêmes étapes suivies dans l'étude de la phase aqueuse (test de relaxation et courbe d'écoulement). Toutefois, les rhéogrammes obtenus des différentes émulsions ne présentent pas la même allure, qui dépend en fait de la texture de ces essais et peuvent être ainsi regroupés en trois classes, figure (4.9 - a, b et c) :



a (faible viscosité)



b (moyenne viscosité)



c (forte viscosité)

Figure 4.9 - a, b et c : Courbes d'écoulements

1. Pour les émulsions de faible viscosité (figure 4.9-a), les rhéogrammes associés, présentent la première et la deuxième région newtonienne avec un comportement rhéofluidifiant intermédiaire. Cependant, on signale l'augmentation effective de la viscosité pour les faibles cisaillements, qui correspond à un comportement rhéoépaississant. Dans ce cas, l'élévation de la viscosité est due à l'extension des flocculats des gouttelettes sans qu'il y ait pour autant une déstructuration comme le montre la photo microscopique de l'essai n° 10 (figure 4.10). Ainsi, ces agrégats prennent du volume et résistent, en conséquence, plus à l'écoulement.

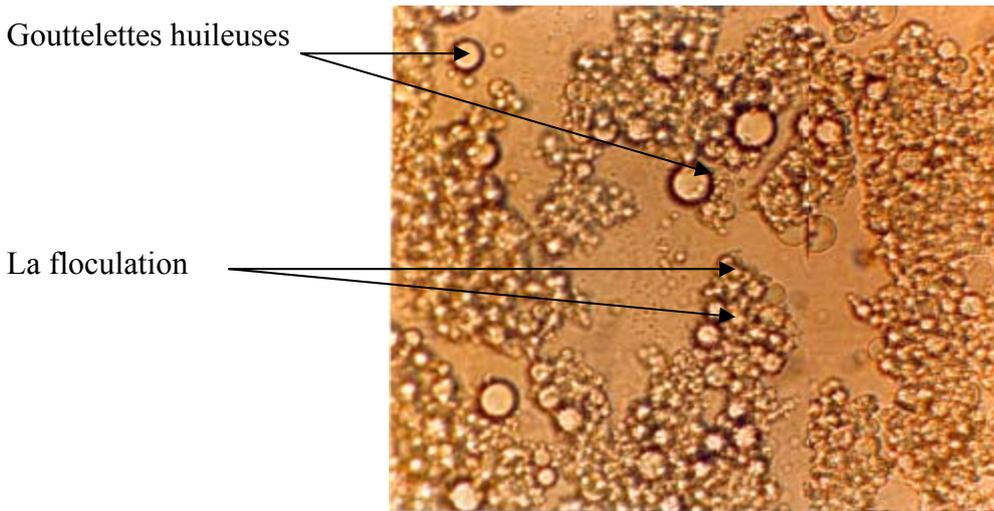


Figure 4.10. Photo microscopique de l'essai n° 10 (agrandissement x100)

2. Pour les émulsions moyennement visqueuses (figure 4.9-b), les rhéogrammes correspondants présentent seulement la première région newtonienne et le comportement rhéofluidifiant.

3. Pour ce qui est des émulsions fortement visqueuses, les rhéogrammes qui leur sont associés sont ceux d'un fluide rhéofluidifiant (figure 4.9-c).

Ces différences d'allure, enregistrées au niveau de ces trois familles de rhéogrammes sont dues probablement aux performances du rhéomètre utilisé par rapport aux domaines de sollicitation et de réponse.

Aussi, il est difficile de trouver un modèle rhéologique représentatif, qui tient compte de ces différences des rhéogrammes expérimentaux. On choisit alors le modèle rhéologique de CASSON généralisé [77] avec un indice de structure, n , fixé à 0.5. Ce modèle tient compte de la présence éventuelle de la contrainte seuil, du comportement newtonien et du comportement rhéofluidifiant.

Le modèle de CASSON généralisé s'écrit comme suit :

$$\left\{ \begin{array}{l} \tau = \tau_0 + \eta_\infty \dot{\gamma} + k \dot{\gamma}^n \\ \dot{\gamma} = 0 \\ n = 0.5 \end{array} \right. \quad \begin{array}{l} \tau \geq \tau_0 \\ \tau \leq \tau_0 \end{array} \quad (4.2)$$

Avec:

τ_0 : Contrainte seuil.

η_∞ : Viscosité à l'infini.

$\dot{\gamma}$: Vitesse de déformation.

k : L'indice de consistance.

n : L'indice de structure.

4.5.3.2. Indice de crémage

Il s'agit en fait d'un paramètre caractéristique de la stabilité de l'émulsion. Tout juste, après préparation des émulsions, on les place dans des tubes à essai de diamètre de 1.5 cm et de hauteur de 13 cm, et on mesure les hauteurs des phases séparées. L'indice de crémage a pour formule [78]:

$$I - C = \frac{H_{aq}}{H_T} \cdot 100 \quad (4.3)$$

Avec:

$I - C$: Indice de crémage ;

H_{aq} : Hauteur de la phase aqueuse (la phase inférieure) ;

H_T : Hauteur totale de l'émulsion.

4.5.3.3. Analyse microscopique

L'examen microscopique est réalisé à l'aide d'un microscope optique de marque JENALUMAR 250CF, qui permet un agrandissement jusqu'à 100 fois, de plus il est muni d'un appareil photographique.

4.5.4. Planification des expériences

4.5.4.1. Définition des réponses

Les réponses obtenues à l'issue des différentes analyses sont : La contrainte seuil, τ_0 (Pa) , et l'indice de consistance, K , obtenus au terme de l'ajustement des rhéogrammes expérimentaux, ainsi que l'indice de crémage (%), I-C.

Les résultats de ces réponses pour les essais de la première matrice sont regroupés dans le tableau 4.5.

Tableau 4.5. Valeurs expérimentales des réponses en fonction des essais

Essai	τ_o (Pa)	k	$I - C$ (%)
1	0.015	0.038	30.84
2	0.076	0.84	79.2
3	0.13	1.64	52.63
4	4.99	3.11	16.88
5	0.034	0.022	0
6	0.2	0.45	36
7	0	0.65	74
8	3.02	0.75	44.68
9	0.057	0.28	21.74
10	0.079	0.083	38.96
11	0.26	0.66	0
12	0.013	0.094	66.7
13	0.006	0.039	39.76
14	2.51	2	0
15	1.32	1.42	34.58
16	0.62	0.47	15.79
17	0.022	0.77	8.98
18	4.52	0.1	51.14
19	0.019	0.029	18.60
20	0	0.1	0
21	0	0.44	73.53
22	3.11	0.64	20
23	1.32	1.80	33.33
24	0.085	0.68	19.23
25	0.091	0.76	1.23
26	0.088	0.65	23
27	0.95	0.45	70.7

4.5.4.2. Détermination des modèles en surface de réponses

Le modèle en surface de réponse utilisé, est de type polynomial de degré 2.

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + a_{11}x_1^2 + a_{22}x_2^2 + a_{33}x_3^2 + a_{44}x_4^2 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{14}x_1x_4 + a_{23}x_2x_3 + a_{24}x_2x_4 + a_{34}x_3x_4$$

X_1 , X_2 , X_3 et X_4 sont les facteurs associés au CN-Na, au xanthane, au sel et à l'huile [20-50%] (en volume).

