

### Stabilisation et caractérisation des émulsions eau dans eau stabilisées par des polysaccharides linéaires Lingsam Tea

#### ▶ To cite this version:

Lingsam Tea. Stabilisation et caractérisation des émulsions eau dans eau stabilisées par des polysaccharides linéaires. Polymères. Le Mans Université, 2020. Français. NNT : 2020LEMA1018 . tel-03052646

#### HAL Id: tel-03052646 https://theses.hal.science/tel-03052646

Submitted on 10 Dec 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.





## THESE DE DOCTORAT DE

#### LE MANS UNIVERSITE

COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 596 *Matière, Molécules, Matériaux* Spécialité : *Chimie et physico-chimie des polymères* 

Par

### Lingsam TEA

# Stabilisation et caractérisation des émulsions eau dans eau stabilisées par des polysaccharides linéaires

Unité de recherche : Institut des molécules et des matériaux du Mans UMR 6283 Thèse N° : 2020LEMA1018 Thèse soutenue le 28 octobre 2020, 10h, salle IAM

#### Rapporteurs avant soutenance :

Camille MICHON Isabelle CAPRON Professeur Directrice de recherche AgroParisTech INRA Nantes

#### **Composition du Jury :**

Président : Examinateurs :

Dir. de thèse : Taco NICOLAI Encadrant de thèse : Frédéric RENOU

Luc PICTON Isabelle CAPRON Camille MICHON Jacques DESBRIERES Taco NICOLAI Frédéric RENOU ProfesseurUniversitédeRouenDirectrice de rechercheINRA NantesProfesseurAgroParisTechProfesseurUniversité de Pau et des pays de l'AdourDirecteur de rechercheLe Mans UniversitéMaître de conférencesLe Mans Université



Titre : Stabilisation et caractérisation des émulsions eau dans eau stabilisées par des polysaccharides linéaires.

**Mots clés :** Emulsion eau dans eau, stabilisation, chitosan, polysaccharides, séparation de phase, structure

#### Résumé :

Une émulsion est formée par le mélange de deux liquides non miscibles avec des gouttelettes d'une phase dispersées dans l'autre phase. Lorsque deux solutions aqueuses de polymères hydrosolubles incompatibles sont mélangées, on forme une émulsion eau dans eau. Comme toute émulsion, les émulsions eau dans eau sont thermodynamiquement instables et tendent vers une séparation de phase macroscopique par la coalescence des gouttelettes. Leur stabilisation représente donc un enjeu académique mais également industriel.

Les émulsions eau dans eau ne peuvent pas être stabilisées contre la coalescence par des tensioactifs du fait de leur très faible tension interfaciale (1-10-3 mN/m) et leur interface épaisse (jusqu'à plusieurs dizaines de nanomètres). En revanche, elles ont pu être stabilisées en gélifiant une des phases ou par l'ajout des particules (effet Pickering).

L'objectif de ce travail de thèse est de stabiliser les émulsions eau dans eau par l'ajout des polymères. Une émulsion modèle à base de PEO et de dextran est utilisée pour cette étude. Parmi la vingtaine de polymères testés, seuls trois ont montré la capacité de stabiliser ces émulsions : le chitosan, le diethylaminoethyl dextran (DEAED) et le propylene glycol alginate (PGA).

Il ressort de cette étude, que les polymères stabilisant les émulsions PEO-dextran doivent présenter à la fois un caractère ionique et légèrement hydrophobe.

Les interactions entre ces polymères et le PEO ou le dextran ont été investiguées par diffusion de la lumière et la microstructure des émulsions a été étudiée par microscopie confocale. Les effets du pH, de la force ionique, de la tension interfaciale et de la concentration de polymère ont été identifiés pour mieux comprendre les mécanismes de cette stabilisation. Les émulsions ont été également caractérisées de manière approfondie à l'aide d'une centrifugeuse analytique (suivi de la turbidité au cours du temps) et par rhéologie. Enfin, le chitosan a été modifié chimiquement pour faire varier le degré d'acétylation et ainsi changer le taux de charge et de groupements hydrophobes afin d'appréhender l'impact de ces deux paramètres sur la stabilité des émulsions étudiées.

Ces additifs agissent en ralentissant la coalescence, ils se trouvent alors nécessairement à l'iinterface. Les additifs polymères permettant de stabiliser les émulsions doivent porter des charges et des groupements hydrophobes. De plus, l'additif polymère doit présenter une masse molaire suffisante.



Title : Stabilization and characterization of water-in-water emulsions stabilized by linear polysaccharides.

**Keywords :** water-in-water emulsion, stabilization, chitosan, polysaccharides, phase separation, structure

#### Abstract :

Emulsions are formed when two non-miscible liquids are mixed. The most known are oil-water emulsions (eg cosmetic cream, mayonnaise), but it also is possible to make other types of emulsions such oil-oil or water-water (W/W) emulsions. To obtain the latter, two aqueous solutions of incompatible polymers are mixed. In order to use these kinds of emulsions for instance in the food industry, one needs to stabilize them. Unlike oilwater emulsions, the use of molecular surfactants to stabilize W/W emulsions is not possible, because they have a very low interfacial tension and a broad interface.

Stabilization of W/W emulsions is studied in the literature, mainly by gelling of the continuous phase, or by using particles as interface stabilizers, the so-called Pickering effect. In this study, the objective was to stabilize W/W emulsions by polymers that have some affinity with both phases and locate at the interface. For that purpose, we used a model emulsion made of PEO (P) and dextran (D) as incompatible polymers. It was found that out of 20 polymers tested, mainly polysaccharides, only three show a stabilizing effect of emulsions: chitosan, diethylaminoethyl dextran (DEAED) and propylene glycol alginate (PGA). It seems that stabilizing polymers have to exhibit both ionic and slightly hydrophobic character.

Interactions of these polymers with PEO and dextran were investigated with light scattering and the microstructures of emulsions were studied by confocal laser scanning microscopy. The effects of pH, ionic strength, interfacial tension and polymer concentration were studied to understand mechanism of stabilization. Emulsions were also characterized by different techniques and especially LUMisizer©, LUMiReader©, to follow turbidity as a function of time, and rheology. Chemical modifications of chitosan were carried out to vary the amount of charges and hydrophobic groups. Subsequently, the effect of these modifications on the stability of the emulsions was investigated.

# Liste des symboles utilisés

- v : vitesse de sédimentation/crémage
- g : accélération de la pesanteur
- $\Delta \rho$  : différence de densité
- r : rayon des gouttelettes
- $\eta_c$ : viscosité de la phase continue
- L : longueur de l'axe sous déformation
- L<sub>0</sub> : longueur de l'axe sans déformation
- t : temps
- $\tau$ : temps de relaxation
- $\tau_{ca}$ : temps capillaire
- K : rapport de la viscosité de la phase dispersée et de la phase continue
- $\Gamma$ : tension interfaciale
- TLL : longueur du segment conjugué
- D/P : émulsion dextran dans PEO
- P/D : émulsion PEO dans dextran
- D : déformation à laquelle la gouttelette se casse
- Ca : nombre capillaire
- $\dot{\gamma}$ : le taux de cisaillement
- $\Phi$ : fraction volumique de phase dispersée
- η<sub>0</sub>: viscosité Newtonienne
- η<sub>d</sub>: viscosité de la phase dispersée
- $\eta$  : viscosité sous cisaillement
- I<sub>r</sub>: intensité relative
- Isolvant : internsité diffusée par le solvant
- Itoluene : internsité diffusée par le toluène
- Mw: masse molaire en poids
- S(q) : facteur de forme
- C : concentration massique

 $N_a$ : nombre d'Avogadro  $(\partial n / \partial C)$ : incrément d'indice de réfraction  $R_{toluène}$ : la constante de Rayleigh du toluène Rg: rayon de giration q: vecteur de diffusion  $l_c$ : longueur capillaire x: distance de la paroi h: hauteur de l'interface sur la paroi z: hauteur de l'interface

# Abréviations

PEO : polyoxyde d'éthylène PGA : propylène glycol alginate DEAED : dietylaminoethyl dextran FITC : fluorescéine isothiocyanate RITS : rhodamine isothiocyanate RMN : résonance mégnétique nucléaire HPMC : hydroxymethyl propyl cellulose KC : κ-carrageenan DA : degré d'acétylation PMMA : polymethacrylate de méthyle

#### Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier mon directeur de thèse, Taco NICOLAI, et mon encadrant de thèse, Frédéric RENOU pour ces trois années de thèse. Je les remercie pour l'aide qu'ils m'ont apportée durant nos discussions passionnées, qui m'ont permis de progresser et d'apprendre tous les jours. Je les remercie également pour leur disponibilité au quotidien, ce qui m'a permis de poser mes nombreuses questions.

Je remercie Je remercie Camille MICHON et Isabelle CAPRON d'avoir accepté de rapporter ce travail de thèse. Je remercie aussi Luc PICTON, avec qui j'ai eu mes premiers cours de chimie des polymères, et Jacques DESBRIERES d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je remercie aussi toute l'équipe PCI, au sein de laquelle j'ai passé ces trois ans. Boris et Cyrille pour leur aide sur la SEC et les rhéomètres respectivement, mais surtout leur contribution aux mots-croisés que nous n'aurions jamais pu finir sans eux. Je remercie Frédérick de m'avoir formé sur le microscope confocal et nos discussions sur les jeux de sociétés. Merci à Erwan et Olivier pour tous les conseils quand j'essayais de synthétiser mon copolymère et les discussions du midi. Je remercie enfin Lazhar et Christophe pour leurs aides sur la rhéologie et la diffusion de la lumière, et leur écoute et conseils dispensés au cours des « Biopolymer club ».

Je tenais à remercier tout particulièrement Thomas, qui m'a soutenu tout au long de cette thèse. Merci de m'avoir suivie, encouragée, remotivée et supportée durant ces trois années. Je souhaiterais également remercier Chopin pour sa présence à mes côtés, surtout lors de la rédaction de ce manuscrit.

Je remercie Justine, Florent et Théo pour nos discussions au début de ma thèse, et nos soirées jeux. Merci à toutes les personnes que j'ai côtoyées au cours de ces trois années, doctorants, post-doctorants et étudiants de master sans qui la vie au laboratoire serait bien triste.

Enfin, je remercie tous les membres de l'équipe PCI et du Laboratoire IMMM dans son ensemble de m'avoir accueillie.

Chapitre 1. Etude bibliographique	
1. Généralités sur les émulsions	16
1.1. Déstabilisation des émulsions	17
1.1.1. Sédimentation et crémage	17
1.1.2. Floculation	18
1.1.3. Coalescence	18
1.1.4. Mûrissement d'Oswald	18
2. Emulsions eau-dans-eau	19
2.1. Paramètres thermodynamique de la séparation de phase ségrégative	
2.2. Propriétés des émulsions eau dans eau	
2.2.1. Epaisseur de l'interface	21
2.2.2. Tension interfaciale	22
3. Stabilisation des émulsions eau dans eau	
3.1. Emulsions eau dans eau stabilisées par effet Pickering	
3.1.1. Adsorption des particules à l'interface	25
3.1.2. Morphologie des particules	26
3.1.3. Particules protéines-polysaccharides	27
3.1.4. Système pH-sensibles	29
3.2. Utilisation de polymères à blocs	30
3.3. Utilisation de polyélectrolytes adsorbés à l'interface	
3.4. Emulsion modèle : POE-dextrane	32
4. Rhéologie et morphologies des émulsions	
4.1. Rhéologie d'émulsions eau-huile	
4.1.1. Cisaillement des gouttelettes	34
4.1.2. Cisaillement de mélanges de polymères	36
4.1.3. Courbe d'écoulement des émulsions	37
4.2. Rhéologie des émulsions eau dans eau	
4.2.1. Morphologie des émulsions	38
4.2.2. Ecoulement des émulsions eau dans eau	39

Chapitre 2. Matériels et méthodes

1. Matériels	
1.1. Solutions mères	
1.2. Préparation des émulsions	
2. Méthodes	
2.1. RMN	
2.2. Diffusion de la lumière	
2.2.1. Diffusion de la lumière statique	
2.2.2. Diffusion de la lumière dynamique	
2.3. LUMiSizer®	
2.3.1. Sédimentation de particules	
2.3.2. Etude d'émulsions	
2.3.3. Influence de l'épaisseur du tube	
2.4. Modification chimique du chitosane	
2.4.1. Acétylation	
2.4.2. Désacétylation	
-	

2.5. Rhéologie	58
2.5.1. Caractéristiques de l'appareil	8
2.5.2. Effet de la vitesse de la rampe de taux de cisaillement	1
2.6. Microscopie Confocale	58
2.6.1. Caractéristiques du microscope	8
2.6.2. Marquage des additifs polymeres par des fluorophores	
2.6.3. Observation des échantillons à courts et longs temps	1
2.7. Rhéologie confocale	59
2.8. Tension interfaciale	61