Ainsi, à l'issue du calcul des paramètres du modèle par la méthode de régression multilinéaire, les modèles pour les réponses choisies s'écrivent:

$$\tau_0 \text{ (Pa)} = 0.26 - 0.50 X_1 + 1.04 X_2 - 0.06 X_3 + 0.55 X_4 + 0.08 X_1^2 - 0.09 X_2^2 + 0.27 X_3^2 + 0.70 X_4^2 - 0.62 X_1 X_2 + 0.45 X_1 X_3 + 0.06 X_1 X_4 - 0.28 X_2 X_3 + 0.30 X_2 X_4 + 0.23 X_3 X_4$$

$$k = 0.57 - 0.26 X_1 + 0.52 X_2 - 0.02 X_3 + 0.44 X_4 + 0.05 X_1^2 + 0.11 X_2^2 + 0.06 X_3^2 + 0.08 X_4^2 - 0.17 X_1 X_2 - 0.04 X_1 X_3 - 0.28 X_1 X_4 - 0.16 X_2 X_3 + 0.22 X_2 X_4 - 0.15 X_3 X_4$$

$$\text{I-C (\%)} = 21.48 + 9.69 X_1 - 19.15 X_2 - 1.43 X_3 - 14.63 X_4 + 13.58 X_1^2 - 2.34 X_2^2 - 2.01 X_3^2 + 4.39 X_4^2 + 6.15 X_1 X_2 + 1.71 X_1 X_3 - 5.86 X_1 X_4 - 0.15 X_2 X_3 + 6.84 X_2 X_4 + 1.62 X_3 X_4$$

La qualité au sens statistique de ces modèles est donnée par le coefficient R^2 , traduisant le pourcentage d'explication de la variance. Ses valeurs sont représentées dans l'histogramme suivant (figure 4.11) :

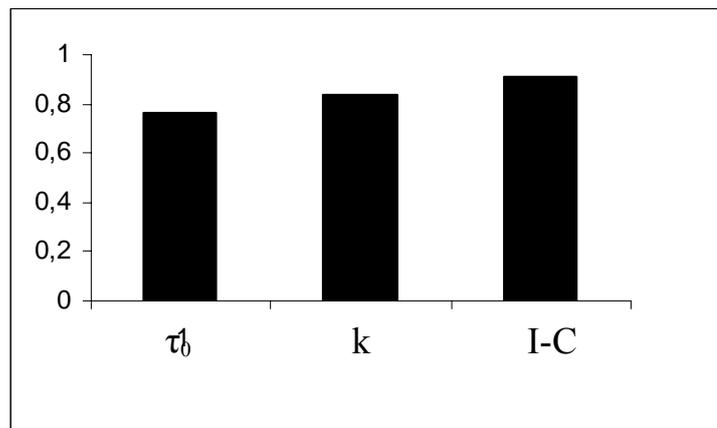


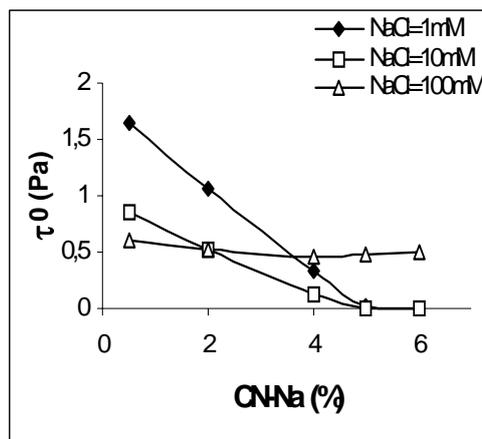
Figure 4.11. R^2 des trois réponses

Au regard des valeurs de ce coefficient, on peut dire que les modèles obtenus sont représentatifs, ce qui permet de déterminer les effets des quatre constituants sur les réponses, par simulation.

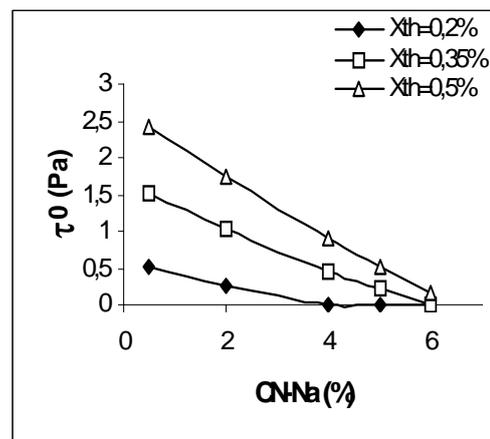
4.5.5. Effets des facteurs de formulations sur les propriétés physicochimiques et rhéologiques des émulsions.

4.5.5.1. Effet du caséinate de sodium sur la contrainte seuil

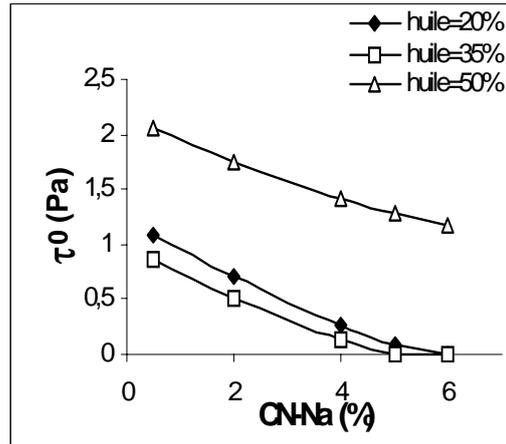
On remarque, au vu des trois graphes (4.12 - a, b et c) que le CN-Na fait abaisser dans tous les cas de figure la contrainte seuil. Ceci laisse penser que la quantité mise en jeu de cette protéine est néfaste à l'amélioration de la cohésion de la structure et par la même à la texture. On note par ailleurs que cette influence est fortement conditionnée par la concentration de NaCl, (Figure 4.12 – a), où on enregistre une atténuation de l'effet négatif du CN-Na avec l'augmentation de cet électrolyte. Egalement, au regard de la figure (4.12– b), on note une interaction CN-Na–xanthane qui se traduit par une amplification de l'effet négatif du CN-Na avec l'élévation du xanthane. Dans ce cas, on peut dire que cette interaction est due au mécanisme d'incompatibilité thermodynamique entre les deux biopolymères. En revanche, l'interaction CN-Na- huile ne paraît pas exister, vue que les courbes de la figure (4.12 – c) sont quasiment parallèles.



a (Xth=3.25% , huile=35%)



b (huile=35%), NaCl=10mM)

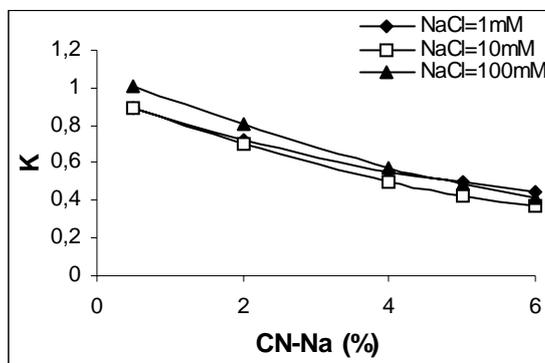


c (Xth=0.25%, NaCl=10mM)

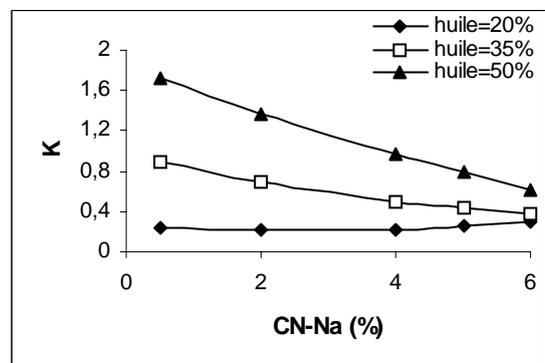
Figure 4.12 - a, b et c: Courbes d'influence du CN-Na sur τ_0

4.5.5.2. Effet du caséinate de sodium sur l'indice de consistance

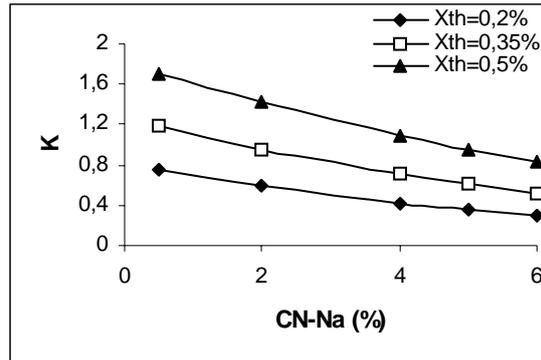
L'indice de consistance, K , traduit la consistance du produit dans les gammes faible et moyenne de la vitesse de cisaillement, où le comportement de l'émulsion est rhéofluidifiant. Le CN-Na paraît réduire ce paramètre caractéristique dans tous les cas de variation des autres excipients. De la figure 4.13– a, le sel ne semble pas s'interagir avec le CN-Na du fait que les trois courbes sont parallèles et pratiquement identiques. Par contre, il apparaît que l'huile présente une interaction avec le CN-Na, dans le sens où son augmentation fait croître l'effet négatif de la protéine (Figure 4.13– b). Pour ce qui est de l'interaction CN-Na - xanthane, cette dernière est absente car les trois courbes associées aux niveaux du xanthane sont parallèles (Figure 4.13 – c).



a (Xth=0.25%, huile=35%)



b (Xth=0.25%, NaCl=10mM)



c (CN-Na=3.25%, NaCl=10mM)

Figure 4.13 - a, b, c: Courbes d'influence du CN-Na sur K

4.5.5.3. Effet du caséinate de sodium sur l'indice de crémage

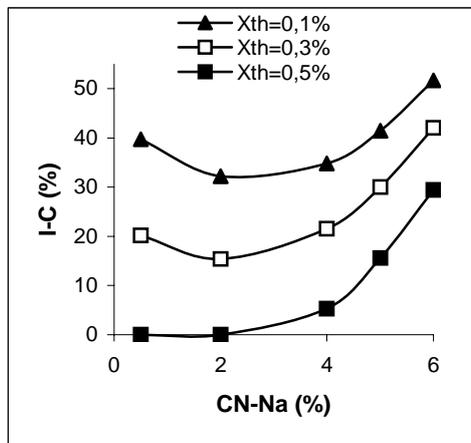
Pour ce qui est de la variation de l'indice de crémage en fonction du caséinate de sodium, il apparaît que les courbes d'influences sont toutes non monotones (Figure 4.14 – a, b et c), où I-C diminue ensuite augmente. Dans la partie décroissante, la quantité du CN-Na mise en jeu n'est pas suffisante pour couvrir toute l'interface huileuse, si bien qu'une macromolécule tensioactive peut s'adsorber sur une ou plusieurs gouttelettes en même temps, ce qui conduit à l'agrégation des globules gras par pontage. Ainsi, l'augmentation du CN-Na dans ce domaine, permet de réduire la floculation par pontage et par la même améliorer la stabilité (I-C diminue).

Dans la partie croissante de I-C, la floculation est accentuée par déplétion des gouttelettes huileuses par la quantité inadsorbée de CN-Na, se trouvant en excès dans la phase aqueuse.

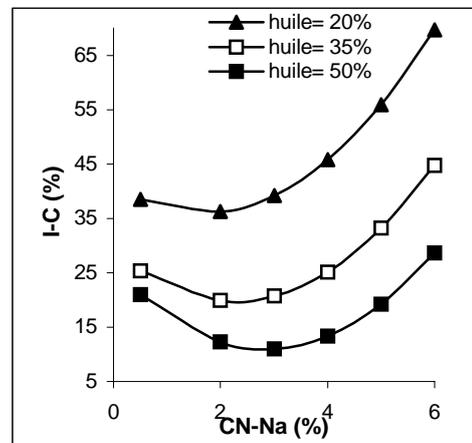
La variation de la concentration du xanthane de 0.1 % à 0.5 %, au regard de la figure 4.13– a, fait diminuer la concentration critique de floculation par déplétion, CCF, associée au début de l'augmentation de I-C (CCF = 3% pour xanthane = 0.1 %, CCF = 2% pour xanthane = 0.3 % et CCF = 1.8 % pour xanthane = 0.5 %). Ceci est attribué au fait que le CN-Na inadsorbé s'interagit négativement avec les macromolécules du xanthane, par incompatibilité thermodynamique, ce qui accélère la formation des sub-micelles par effet du volume exclu, qui, elles sont susceptibles de floculer par déplétion les globules gras.

En ce qui concerne l'interaction huile-CN-Na, on observe un déplacement à droite de la concentration critique de floculation par déplétion du CN-Na, avec l'augmentation de l'huile (CCF = 2 % pour huile = 20 %, CCF = 2,5 % pour huile = 35 % et CCF = 3 % pour huile = 50 %). Ceci est très plausible, car l'augmentation de l'huile, fait croître l'interface, ce qui nécessite plus de CN-Na à s'adsorber.

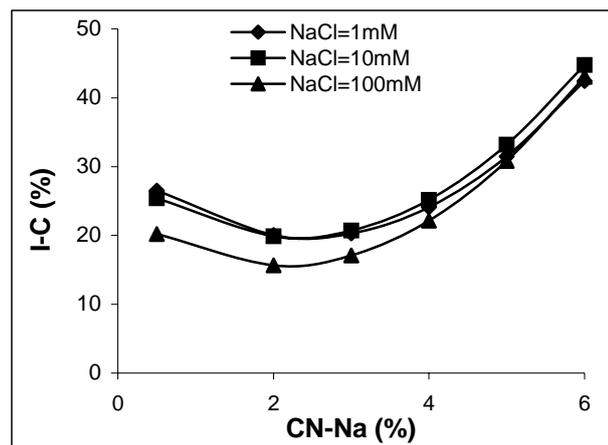
Quant à l'effet du sel sur les courbes d'influence du CN-Na (figure 4.14 - c), on remarque que ce dernier ne fait pas déplacer la CCF du CN-Na, malgré qu'il augmente le pourcentage des α_{s1} caséine adsorbante [49]. Ces caséinates n'auront, en fait, pas la possibilité de s'adsorber sur l'interface qui est déjà occupée par d'autres.



a (CN-Na=3.25%, NaCl=10mM)



b (Xth=0.25%, NaCl=10mM)



c (Xth = 0.25%, huile = 35%)

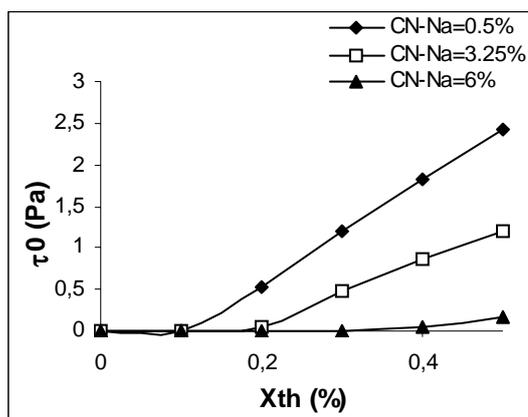
Figure 4.14 - a, b: Courbes d'influence du CN-Na sur I-C

4.5.5.4. Effet du xanthane sur la contrainte seuil

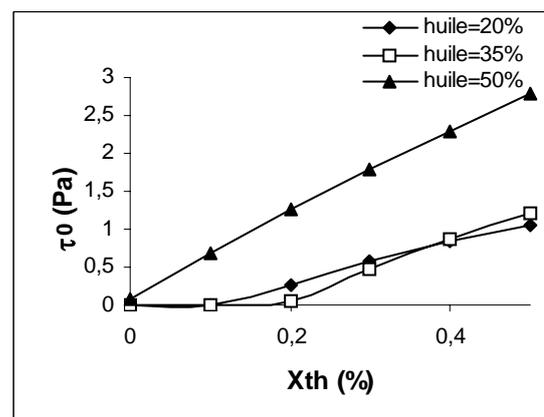
Pour l'ensemble des courbes d'effet du xanthane sur τ_0 (Figure 4.15 – a, b et c), on remarque qu'elles sont toutes croissantes, ce qui laisse supposer que ce polysaccharide joue le rôle d'épaississant, en formant un réseau polymérique au sein de la phase aqueuse qui renforce la structure et par la même la cohésion.