Chapitre 3. Stabilisation des émulsions eau dans eau par des polymères commerciaux	en solution.
Introduction	66
1. Etude phénoménologique	67
1.1. Effet du type d'additif polymère	67
1.1.1. Stabilisation des émulsions POE-dextrane	8
1.1.2. Taille des gouttelettes au temps initial	)
1.1.3. Suivi de la taille des gouttelettes au cours du temps	1
1.2. Viscosité des émulsions	72
1.3. Effet du pH	75
1.4. Effet de la concentration du polymère ajouté	77
1.5. Effet de NaCl	
1.6. Effet de la dilution	80
1.7. Effet de l'inversion de phase	82
2. Mécanisme de la stabilisation	83
2.1. Partition de l'additif polymère dans les phases POE et dextrane	84
2.2. Interaction entre le polymère et le POE ou le dextrane	88
Conclusion	

#### Chapitre 4. Etude quantitative de la stabilisation par le chitosane

Introduction	
1. Etude des profils de transmittance	
2. Analyse des profils de transmittance	101
2.1. Etude du suivi du front de sédimentation et de la formation de la couche conti	nue de la phase
dispersée	101
2.2. Evolution de la transmittance à des positions fixes en fonction du temps	104
3. Résultats et discussion	105
3.1. Influence de la concentration de chitosane	105
3.2. Influence du pH	108
3.3. Influence de la vitesse de centrifugation	110
Conclusion	116

Chapitre 5. Impact de la masse molaire et du degré de substitution du chitosan sur la stabilité des émulsions eau dans eau.

Introduction	
1. Echantillons commerciaux de chitosan	119
1.1. Stabilité des émulsions D/P à pH 5 avec chitosan à 1 g/L	119

1.2. Effet de la concentration en chitosan	121	
1.3. Effet du pH	124	
2. Modification chimique du chitosan : effet du degré d'acétylation et de la mass	se molaire	126
2.1. Acétylation	126	
2.2. Désacétylation	128	
2.3. Réacétylation	129	
Conclusion		0

Chapitre 6. Viscosité et morphologie des émulsions eau dans eau non stabilisées et stabilisées par différents biopolymères 2. Emulsions stabilisées par des polysaccharides ...... 149 2.3. Influence de la concentration en polymère ajouté ...... 155 3. Emulsion D/P stabilisée par des microgels de protéines (WPI) ...... 158 

Conclusion générale 166

### Introduction

Les émulsions sont utilisées dans de nombreux domaines comme l'agroalimentaire (lait, mayonnaise, vinaigrette, crème glacée, ganaches), la pharmaceutique (vectorisation de principes actifs), ou encore la cosmétique (crèmes cosmétiques). Elles sont formées en mélangeant deux liquides non miscibles. On obtient alors une dispersion de gouttelettes de l'un des liquides dans une phase continue du second liquide. Ces émulsions étant instables par nature, il est indispensable de les stabiliser pour leur utilisation afin de conserver leurs propriétés de textures, notamment.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux émulsions eau dans eau. Ces émulsions se forment quand deux solutions aqueuses de polymères hydrosolubles incompatibles sont mélangées. De la même manière que pour les émulsions eau-huile, des gouttelettes de l'une des phases sont dispersées dans la seconde. Comme toutes les émulsions, elles sont instables, du fait de la tension interfaciale. Elles tendront donc à se séparer de phase afin de minimiser la surface de contact entre les deux liquides non miscibles. La stabilisation des émulsions eau dans eau représente un enjeu fondamental ouvrant des perspectives d'applications.

Des particules ont, depuis plus d'un siècle, démontré une capacité à stabiliser les émulsions eau-huile. Plus récemment, il a également été montré que des particules étaient également capables de stabiliser les émulsions eau dans eau. Ces particules se placent à l'interface entre les deux liquides non miscibles, et stabilisent l'émulsion en empêchant stériquement le contact entre les deux phases incompatibles et donc de limiter leur coalescence.

L'objectif de ce travail de thèse est le développement d'une nouvelle méthode de stabilisation de l'interface des émulsions eau dans eau par l'ajout de polymères, la compréhension du mécanisme de stabilisation et l'étude du comportement sous cisaillement.

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique des émulsions en général et plus particulièrement des émulsions eau dans eau et des généralités sur leurs propriétés. Les différentes méthodes de stabilisation des émulsion eau dans eau décrites dans la littérature sont ensuite présentées ainsi que le comportement rhéologique des émulsions eau dans eau. Le second chapitre est consacré aux matériels et méthodes utilisés dans les chapitres suivants.

Le chapitre 3 présente la première étude de stabilisation des émulsions eau dans eau par des polysaccharides commerciaux. L'étude de ces émulsions stabilisées en fonction du type de polymère stabilisant, du pH, de la force ionique et la tension interfaciale est réalisée afin de mieux comprendre les mécanismes de la stabilisation.

L'étude quantitative de la déstabilisation des émulsions stabilisées par le chitosane a ensuite été menée à l'aide d'une centrifugeuse analytique dans le chapitre 4. Le suivi quantitatif a permis de mettre en évidence la coexistence de différents mécanismes de déstabilisation ; la coalescence et la sédimentation (ou le crémage) et ainsi mieux comprendre la stabilisation de ces émulsions.

L'effet de la masse molaire et du degré d'acétylation du chitosane est ensuite présenté dans le chapitre 5. L'impact de ces paramètres sur la stabilisation des émulsions par le chitosane est étudié et les critères que doivent remplir les additifs polymères pour stabiliser les émulsions eau dans eau sont déterminés.

Le sixième chapitre est consacré à l'étude de la viscosité et la morphologie des émulsions eau dans eau au repos et sous cisaillement. Les comportements des émulsions non stabilisées et stabilisées sont comparés.

Une conclusion reprendra les principaux résultats de ce manuscrit et des perspectives seront proposées pour la poursuite ce travail.

#### Chapitre 1. Etude bibliographique

1.	Géné	ralités sur les émulsions	16
1	l.1. D	Déstabilisation des émulsions	17
	1.1.1.	Sédimentation et crémage	17
	1.1.2.	Floculation	18
	1.1.3.	Coalescence	18
	1.1.4.	Mûrissement d'Oswald	18
2.	Emul	sions eau-dans-eau	19
2	2.1. P	aramètres thermodynamique de la séparation de phase ségrégative	20
2	2.2. P	ropriétés des émulsions eau dans eau	21
	2.2.1.	Epaisseur de l'interface	21
	2.2.2.	Tension interfaciale	22
3.	Stabi	lisation des émulsions eau dans eau	24
2	3.1. E	mulsions eau dans eau stabilisées par effet Pickering	25
	3.1.1.	Adsorption des particules à l'interface	25
	3.1.2.	Morphologie des particules	26
	3.1.3.	Particules protéines-polysaccharides	27
	3.1.4.	Système pH-sensibles	29
2	3.2. U	Itilisation de polymères à blocs	30
2	3.3. U	Itilisation de polyélectrolytes adsorbés à l'interface	31
2	3.4. E	mulsion modèle : POE-dextrane	32
4.	Rhéo	logie et morphologies des émulsions	34
2	4.1. R	héologie d'émulsions eau-huile	34
	4.1.1.	Cisaillement des gouttelettes	34
	4.1.2.	Cisaillement de mélanges de polymères	36
	4.1.3.	Courbe d'écoulement des émulsions	
Z	4.2. R	héologie des émulsions eau dans eau	