Toutefois, l'augmentation de la concentration du CN-Na estompe cette influence positive (figure 4.15–a), par le fait que les deux biopolymères sont incompatibles thermodynamiquement et développent des interactions ségréгатives menant le système à une fragilisation de sa structure. Par ailleurs, on retrouve ce même phénomène sur les courbes d'influence du xanthane avec la variation du niveau d'huile (figure 4.15–b), où l'élévation de cette dernière, fait diminuer la quantité du CN-Na inadsorbée qui est incompatible avec le xanthane. En conséquence, le xanthane a l'effet le plus important lorsque l'huile est à sa concentration maximale.

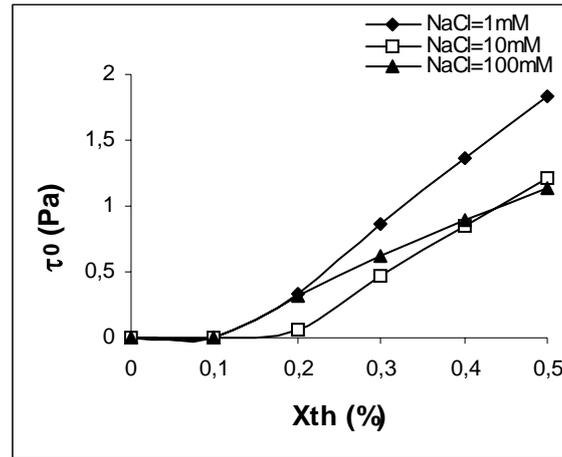
Pour ce qui est du sel, on observe que lorsqu'il est en faible concentration (1 à 10 mM), l'effet du xanthane est le même (figure 4.15-c). Par contre pour une forte force ionique associée à une concentration de 100 mM, l'effet du xanthane se réduit. Ceci peut être justifié par le fait que dans cette situation, les protéines de α_{s1} -caséine inadsorbées vont se rassembler en formant des dimères, des trimères [49], qui auront ainsi, la possibilité de rentrer en incompatibilité avec le xanthane.



a (NaCl=10Mm, hile=35%)



b (CN-Na=3.25% ,NaCl=10mM)

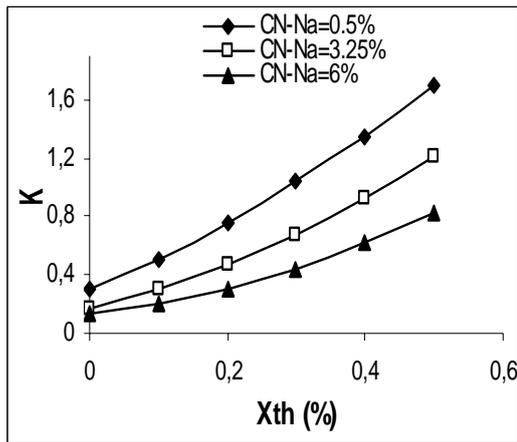


c (CN-Na=3.25%, huile=35%)

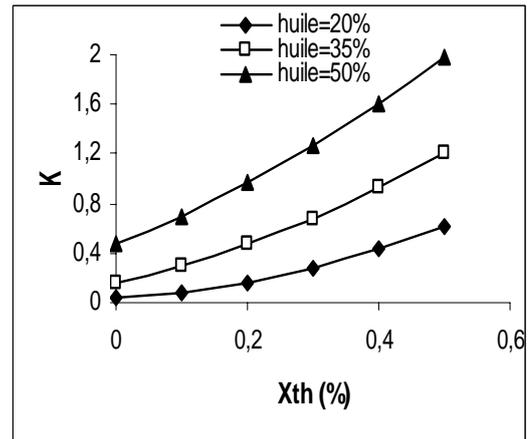
Figure 4.15-a, b et c: Courbes d'influence du xanthane sur τ_0

4.5.5.4. Effet du xanthane sur l'indice de consistance

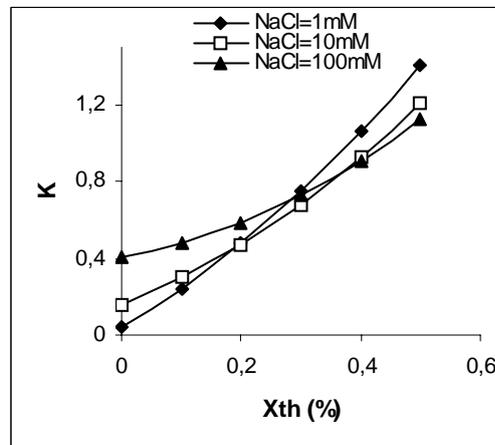
A l'observation des différentes courbes d'influence du xanthane en fonction des différents niveaux du CN-Na, de l'huile ainsi que de NaCl (figure 4.16- a, b et c), il est clair que ces courbes ont les mêmes allures que celles de la contrainte seuil τ_0 , ce qui permet de déduire que les interactions qui se manifestent influent de la même manière sur l'état rhéologique des émulsions et cela soit au repos ou soit en écoulement modéré (dans le domaine de faible et moyenne de vitesse de cisaillement).



a (NaCl=10mM, huile=35%)



b (CN-Na=3.25%, NaCl=10mM)



c (CN-Na= 3.25%, huile= 35%)

Figure 4.16- a, b et c: Courbes d'influence du xanthane sur la consistance K

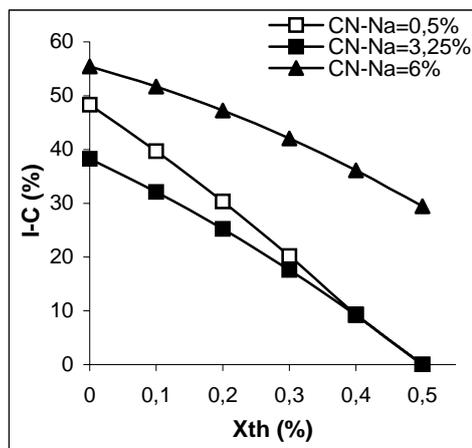
4.5.5.4. Effet du xanthane sur l'indice de crémage

A première vue des différents graphes, on remarque que le xanthane abaisse l'indice de crémage et cela dans tous les cas de situation (figures 4.17– a, b et c). Ceci montre que cet hydrocolloïde améliore la stabilité de l'émulsion, en empêchant les gouttelettes de se flocculer, en les emprisonnant au sein de son réseau polymérique.

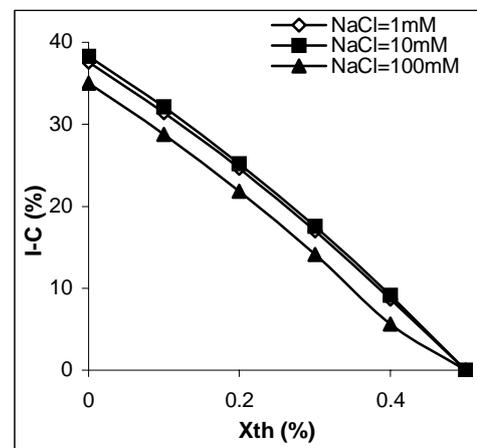
Toutefois, il apparaît, au vu de la figure 4.17– a, que la quantité mise en jeu du CN-Na influe négativement sur cet effet, essentiellement pour les fortes concentrations de cette protéine, par le fait qu'il y aura plus de molécules de CN-Na inadsorbées, susceptibles de s'interagir négativement, par ségrégation avec le xanthane et par la même de flocculer par déplétion les globules gras.