4.2.1.	Morphologie des émulsions	38
4.2.2.	Ecoulement des émulsions eau dans eau	39

# Chapitre 1. Etude bibliographique

#### 1. Généralités sur les émulsions

Les émulsions sont des mélanges de liquides non miscibles. Deux phases peuvent être distinguées, la phase continue (dispersante) et la phase dispersée qui forme des gouttelettes<sup>1</sup>. Dans de nombreux cas, les émulsions sont composées d'une phase aqueuse et d'une phase huileuse. Les émulsions huile dans eau sont couramment appelées émulsions directes et les émulsions eau dans huile sont appelées émulsions inverses. Des émulsions multiples peuvent également être formées, par exemple les émulsions eau dans huile dans eau (W/O/W) ou huile dans eau dans huile (O/W/O).

Les émulsions sont utilisées dans de nombreux domaines tels que l'industrie cosmétique, l'industrie pharmaceutique, ou encore l'industrie agroalimentaire<sup>2</sup>. La modulabilité des caractéristiques rhéologiques des émulsions, les rend aptes à être utilisées dans différentes applications. Par exemple, pour un système donné, la variation de la fraction volumique de phase dispersée contribue à l'évolution de la viscosité de l'émulsion. Les vinaigrettes coulent facilement (les gouttelettes sont dispersées dans une grande quantité de phase continue) quand la mayonnaise ne flue, les gouttelettes étant bloquées les unes par les autres (la fraction de phase dispersée étant très élevée).

Les émulsions sont thermodynamiquement instables et ne sont pas des systèmes à l'équilibre. Les deux liquides vont tendre à se séparer afin de limiter leur surface de contact du fait de la tension interfaciale<sup>1</sup>. Les émulsions peuvent évoluer de différentes manières, par sédimentation, crémage, floculation ou encore par coalescence ou mûrissement d'Oswald (figure 1).



Figure 1. Différentes évolutions d'une émulsion avec le temps. La sédimentation et le crémage se produisent toujours.

#### 1.1. Déstabilisation des émulsions

#### 1.1.1. Sédimentation et crémage

La sédimentation est le déplacement des gouttelettes soumises à la gravité vers le bas. Les gouttelettes de phase dispersée sont plus denses que la phase continue. Dans le cas où les gouttelettes sont moins denses que la phase continue, elles migreront vers le haut, il s'agit du crémage. Une couche de la phase continue sans gouttelettes se forme en haut dans le cas de la sédimentation et en bas en cas de crémage. La vitesse (v) de sédimentation ou de crémage peut facilement être calculée, en utilisant la loi de Stokes<sup>3</sup> (équation 1) :

$$v = \frac{g\Delta\rho 2r^2}{9\eta} \tag{1}$$

g est l'accélération de la pesanteur,  $\Delta \rho$  est la différence de densité entre les deux phases, r est le rayon de la gouttelette et  $\eta$  est la viscosité de la phase continue. La sédimentation (ou le crémage) peut être ralentie en diminuant la taille des gouttelettes, en augmentant la viscosité de la phase continue ou encore en diminuant la différence de densité entre les deux phases. La gélification de la phase continue ou la présence d'un fluide à seuil d'écoulement peuvent bloquer le mouvement des gouttelettes et ainsi empêcher la sédimentation (ou le crémage).

#### 1.1.2. Floculation

La floculation est due à l'agrégation des gouttelettes sans rupture du film interfacial. Des forces attractives comme celles de Van der Waals et/ou de déplétion maintiennent les gouttelettes entre elles. Les gouttelettes floculées sédimenteront ou crèmeront plus rapidement du fait de l'augmentation de leur taille.

#### 1.1.3. Coalescence

La coalescence est la fusion des gouttelettes qui tendent à réduire leur surface de contact avec la phase continue du fait de la tension interfaciale. Pour coalescer les phases intérieures des gouttelettes doivent se toucher. Pour éviter la coalescence, on peut ajouter des molécules amphiphiles (tensioactifs moléculaires ou polymères) ou des particules qui forment une couche résistante à l'interface (figure 2). Les émulsions stabilisées par des particules sont souvent appelées émulsions Pickering<sup>4, 5</sup>. L'adsorption des particules à l'interface est conditionnée par une diminution de l'énergie libre ( $\Delta G$ ) dépendant de l'angle de contact de la particule à l'interface ( $\theta$ ), du rayon de la particule (r), et de la tension interfaciale ( $\Gamma$ ) :

$$\Delta G = \pi r^2 \Gamma (1 - |\cos \theta|)^2 \tag{2}$$

Pour des particules de taille supérieure à 10 nm, l'adsorption des particules à l'interface est quasi-irréversible, ce qui rend les émulsions Pickering plus stables que celles avec des tensioactifs.



Figure 2. Stabilisation d'émulsions eau-huile par des tensioactifs et des particules.

#### 1.1.4. Mûrissement d'Oswald

Le mûrissement d'Oswald est la migration de la phase dispersée des gouttelettes de petite taille vers les gouttelettes de taille plus importante à travers la phase continue, sans contact entre les gouttelettes. Ce phénomène est régi par la pression de Laplace qui est plus importante quand la gouttelette est de petite taille. Le mûrissement d'Oswald se produit si une faible solubilité de la phase dispersée dans la phase continue existe. Ce phénomène entraîne une homogénéisation de la taille des gouttelettes, qui grossissent, et la disparition des gouttelettes de petite taille<sup>6</sup>.

Le mûrissement d'Oswald peut être limité par l'utilisation d'une phase dispersée insoluble dans la phase continue, ou en ayant des gouttelettes monodisperses.

#### 2. Emulsions eau-dans-eau

Les émulsions eau dans eau sont composées de deux solutions de polymères hydrosolubles mais incompatibles. Les émulsions eau-dans-eau sont observées pour la première fois par Beijerink en 1896<sup>7</sup>. Le biologiste préparait un milieu de culture à base d'amidon et de gélatine. En mélangeant les deux solutions aqueuses de polymères, il observa la formation de gouttelettes. En colorant l'amidon avec de l'iode, Beijerink put décrire pour la première fois une émulsion eau dans eau.

Les émulsions eau dans eau sont formées par deux types de mécanismes différents, séparation de phase agrégative ou ségrégative<sup>8, 9</sup>. Le premier cas peut se produire quand deux polymères de charges opposées sont mélangés. Les deux polymères complexent et forment un coacervat. Une phase riche en polymères et une phase appauvrie en polymères sont donc formées. Dans le cas d'une séparation de phase ségrégative, les interactions entre les chaînes de polymère de même type sont favorisées par rapport aux interactions entre les différents polymères. Les séparations de phases ségrégatives sont les cas de figures les plus courants<sup>10, 11</sup>. Nous nous intéresserons uniquement à la séparation de phase par ségrégation.

Une compétition entre l'entropie de mélange et l'enthalpie entraîne une cosolubilité à faible concentration de polymères. Quand la concentration en polymère augmente, l'enthalpie l'emporte, la binodale est franchie, et un système biphasique est alors formé<sup>12, 13</sup>. La séparation de phase induite par une incompatibilité thermodynamique est très fréquente<sup>14</sup> et plus d'une centaine de systèmes d'émulsions eau dans eau formées par des mélanges de polysaccharides-protéines ont été décrits par Grinberg et Tolstoguzov<sup>11</sup>. Ce comportement semble ubiquitaire pour les mélanges de solutions aqueuses de polymères. En effet, même des polysaccharides de nature chimique très proches tels que le dextrane et le pullulane se séparent de phases si les concentrations en polymères sont suffisamment élevées. La séparation de phases d'un mélange

d'un polymère neutre et d'un polyélectrolyte est inhibée par l'entropie de mélange des contreions mais est par conséquent favorisée par l'ajout du sel<sup>8</sup>.

La séparation de phase se produit typiquement à une concentration massique de quelques dizaines de grammes par litre. Ces concentrations varient en fonction de la chimie des polymères et de leur masse molaire. La séparation de phase se produira à plus faible concentration pour une masse molaire plus élevée du fait de la plus faible entropie de mélange. Les protéines et les polysaccharides ont de fortes probabilités de subir une séparation de phase par ségrégation car leur affinité pour l'eau est très différente<sup>11, 15</sup>.

Les interactions entre les deux polymères incompatibles peuvent être influencées par le pH et la force ionique si au moins l'un des polymères porte des charges. La présence de sel peut jouer un rôle important, en écrantant les charges, la répulsion entre les polymères chargés est diminuée ce qui peut entraîner la séparation de phase. La température peut également modifier le diagramme de phase en changeant la qualité du solvant.

#### 2.1. Paramètres thermodynamique de la séparation de phase ségrégative

Le diagramme de phase d'une émulsion eau dans eau (figure 3) est généralement composé d'une courbe séparant la cosolubilité (une phase) et la séparation de phases (deux phases). Cette courbe est nommée la binodale (figure 3). La séparation de phases peut être incomplète c'està-dire qu'une certaine concentration du polymère A reste soluble dans la phase contenant majoritairement du polymère B et inversement. En plus de la binodale, une autre frontière est souvent représentée, la spinodale. Elle représente la limite entre les systèmes instables et métastables.

Les segments conjugués coupent la binodale en deux points correspondant à la composition des phases de l'émulsion. Les systèmes avec des compositions se situant sur un même segment conjugué ont des fractions volumiques différentes mais les phases séparées sont de même composition.<sup>15</sup> La tension interfaciale dépend de la composition, mais est la même sur un même segment conjugué. Lorsque le diagramme de phase d'un système est connu, les fractions volumiques des deux phases composant l'émulsion eau dans eau peuvent être déterminées à partir du ratio des longueurs des segments conjugués par rapport à la composition initiale du mélange.



Figure 3. Diagramme de phase de la gélatine et du maltodextrine. La ligne continue représente la binodale et la ligne en pointillés représente la spinodale et les lignes obliques représentent différents segments conjugués<sup>12</sup>.

Dans le cas des émulsions eau dans eau, la phase avec la fraction volumique majoritaire constitue souvent la phase continue <sup>15, 16</sup>.

#### 2.2. Propriétés des émulsions eau dans eau

#### 2.2.1. Epaisseur de l'interface

La modélisation de la densité de polymère à l'interface dextrane-gélatine a été réalisée par Vis, *et al.* <sup>17, 18</sup> en se basant sur la théorie de Flory-Huggins<sup>19</sup> et de De Gennes<sup>20</sup> (modélisant les polymères en séquence de blobs sans interaction). Elle montre que l'interface a une épaisseur de l'ordre de grandeur de la longueur de corrélation des polymères qui peut être de plusieurs dizaines de nanomètres <sup>17, 21</sup>. Les interfaces eau-huile présentent, quant à elles, une interface de taille de l'ordre de grandeur d'une molécule, soit 0.3nm pour une molécule d'eau. Une concentration minimale en polymères est observable au niveau du milieu de l'interface (figure 4) <sup>22</sup>.



Figure 4. Modélisation de la densité de polymère à l'interface et de l'épaisseur d'une émulsion dextrane-gélatine<sup>17</sup>.

#### 2.2.2. Tension interfaciale

La tension interfaciale étant beaucoup plus faible (trois ordres de grandeur de moins que les émulsions eau-huile) pour les émulsions eau-eau <sup>23-27</sup>, les méthodes de mesures de tension interfaciale utilisées pour les émulsions eau-huile ( anneau de Nouy, plaque de Wilhelmy, tensiomètre à goutte pendante, angle de contact) ne sont pas toujours applicables.

Forticini, *et al*<sup>27</sup>. ont mesuré la tension interfaciale du systèmes POE-dextrane à l'aide d'un tensiomètre à goutte tournante<sup>28, 29</sup> à différentes températures et pour différentes masses molaires. Le tensiomètre à goutte tournante est adapté à des mesures de tensions interfaciales inférieures à 1mN/m. Les valeurs de tension interfaciale obtenues sont comprises entre 0.5 et  $350 \mu$ N/m. La tension interfaciale semble peu affectée par la température mais est très sensible à la masse molaire des polymères et la longueur du segment conjugué considéré.

Il est aussi possible de la mesurer par la relaxation des gouttelettes après déformation<sup>25, 26</sup> ou encore en observant la courbure de l'interface proche d'une paroi<sup>30</sup> (figure 5).



Figure 5. Détermination de la tension interfaciale d'une émulsion eau-eau en suivant la relaxation des gouttelettes après cisaillement<sup>26</sup> (a) et d'après la courbure de l'interface<sup>31</sup>(b).