Ceci n'est pas vrai dans le cas de variation du sel (figure 4.17– b), où les courbes d'effet du xanthane sont quasiment parallèles. On déduit alors, que dans ces conditions, CN-Na = 3.5 %, huile = 35 %, il n'y a pas d'interaction entre le sel et le polysaccharide. Ceci peut être justifié par le fait que la quantité de CN-Na inadsorbée est relativement faible, si bien que, même si le NaCl modifie la composante α_{s1} -caséine inadsorbée par complexation, celle-ci est insuffisante pour s'interagir négativement avec le xanthane.

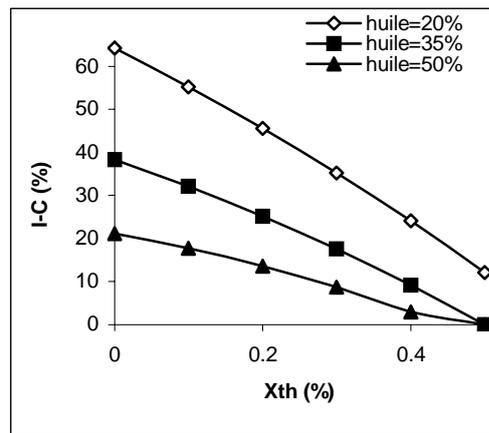
Quant à l'influence du niveau d'huile sur l'effet du xanthane sur I-C, il paraît exister, du fait que les courbes ne sont pas parallèles, figure 4.17 – c. Aussi, l'augmentation de la concentration en huile, fait réduire l'effet positif du xanthane sur la stabilité, due probablement à la taille des gouttelettes qui peut augmenter avec l'accroissement de l'huile, ce qui empêche cet hydrocolloïde de piéger ces grosses gouttelettes. Il est important de signaler que, contrairement à cet interaction négative entre le xanthane et l'huile, cette dernière fait chuter I-C par le fait que la quantité de CN-Na inadsorbée diminue.



a (NaCl=10mM, huile=35%)



b (CN-Na=3.25%, huile=35%)



c (CN-Na=3.25%, NaCl=10Mm)

Figure 4.17- a, b et c: Courbes d'influence du xanthane sur l'indice de crémage (I-C)

4.5.5.5. Effet du NaCl sur la contrainte seuil

A la lumière des diverses courbes d'influence du sel (figure 4.18– a, b et c), il apparaît que ces courbes sont complexes, où on enregistre tantôt des effets négatifs, et tantôt des effets positifs, en fonction des niveaux des autres éléments qui figurent dans l'émulsion.

Aussi le niveau du CN-Na conditionne vraisemblablement cet effet, à l'image de la figure 4.18– a, où on observe une diminution de τ_0 en fonction du sel, pour une quantité minimale de protéine. L'explication qu'on peut avancer pour rendre compte de cette variation, est que dans cette situation, on a une floculation par pontage des gouttelettes huileuses, par manque de protéines et, l'augmentation du sel fait croître le pourcentage de cations susceptibles de s'adsorber (α_{s1} caséine) qui vont réduire la floculation par pontage et par la même la contrainte seuil τ_0 . Dépasser une certaine concentration du sel, τ_0 devient insensible, vu que toute la quantité de α_{s1} caséine s'est adsorbée.

Pour des concentrations élevées de CN-Na, 3.5 et 6 %, la contrainte seuil chute, par effet d'incompatibilité thermodynamique avec le xanthane présent dans la phase aqueuse. Toutefois, le sel ne semble pas modifier τ_0 , vu que la variation maximale enregistrée sur τ_0 est de l'ordre de 0.5 Pa, valeur proche de l'erreur commise sur cette propriété.

Pour ce qui est de l'interaction xanthane-NaCl (figure 4.18- b), les courbes sont presque parallèles et décroissantes qui se stabilisent aux alentours de 30 mM environ. Ainsi, cette interaction n'apparaît pas et la décroissance est due à l'augmentation de la chaîne de as1 caséine qui sera capable de s'interagir négativement avec le xanthane.

Quant à l'effet du sel avec la variation de la quantité de l'huile, l'influence la plus importante est enregistrée pour une concentration minimale d'huile, associée à une concentration maximale de CN-Na inadsorbée. Dans ce cas, le rajout du sel, accentue l'incompatibilité thermodynamique et par la même fait baisser la contrainte seuil (figure 4.18 -c). Par contre pour les deux autres niveaux, à savoir 35 et 50 % d'huile, on peut dire que τ_0 est insensible, vu que l'écart maximal est de l'ordre de erreur expérimentale. Ceci est plausible, du fait que dans cette situation, la quantité de CN-Na inadsorbée est insuffisante pour s'interagir négativement avec le xanthane.

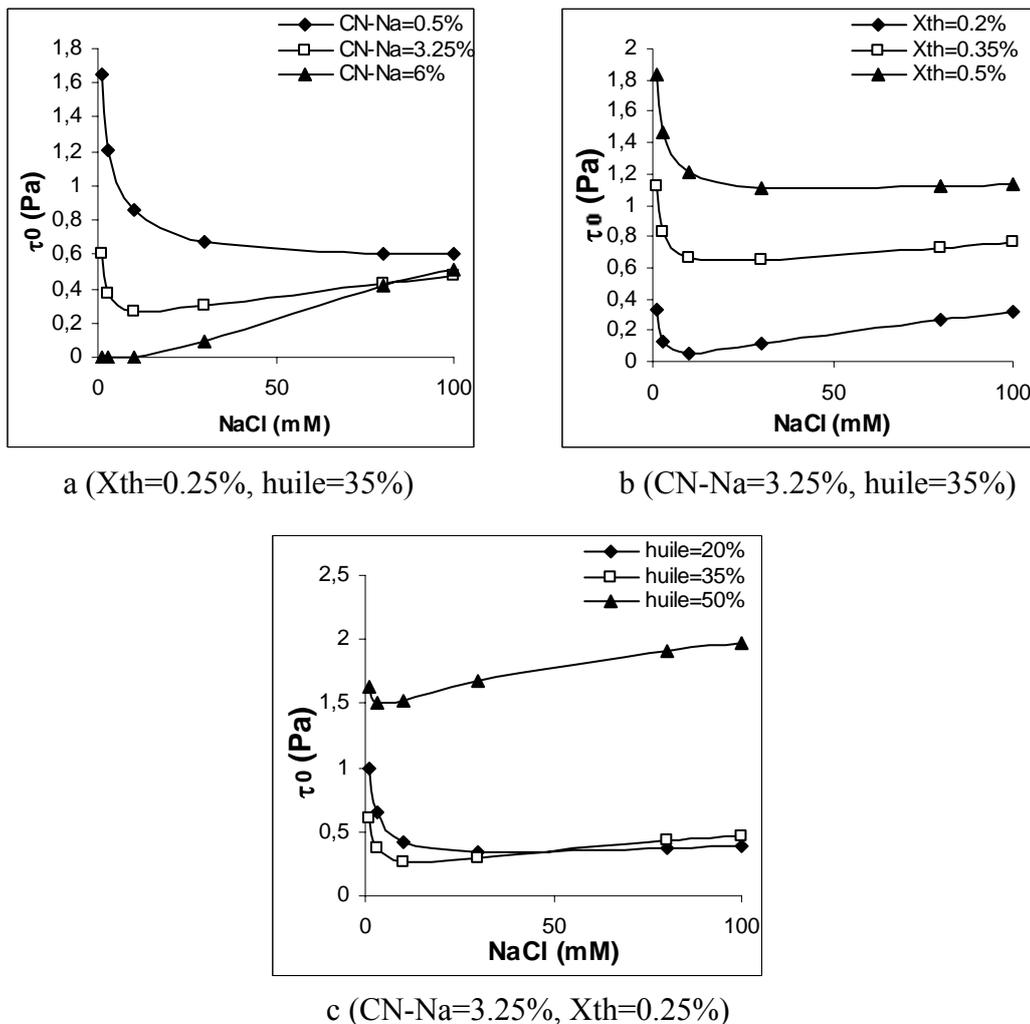
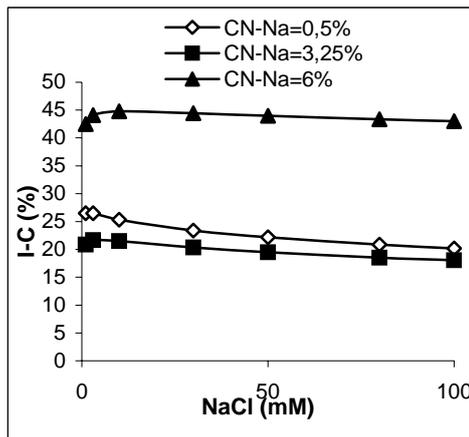


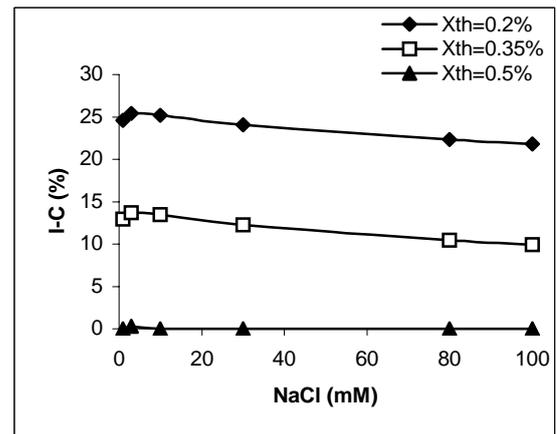
Figure 4.18- a, b et c: Courbes d'influence de NaCl sur τ_0

4.5.5.6. Effet du NaCl sur l'indice de crémage

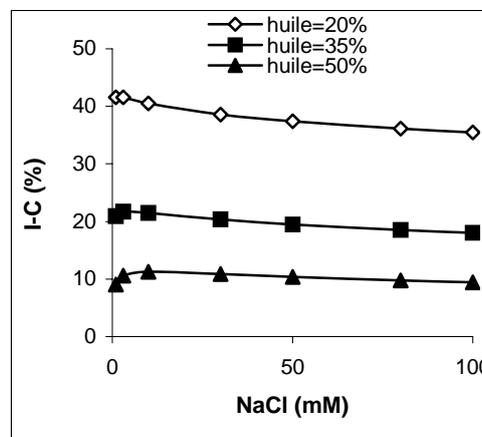
A la lumière des courbes d'effet du sel sur l'indice de crémage, présentées dans les figures 4.19-a, b et c, vraisemblablement ce paramètre caractéristique paraît être insensible et cela pour tous les niveaux des autres excipients. On peut dire alors que l'électrolyte n'a pas d'effet propre sur la stabilité, mais, peut modifier les effets des autres constituants.



a (Xth=0.25% , huile=35%)



b (CN-Na=3.25% , huile=35%)



c (CN-Na=3.25% , Xth=0.25%)

Figure 4.19 - a, b et c: Courbes d'influence de NaCl sur I-C

CONCLUSION

L'étude physico-chimique des fluides à structure complexe reste une tâche relativement difficile à réaliser et nombreux sont les auteurs qui n'arrivent pas à obtenir les résultats escomptés. C'est ainsi que dans le cas du NaCl, la bibliographie avance des interprétations qui sont généralement contradictoires, quant à son rôle et son influence sur les propriétés dans les phases aqueuses et dans les émulsions.

Pour ce qui est de la démarche utilisée dans ce travail, pour rendre compte de l'effet du sel sur les différents mécanismes de séparation de phase dans les solutions et dans les émulsions, nous avons opté pour l'utilisation de la méthodologie des plans d'expériences, pour organiser les séquences des essais et surtout pour obtenir les différentes courbes d'influence et les interactions, par simulation mathématique, sans pour autant effectuer beaucoup d'expériences.

Aussi, les points les plus pertinents qui ressortent de ce travail sont :

1. Pour les phases aqueuses :

Lorsque la solution est concentrée en colloïde, le NaCl provoque un changement notable sur la conformation du xanthane et accélère la formation des sub-micelles du CN-Na, si bien que les interactions d'hydrophobie et du volume exclu produisent une destruction de la structure polymérique, se traduisant par la chute de la contrainte seuil τ_0 .

Ces changements apparaissent même lorsque la solution est fortement cisailée, auquel cas, le matériau se comporte comme un fluide newtonien de viscosité constante, η_c .

Pour ce qui est des caractéristiques électrophorétiques, le potentiel zêta subit un abaissement significatif en présence du sel. Toutefois, il existe plusieurs mécanismes qui font que ce potentiel chute, notamment la compression de la double couche électrique, l'adsorption des anions des deux polyélectrolytes par les cations Na^+ et la formation de gros agrégats macromoléculaires. Aussi, est-il vraisemblable de connaître avec précision et de façon quantitative la contribution de chaque mécanisme à la variation de ce potentiel.

2. Pour les émulsions :

Il apparaît à l'issue d'étude de cette partie que le sel n'a pas d'effet propre sur les propriétés rhéologiques et de stabilité de l'émulsion, mais contribue fortement et indirectement aux différents mécanismes d'instabilité, en s'interagissant avec les autres excipients, qui eux, ont un effet propre:

Nous avons enregistré une interaction CN-Na - sel qui se traduit par une atténuation de l'effet propre de la protéine sur la texture et la cohésion de la structure avec l'augmentation de la concentration de cet électrolyte.

Par contre cette interaction n'apparaît pas sur la stabilité de l'émulsion, malgré que le sel fait augmenter le pourcentage de caséinate (α_1 caséine) adsorbante, due au fait que la quantité initiale mise en jeu de CN-Na est largement suffisante pour l'interface.

Quant à l'interaction xanthane-sel, il a été observé que pour des forces ioniques importantes, le NaCl réduit l'effet positif du xanthane sur la rigidité de la structure. L'explication avancée à cet effet, est que le sel complexe les α_1 -caséine en dimère, trimère, qui auront, ainsi, la possibilité de développer des interactions supplémentaires de ségrégation avec le polysaccharide.

Cette interaction xanthane-sel disparaît dans le cas d'étude de l'indice de crémage, vue que dans les conditions utilisées, la concentration du CN-Na inadsorbée est insuffisante pour manifester des interactions répulsives avec le xanthane, en dépit de la complexation de la composante α_1 caséine inadsorbée.

Aussi, ce travail est loin de mettre en évidence, avec précision, les interactions électrolyte-biopolymère dans les phases aqueuses ainsi que dans les émulsions, et, un travail complémentaire de caractérisation physico-chimique (AFM, microscopie à balayage électronique, granulométrie à laser...) détaillée est plus que nécessaire pour avoir le maximum d'information, utile pour rendre compte des mécanismes d'interaction intra et/ou inter- colloïdes.