La longueur du grand axe et du petit axe de l'ellipse sont suivis au cours du temps jusqu'au retour de la gouttelette sphérique<sup>25, 26</sup> :

$$ln\frac{L}{L_0} \propto e^{\frac{-t}{\tau}} \tag{3}$$

L est la longueur de l'axe suivi,  $L_0$  est la longueur de l'axe sans déformation, t est le temps et  $\tau$  le temps de relaxation. Ceci permet l'extraction du temps de relaxation ( $\tau$ ) qui est relié au temps capillaire ( $\tau_{ca}$ ) et le rapport de la viscosité de la phase dispersée sur la viscosité de la phase continue (K).

$$\tau = \tau_{Ca} \times \frac{(19K+16)(2K+3)}{40(K+1)} \tag{4}$$

Le temps capillaire est relié à la tension interfaciale ( $\Gamma$ ) par l'équation suivante :

$$\tau_{Ca} = \frac{\eta_c r}{\Gamma} \tag{5}$$

avec r le rayon de la gouttelette non déformée et  $\eta_c$  la viscosité de la phase continue. En utilisant cette méthode, Balakrishnan, *et al.*<sup>25</sup> ont montré une augmentation de la tension interfaciale de 1µN/m à 100µN/m en augmentant la concentration en polymères des émulsions POE-dextrane. La tension interfaciale varie donc en fonction de la concentration en polymères pour les émulsions eau dans eau. Pour le même système, Gonzalez-Jordan, *et al.*<sup>13</sup> ont déterminé une tension interfaciale de 75µN/m pour une concentration de 82 g/L de POE et de 158 g/L de dextrane. Dans ce cas précis, il a été démontré que la tension interfaciale suivait une loi de puissance avec la longueur des segments conjugués (et donc de la concentration) avec un exposant 3.9.

Buzza, *et al.*<sup>23</sup> ont reporté une tension interfaciale de  $66\mu$ N/m pour une émulsions POE à 60g/L et de dextrane de 80 g/L, Pour des émulsions dextrane-gélatine ou encore gélatine-gomme arabique des tensions interfaciales de  $1\mu$ N/m ont été mesurées<sup>26, 32, 33</sup>. Les émulsions eau-huile ont quant à elles des tensions interfaciales comprises entre quelques mN/m et quelques dizaines de mN/m.

#### 3. Stabilisation des émulsions eau dans eau

Les tensioactifs n'étant pas capable de couvrir l'épaisse interface des émulsions eau dans eau et de s'ancrer à l'interface du fait de la très faible tension interfaciale et de leur petite taille. Ils ne peuvent donc pas stabiliser les émulsions eau dans eau. De plus, la synthèse de diblocs hydrophiles, chacun des blocs ayant une affinité pour l'une des phases, est difficile.

Pour empêcher la coalescence, il est possible de gélifier une des phases <sup>12, 34, 35</sup>. Les émulsions eau dans eau ayant une faible tension interfaciale, les gouttelettes sont facilement déformables et leur gélification sous cisaillement mène d'ailleurs à la formation de gouttelettes anisotropes stables (figure 6). A ce jour, seule l'utilisation des particules permet de stabiliser les émulsions eau dans eau, alors que la phase continue est liquide.



Figure 6. Morphologies de mélanges gélifiés de gellane et  $\kappa$ -carraghénane. Les différentes images sont obtenues après application d'une contrainte (indiquée sur l'image) pendant le refroidissement. Les images mesurent 100µm de large [22].

#### 3.1. Emulsions eau dans eau stabilisées par effet Pickering

Les émulsions Pickering pour les systèmes eau-dans-eau ont été beaucoup étudiées ces dernières années et ont fait l'objet de plusieurs revues récentes<sup>15, 16, 21</sup>.

#### 3.1.1. Adsorption des particules à l'interface

#### 3.1.1.1. Taille des particules

La raison pour laquelle les particules se placent à l'interface entre les phases contenant les deux polymères incompatibles est la même que pour les émulsions eau-huile discuté en haut. Cependant, la tension interfaciale étant faible, les particules doivent être de taille plus importante dans le cas des émulsions eau dans eau pour pouvoir s'adsorber à l'interface (équation 2). Les agrégats de protéines de lactosérum ont montré la capacité à stabiliser différents systèmes d'émulsions eau dans eau dont les émulsions POE-dextrane<sup>36</sup>, amylopectine-xyloglucane<sup>37</sup> ou encore amidon-gomme caroube<sup>38</sup>. Dans leur étude, Nguyen *et al.*<sup>36</sup> ont montré que la taille des particules avait un impact sur la stabilisation. Les particules doivent avoir une taille suffisante pour s'adsorber durablement à l'interface, une taille de particules trop importante est défavorable car pour une même concentration massique les particules plus grosses sont moins nombreuses <sup>36</sup>. Il y avait donc une taille de particules optimale autour de 100 nm.

#### 3.1.1.2. Adsorption et coalescence

Si les interactions entre les particules et chacune des phases est plus favorable que les interactions entre les deux polymères incompatibles, elles forment spontanément une couche autour de la gouttelette. Différentes natures de particules<sup>17, 25, 36-45</sup> ont été utilisées. Cependant, l'adsorption des particules sur la totalité de la surface de la gouttelette ne garantit pas la stabilité des émulsions pour autant<sup>25, 37</sup> (figure 7). Ce comportement diffère de celui des émulsions eau-huile pour lesquelles la formation de la couche de particules à l'interface garantit la stabilisation vis-à-vis de la coalescence.



Figure 7. Particule de latex de  $1\mu m$  à la surface d'une gouttelette de dextrane dans une phase continue de POE (a). Particules se plaçant à l'interface mais n'empêchant pas la coalescence (b)<sup>25</sup>.

Les particules de zéine (protéine du maïs) ont été étudiées à l'interface dextrane/gélatine. L'agrégation des particules après leur accumulation à l'interface<sup>46</sup> et la formation d'un réseau par interaction entre particules à l'interface est le mécanisme proposé. L'agrégation des particules semble être due à de la déplétion<sup>47</sup>. Il est intéressant de noter que les particules préalablement agrégées ne s'adsorbent pas à l'interface. Les particules de zéine migrant à l'interface et formant une couche ne stabilisent pas les émulsions dextrane-gélatine. Cependant, leur présence empêche la dernière étape de la déstabilisation. De très grosses gouttelettes sont formées et restent présentes même après centrifugation à 14000 G. Les particules forment une couche interfaciale résistante à la compression.

#### 3.1.2. Morphologie des particules

L'effet de la morphologie des particules a également été étudié. Différentes morphologies (plaquettes<sup>40, 45</sup>, bâtonnets<sup>41</sup>) ont permis de stabiliser les émulsions eau-dans-eau. Les particules anisotropes semblent stabiliser les émulsions à plus faible concentration que les particules sphériques. Ceci peut s'expliquer par le fait que les particules anisotropes couvrent une plus grande surface pour une même masse. Pour les nanocristaux de cellulose, 0.05% suffisent pour obtenir une émulsion stable<sup>41</sup> et 0.3% pour les plaquettes de poly(lactide)<sup>45</sup>. De plus, pour le dernier cas, il a été montré que des particules de tailles plus importante permettaient une meilleure stabilisation car l'adsorption des particules est plus forte.