LISTE DES ABREVIATIONS ET INDICES

A	Surface.
AFM	Microscopie à force atomique
CN-Na	Caséinate de sodium.
C^*	Concentration critique.
CCF	Concentration critique de floculation
d	Diamètre des gouttelettes.
E/H	Emulsion eau dans huile.
F	Force.
f (t)	Fonction de fluage.
G	Module élastique.
G'	Module de conservation.
G'_0	Module de conservation au repos.
G''	Module de perte.
G''_0	Module de perte au repos.
G^*	Module élastique complexe.
g	Accélération de la pesanteur.
g (t)	Fonction de relaxation.
H/E	Emulsion huile dans eau.
HCl	Acide chlorhydrique.
HLB	Balance lipophile/hydrophile.
H_2SO_4	Acide sulfurique.
I-C	Indice de crémage.
J	Complaisance élastique.
J^*	Complaisance élastique complexe.
KOH	Hydroxyde de potassium.
NaOH	Hydroxyde de sodium.
MLR	Régression multilinéaire.
PLS	Partiel Least Square.

pH	Potentiel hydrogène.
P	Pression.
Q ²	Coefficient de prédiction.
r	Rayon des gouttelettes.
R ²	Coefficient expliquant la variance.
RSM	Modélisation en surface de réponse.
T	Température.
t	temps.
U(h)	Energie d'interaction.

REFERENCES

1. Puisieux, F., et Seiller, M., "Systèmes dispersés, agents de surface, et émulsions", Tec&Doc, Ed. Lavoisier, Paris (1983).
2. Moinet, M. L., Le lait est-il encore du lait, Revue Science et Vie, V. 978, (1999), 140-147.
3. Alais, C., Linden, G., "Biochimie alimentaire", Ed. Masson, Paris (1987), 224 p.
4. Cayot-Denis L. P., "Structure et technofonction des protéines du lait" Tec & Doc, Ed. Lavoisier, Paris (1998).
5. Doxastakis, G., Charalambous, G., and Doxastakis G., "Milk proteins, in Food emulsifiers", Ed. Elsevier, Amsterdam (1989), 9-62.
6. Holt C., Van Kemenade M. J. J. M., Nelson J. L. S., Sawyer L., Harries J. E., Bailey R.T., Hukins D.W.L., "Composition and structure of micellar calcium phosphate". Journal of Dairy Research, V.56, (1989), 411- 416.
7. Murphy J. M., Fox P. F., Functional properties of α_s - κ - or β - rich casein fractions. Food Chemistry, V. 39, (1991), 211-228.
8. Chitour, C.E., "Les interfaces liquide-liquide et gaz-liquide", Ed. OPU, Alger (1999) 155 p.
9. Dickinson, E., "Les colloïdes alimentaires", Ed. Masson, Paris (1996).
10. Van Aken, G.A., Zoet, F.D., "Coalescence in highly concentrated coars emulsions", Langmuir, V.16, (2000), 7131-7138.
11. Nylander, T., Wahlgren, N.M., "Forces between adsorbed layers of β - casein", Langmuir, V.13, (1997), 6219-6227.
12. Dickinson, E., Ritzoulis, C., Povey, M.J.W., "Effect of monoglycerides and diglycerol-esters on viscoelasticity of heat-set whey protein emulsion gels", J. Colloids Interface Sci., V. 34, (1999), 212- 466.
13. Hunt, A., Dalgleish, D.G., "The effect of the presence of KCl on the adsorption behaviour of whey protein and caseinate in oil-in-water emulsion", Food Hydrocolloids, V.10, (1996), 159-165.

14. Dickinson, E., Golding, M., "Influence of calcium ions on creaming and rheology of emulsions containing sodium caseinate". *Colloids Surf A*, V. 144, (1998), 167 - 177.
15. Tadros, T.F., Vincent, B., "Emulsion stability", In *Encyclopedia of emulsion technology*, Ed. Marcel Dekker, New York (1983) 57 p.
16. Dickinson, E., Pinfield, V.J., Herne, D.S., Leermarkers, F.A.M., "Self-consistent-field modelling of adsorbed casein: interaction between two protein-coated surfaces", *J. American. Chem. Soc.*, V.93, (1997), 1785-1790 .
17. Pore, J., "Les dispersions aqueuses, Suspensions, Emulsions, Mousses '", Ed. Le Cuire, Paris (1978).
18. Kozo, K., Wasan, A., Borwankar, D., and Gonsalves, A., "Layering of sodium caseinate submicelles in thin liquid films-A new stability mechanism for food, dispersion", *Colloid Interface Sci.*, V. 178, (1996), 694-697.
19. Ackerson, B., and Clark, A., "Shear-induced melting", *Phys. Review Letters*, V.46, n°2, (1981), 123-130.
20. Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P.A. , "The effect of Sodium Chloride on the formation and stability of Sodium caseinate emulsions", *Food Hydrocolloids*, V.14, (2000), 497-507.
21. Srinivasan, M., Singh, H., & Munro, P.A., "Sodium caseinate-stabilized emulsions: Factors affecting coverage and composition of surface proteins", *J. Agric. Food Chem.*, V.44, (1996), 3807-3811.
22. Srinivasan, M., Singh, H., and Munro, P.A., "Adsorption behaviour of sodium and calcium caseinates in oil-in-water emulsions, *Int. Dairy J.*, V. 9, (1996), 337-341.
23. Dickinson, E., Golding, M., Povey, M.J.W., "Creaming and flocculation of oil-in-water emulsion containing Sodium caseinate", *J. colloids Interface Sci.*, V.185, (1997), 515-529 .
24. Reiffers-Magnani, C.K., Cuq J.L., Watzke, H.J., "Depletion flocculation and thermodynamic incompatibility in whey protein stabilized O/W emulsions". *Food Hydrocolloids*, V. 14, (2000), 521-530.
25. Syrbe, A., Bauer, W.J., and Klostermeyer, H., "Polymer science concepts in dairy systems- an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction", *Int. Dairy J.*, V.8, (1998), 179-193.
26. Derjaguin, B., Landau L., "Theory of the Stability of Strongly Charged Lyophobic Sols and of the Adhesion of Strongly Charged Particles in Solutions of Electrolytes". *Acta Physicochim.*, V.11, (1941), 802.
27. Tolstogulzov, V.B., "Functional properties of food protein. Role of protein polysaccharides interactions", *Food Hydrocolloids* , V.4, (1991), 429-468.
28. Kruif, C.G., Tuinier, R., "Polysaccharide protein interactions", *Food Hydrocolloids*, V.15, (2001), 555-563.

29. Bungembe, de Jong, H.G. , “reversible systemes”, In H.R.Kruyt, Colloid science, Ed. Elsevier, Amsterdam (1949), Chapters 8 and 10.
30. Jeyarajah, S., and Allen, J.C., "Calcium binding and salt-induced structural changes of native preheated β -lactoglobulin", J. Agric. Food Chem., V.42, (1994), 80-85.
31. Foegeding, E.A., Kuhn, P.R., and Hardin, C.C.. “Specific Divalent Cation-induced Changes during Gelation of β -Lactoglobulin”, J. Agric. Food Chem., V.40, (1992), 2092-2097.
32. Varfolomeeva. E.P., Grinberg, V.Y. and Tolstogulzov, V.B., “Thermodynamic incompatibility of proteins in aqueous media”, J. Agric. Food Chem., V. 29, (1995), 323-333.
33. Tolstogusov, V.B., Grinberg, V.Y., and Gurov, A.N., ”Physico-chemical modification of food proteins”, Food Hydrocolloids, V.33, (1985), 151-159.
34. Schmidt, D.G.,” Association of casein and casein micelle structure”, In P.E. Fox (Ed.), Development in dairy chemistry, Applied Science Publishers, London (1982), chap 2.
35. Vreeker, R., Hoekstra, L.L., Den Boer, D.C., Agterof, W.G.M., “Fractal aggregation of whey proteins”, Food Hydrocolloids , V.6 ,(1992), 423 – 435.
36. Damodaran, S., & Kinsella, J. E.,” Effects of ions on protein conformation and functionality”, In J.P. Cherry (Ed.), Food protein deterioration, ACS Symposium Series, V.206, (1982), 328–357.
37. Marangoni, F., Agostoni, C., “Polyunsaturated fatty acid concentrations in human hindmilk are stable throughout 12-months of lactation and provide a sustained intake to the infant during exclusive breastfeeding: an Italian study”, Br. J. Nutr., V.84, n°1, (2000), 103-119.
38. Dickinson, E., ”Emulsions in food", Annual reports in the progress of Chemistry, Royal Society of Chemistry Ed., London (1986), 31 p.
39. Dickinson, E. and Euston, S.R., “Stability of food emulsions containing both protein and polysaccharide. In food polymers. Gels and colloids”, Royal Society of Chemistry Ed., Cambridge (1991), 132 p.
40. Dickinson, E., “Competitive adsorption and protein-surfactant interactions in oil-in-water emulsion”, ACS Series, V.448, (1991), 114-120.
41. Dickinson, E., Semenova Maria, G., Antipova Anna, S., “Salt stability of caseine emulsions”, Food hydrocolloids, V. 12, (1998), 227-235.
42. Casanova, H. and Dickinson, E., “Influence of Protein Interfacial Composition on Salt Stability of Mixed Casein Emulsions”, J. Agric. Food Chemmm, V.46, (1998), 72- 76.