Gonzalez-Jordan *et al.*<sup>13</sup> ont agrégé la  $\beta$ -lactoglobuline sous différentes conditions permettant d'obtenir soit des microgels, des agrégats fractals ou des fibrilles de même nature chimique (figure 8).



Figure 8. Utilisation de protéines de  $\beta$ -lactoglobuline pour former des agrégats de différentes morphologies mais de même nature chimique<sup>13</sup>.

Les auteurs constatent que les émulsions POE dans dextrane (P/D) sont mieux stabilisées par les particules que les émulsions dextrane dans POE (D/P) et expliquent ceci par la partition des particules entre les deux phases. Les émulsions sont plus stables quand les particules préfèrent la phase continue à la phase dispersée. Les fractals semble stabiliser les émulsions à plus faible concentration que les fibrilles ou les microgels, les gouttelettes étant de également de plus petite taille. Les fractals étant moins denses, la surface que ces particules couvrent est plus grande pour une même masse<sup>16</sup>.

Les fibrilles stabilisent mieux les émulsions P/D à pH 7 que les fractals, et à pH 3 les fibrilles ne stabilisent pas les émulsions P/D, tandis que la coalescence est fortement ralentie pour les microgels et les fractals. L'influence du pH sur la stabilité peut s'expliquer par une différence de partition des particules, à pH 3, l'excès de particules se place dans la phase POE tandis qu'elle se place dans la phase dextrane à pH 7.

#### 3.1.3. Particules protéines-polysaccharides

#### 3.1.3.1. Complexe protéines-polysaccharides

Les microgels de protéines sont très intéressants pour stabiliser les émulsions eau dans eau dans le domaine agroalimentaire. Cependant, à un pH proche de leur point isoélectrique ( $\approx$  pH 5), les protéines floculent du fait de l'absence de répulsion due aux charges de même signe. Elles ne sont donc pas efficaces pour stabiliser les émulsions à ces pH. En complexant les protéines de lactosérum (WPI) avec un polyélectrolyte anionique (le  $\kappa$ -carraghénane) ou un polyélectrolyte cationique (chitosane) des complexes stables sont formés, entre les pH 4.3 et 5.5 pour le  $\kappa$ -carraghénane, et entre les pH 4.1 et 6.5 pour le chitosane<sup>44</sup>. La complexation de polyélectrolytes avec les microgels de protéines a permis de résoudre le problème d'agrégation au point isoélectrique et permet la stabilisation des émulsions à des pH compris entre 4.5 et 6.5<sup>44</sup>. Les protéines et les polysaccharides chargés peuvent former des complexes globalement chargés. Les émulsions sont alors stabilisées par répulsion électrostatique en plus de la répulsion stérique et la stabilisation des émulsions eau dans eau par des microgels de protéines est possible sur toute la gamme de pH.

#### 3.1.3.2. Microgels de protéines recouvertes de polysaccharides

Des particules hybrides protéines-polysaccharides peuvent être utilisées pour améliorer la stabilisation. Dans une émulsion amylopectine-xyloglucane, les microgels de protéines WPI se partitionnent préférentiellement dans la phase amylopectine. Afin de favoriser la migration des particules à l'interface, les particules de protéines sont recouvertes de xyloglucane (qui forme la phase continue)<sup>37</sup>. De Freitas, *et al.* ont ainsi formé des particules se partitionnant cette foisci préférentiellement dans la phase continue et qui stabilisent les émulsions. La fonctionnalisation de surface des particules permet de favoriser l'adsorption de ces dernières à l'interface et de contrôler leur mouillabilité.

#### 3.1.3.3. Complexe BSA (Sérum bovine albumine)-POE (polyoxyde d'éthylène)

Xue *et al.*<sup>39</sup> ont stabilisé des émulsions POE-dextrane avec des complexes à base d'albumine bovine sérique (BSA) et de POE, la BSA ayant une affinité avec la phase dextrane. L'affinité des particules pour chacune des phases peut être déterminée par l'angle de contact à l'interface. Si l'angle de contact entre la particule et les deux phases est de 90°, elle présente la même affinité pour les deux phases. Si l'angle de contact est différent de 90°, la particules préfère une des phases.

Le greffage de POE sur la BSA permet d'augmenter l'affinité des particules pour la phase POE et obtenir une partition équivalente entre la phase POE et la phase dextrane avec un angle de contact proche de 90 degrés (figure 9). Cet angle de contact permet la stabilisation des émulsions POE dans dextrane tout comme dextrane dans POE.



Figure 9. Complexation de POE et de BSA pour former des particules avec un angle de contact entre le POE et le dextrane de  $90^{\circ 39}$ .

Les auteurs obtiennent des gouttelettes stables mais qui sédimentent très rapidement du fait de la densité des particules ajoutées à l'interface. Pour limiter la sédimentation les auteurs suggèrent de contrôler la taille des greffons de POE du complexe POE-BSA, mais également la masse molaire des polymères constituant les deux phases.

#### 3.1.4. Système pH-sensibles

Il est également possible de moduler la stabilité des émulsions avec des systèmes tels que les microgels de poly(ethyl acrylate-co-methacrylic acid-co-1,4-butanediol diacrylate) (poly(EA-MAA-BDDA)) qui sont très sensibles au changement de pH <sup>42</sup>. Les émulsions sont stables que sur une faible gamme de pH, entre 7 et 7.5. De plus, l'addition de faibles quantités de chlorure de sodium (NaCl) (10mM) suffit à déstabiliser les émulsions en un jour alors qu'elles restent stables plus d'une semaine sans ajout de sel. Les auteurs émettent l'hypothèse que les interactions des particules entre elles et les propriétés mécaniques de la couche à l'interface doivent jouer un rôle majeur dans la stabilisation. En effet, l'ajout de sel écrante les interactions répulsives de ces polyélectrolytes. Ces microgels permettent donc de réaliser des émulsions eau dans eau stimulables.

#### 3.2. Utilisation de polymères à blocs

Par analogie avec les tensioactifs amphiphiles, une méthode serait d'utiliser une macromolécule présentant deux régions, chacune ayant une affinité spécifique pour une des phases. Cette méthode a montré son efficacité pour les émulsions huile dans huile<sup>48</sup>. Ossenbach-Sauter *et al.* <sup>49</sup> présentent pour la première fois une augmentation de la stabilité d'émulsions eau-dans-eau composées de POE et de poly(chlorure de 2-vinylpyridinium) par un copolymère dibloc de ces deux mêmes polymères.