43. Van De Ven, T.G.M., "Retarded van der Waals forces between triblock-coated latex spheres", *Langmuir*, V.12, (1996), 5254-5260.
44. Casanova, H., Chen, J., Dickinson, E., Murray, B. S. and Whittle, M., "Dynamic colloidal interactions between protein-stabilised particles - experiment and simulation", *Phys. Chem. J.*, V.2 , (2000), 3861-3869.
45. Dickinson, E., Golding, M. and Povey, M.J.W.," Creaming and Flocculation of Oil-in-Water Emulsions Containing Sodium Caseinate", *J. Colloids Interface Sci.*, V.185, (2000), 515-525.
46. Agboola, S.O., and Dalgleish, D.G., "Calcium-induced destabilisation of oil-in-water emulsions stabilized by caseinate or by β -lactoglobulin" *J. Food Sci.*, V.60, (1995), 399-394.
47. Semenova, M.G., Chen, J., Dickinson, E., Murray, B.S. and Whittle, M.," Sticking of Protein-Coated Particles in a Shear Field, *Colloids Surf B:*, V. 22 , (2001), 237-240.
48. Thongngam, M., Chinaachoti., McClements D.J., "Influence of polysaccharide type on emulsion rheology and stability", IFT Annual Meeting, New Orleans, Luisiana, USA., 51, n° (D5), (2000).
49. Demetriades, K., and McClements, D.J., "Flocculation of Whey protein stabilized emulsions as influenced by dextran sulfate and electrolyte", *J. Food Sci.*, V.64, n° 2, (1999), 206 - 210.
50. Kulmyrzaev, A.A., Schubert, H., "Influence of KCl on the physicochemical properties of whey protein stabilized emulsions", *J. Food Hydrocolloid*, V.14, (2003) 1-7.
51. Ye, A., & Singh,H., "Influence of calcium chloride addition on the properties of emulsions stabilized by whey protein concentrate", *Food Hydrocolloids*, V.14, (2000), 337-346.
52. Keowmaneechai, E. et McClements, D.J., "Effect of CaCl_2 and KCl on physicochemical properties of model nutritional beverage based on whey protein stabilized oil-in water emulsions", *J. Food Sci.*, V. 67, n° 2, (2002), 120-125.
53. Dickinson E., "Aggregation process, particle interactions and colloid structure. In E. ; Dickinson and B Bergenstahl, *food colloids : proteins, lipids and polysaccharide*", Cambridge, Royal Society of Chemistry Ed., Cambridge (1997), 107-126.
54. Cao, Y., Dickinson, E., Weldlock, D.J., "Influence of polysaccharides on the creaming of casein-stabilized emulsions", *Food Hydrocolloids*, V.5, (1991), 443-454.
55. Florence, A.T., Attwood D., "Physicochemical principales of pharmacy", MAC Millan press, London, (1988), 229-278.

56. Daniel, J.C., Audebert, R., "Petits volumes et grandes surfaces, Univers des colloïdes", Edited by M. Daoud et al., Les Ulis, Paris, (1995), 85-133 P.
57. Ottewill, R.H., "Colloids and interfaces". *J. Colloids Interface Sci.*, V.58, (1977), 357-380.
58. Perrin, R., Scharff, J.P., "Chimie industrielle", Ed. Masson, Paris (1999).
59. Depraeter, P., "Etude du potentiel zêta des émulsions", Thèse Doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Caen (1980).
60. Couarraze, G., Grossiord, J.L., "Initiation à la rhéologie", Tec&Doc, Ed. Lavoisier, (1987).
61. Kherfella, N., "Caractérisation rhéologique d'une substance complexe en régime dynamique", Thèse Magister, USTHB (1998).
62. Hadj-Sadok, A., "Comportement rhéologique des fluides complexes", Thèse Magister, USTHB (1993).
63. Bingham, E .C., "Fluidity and plasticity", Mac Graw Hill Ed., NY. (1922).
64. Midoux, N., "Mécanique et rhéologie des fluides en génie chimique", Ed. Lavoisier, Paris (1988).
65. Carrot, C., Guillet, J., "Viscoélasticité linéaire des polymères fondus", Techniques de l'Ingénieur, Traité Plastiques et Composites, V. AM, AM 3 620 (1999).
66. Steffe, J.F., "Rheological Methods in Food Process Engineering", Freeman Press, NY, (1996).
67. Chen, J., Dickinson, E., "On the temperature reversibility of the viscoelasticity of acid-induced sodium caseinate emulsion gels", Ed. Elsevier, Amsterdam (2001).
68. Dickinson, E., Golding, M., "Rheology of sodium caseinate stabilized oil-in-water emulsions", *J. Colloids Interface Sci.*, V.191, (1997), 166-176.
69. Hallberg, D., Wessal, J., "The electron-microscopic investigation of chylomicrons and fat emulsion for intravenous use", *Acta Chir. Scand. Suppl*, V.23, (1964), 325-332.
70. Dickinson, E., "Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion stability and rheology", *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, V.20, (2001), 197-210.
71. Keowmaneechai, E. McClements, D.J., "Effect of CaCl₂ and KCl on physicochemical properties of model nutritional beverages based on whey protein stabilized oil-in-water emulsions", *J. Food Sci.*, V.67, n° 2, (2002), 665-671.
72. Hemar, Y., Horne, D.S., "Dynamic rheological properties of highly concentrated protein-stabilized emulsions", *Langmuir*, V.16, (2000), 3050-3057.

73. García-Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J. A., Gomez, E.,” Xanthan gum: production, recovery, and properties, *Biotechnology Advances*“, V.18, n° 7, (2000), 549- 579.
74. Mezger, T.G., “The Rheology Handbook”, Hannoprint, Hannover, Germany, (2002).
75. Hemar Y., Tamehana M., Munro P.A., Singh H. “Influence of xanthan gum on the formation and stability of Sodium caseinate oil-in-water emulsions“, *Food Hydrocolloids*, V.15, (2001), 513-519.
76. Schimmerling P., Sisson J. C., Zaidi A., “Pratique des plans d’expérience“, Edition Lavoisier, Paris (1998).
77. Hadj-Sadok, A., Benhadid, S., Wang, X., Lucius, M., Stoltz, J.F., “Application au sang d’une relation de Casson généralisée : Comparaison avec différents modèles“, *Les Cahiers de Rheologie*, V.12 , n° 2, Juin (1994).
78. Dickinson, E., “Emulsion stabilization by polysaccharides and protein-polysaccharides complexes”, In A.M. Stephen, *Food polysaccharides and their applications* New York: Marcel Dekker Inc, (1995), 501-515.