Buzza et al.<sup>23</sup> réalisent la copolymérisation de poly[poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate] (PEGMA), poly (n-butyl methacrylate) (BuMA), and poly[2- (dimethylamino) ethyl methacrylate] (DMAEMA). Les auteurs cherchent à stabiliser une émulsion POE-dextrane. Ce copolymère est sous forme de tribloc. Les blocs PEGMA se partitionnent préférentiellement dans la phase POE et le DMAEMA préfère se partitionner dans la phase dextrane. Le bloc central est hydrophobe. Buzza et al. observent une accumulation des copolymères à l'interface. Leur hypothèse est que les triblocs se placent à l'interface de l'émulsions POE-dextrane dans une structure semblable à un polymersome (figure 10).



Figure 10. Stabilisation d'émulsions eau-eau par un polymère tribloc<sup>23</sup>.

Cependant la présence du bloc hydrophobe en milieu aqueux rend peu probable la formation d'une structure de type polymersome. L'hypothèse plus probable que nous émettons est que les triblocs vont former des micelles, le bloc hydrophobe se trouvant au cœur de la micelle, et celles-ci stabiliseront les émulsions de manière similaire aux émulsions de Pickering<sup>21</sup> (figure 11).



Figure 11. Schéma du mécanisme proposé de la stabilisation des émulsions POE-dextrane par les copolymers triblocs de poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate, de poly(n-butyl methacrylate), et de poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate).

#### 3.3. Utilisation de polyélectrolytes adsorbés à l'interface

Une autre méthode proposée par Tromp *et al.*<sup>50</sup> est d'utiliser un polymère de même nature chimique que celui d'une des phases et de charge opposée à celui contenu dans l'autre phase. Une émulsion dextrane dans gélatine est stabilisée par ajout de dextrane-FITC<sup>50</sup> (figure 12). La FITC possède une fonction carboxylique qui est chargée négativement au-dessus de pH 4.5 tandis que la gélatine utilisée est chargée positivement.



Figure 12. Image confocale montrant l'accumulation du dextrane-FITC à l'interface d'une émulsion dextrane dans gélatine.

On peut observer sur l'image confocale qu'une partie du dextrane-FITC reste dans la phase gélatine. Il est probable que la gélatine et le dextrane-FITC forment des complexes qui adsorbent à l'interface. La variation de la tension interfaciale et la partition théorique en fonction de la quantité de polyélectrolyte (dextra-FITC) ajouté à différentes concentrations de NaCl est également étudiée<sup>50</sup>. L'effet du polyélectrolyte sur la tension interfaciale est faible. Les auteurs en concluent que la stabilisation des émulsions par les polyélectrolytes n'est pas due à une diminution de la tension interfaciale, mais à complexation à l'interface entraînant une gélification interfaciale. Cette barrière formée par complexation serait résistante même à forte concentration de sel d'après les calculs de simulation, ce qui est favorable pour une application dans le domaine de l'agroalimentaire ou pharmaceutique par exemple.

#### 3.4. Emulsion modèle : POE-dextrane

Dans le cadre de cette thèse, nous utilisons une émulsion modèle de POE-dextrane. Cette émulsion a beaucoup été étudiée par le passé<sup>10, 26-29, 51</sup>, le diagramme de phase est donc bien connu <sup>13, 25, 36</sup> (figure 13). Pour de fortes masses molaires, la séparation de phase est complète à faible concentration en polymères ; il n'y a pas de dextrane dans la phase POE et inversement.

La tension interfaciale de ce système a été mesuré par Balakrishnan, *et al*. La dépendance de la tension interfaciale ( $\Gamma$ ) en fonction de la longueur des segments conjugués (TLL) a également été déterminée<sup>25</sup>.

$$\Gamma \propto TLL^{3.9} \tag{6}$$

La tension interfaciale du système POE-dextrane vaut typiquement 75  $\mu$ N/m pour des émulsions situées sur le plus haut segment conjugué de la figure 14 (triangle bleu et carré rouge) et ne vaut plus que 5  $\mu$ N/m pour des émulsions situées sur le troisième segment conjugué (triangle ouvert bleu et carré ouvert rouge).



Figure 13. Diagramme de phase du système dextrane  $(1.6 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1})$  et POE  $(2 \times 10^5 \text{ g.mol}^{-1})^{13}$ .

De plus, ces deux polymères sont neutres et la viscosité des phases peut être facilement modulée en variant la masse molaire des polymères composant les deux phases. La transparence des deux phases après séparation de phase est un atout d'un point de vue expérimental. L'effet de la formation d'une émulsion rend le système turbide, la présence de gouttelettes peut donc être facilement caractérisée visuellement (figure 14). La phase dextrane est plus dense que la phase POE et forme donc la phase inférieure. Toutes ces propriétés font du système POE-dextrane un excellent modèle pour étudier les émulsions eau dans eau.



Figure 4. Emulsions dextrane dans POE et POE dans dextrane turbides en présence de gouttelettes (gauche) et phases transparentes après séparation totale.

#### 4. Rhéologie et morphologies des émulsions

#### 4.1. Rhéologie d'émulsions eau-huile

Il est important de connaître le comportement des émulsions sous cisaillement pour les différentes applications.

#### 4.1.1. Cisaillement des gouttelettes

Grace<sup>52</sup> a étudié l'effet du cisaillement sur la rupture d'une gouttelette isolée. Le taux de cisaillement critique dépend du nombre capillaire (Ca) et du rapport de viscosité entre la phase continue et dispersée (figure 15, équation 8).

Taylor prévoit que les gouttelettes se cassent lorsque les forces visqueuses deviennent importantes devant la tension interfaciale. La déformation à laquelle la gouttelette se casse (D) dépend de Ca et K (équation 7).

$$D \approx \frac{19K+1}{16(K+1)} \times Ca \approx 0.5 \tag{7}$$

La valeur du nombre capillaire présente une valeur minimum proche de 0.5 pour une valeur de K proche de 1 (figure 15)<sup>52</sup>. La rupture des gouttelettes se produit généralement à des valeurs de nombre capillaire comprises entre 0.1 et  $0.5^{53}$ .



Figure 15. Evolution du nombre capillaire en fonction du ration de viscosité de la phase continue sur la viscosité de la phase dispersée<sup>52, 54</sup>.

La déformation et la rupture des gouttelettes sous cisaillement ont été beaucoup étudiées autant par observation directe<sup>55</sup> que par simulation numérique<sup>56</sup> à différents ratios de viscosités, et taux cisaillements.

Quatre grandes catégories de déformations sont définies (figure 16). Lorsque K est très faible, les gouttelettes se déforment et des toutes petites gouttelettes se détachent de la gouttelette principale par les extrémités (figure 16, a5). Si les deux phases sont de même viscosité, la gouttelette s'étire légèrement (figure 16, b4) avant de se casser avec la formation de petites gouttes satellites (figure 16, b4). Avec une phase dispersée légèrement moins visqueuse que la phase continue, la gouttelette est étirée en un long filament à fort cisaillement (figure 16, c4). Enfin, lorsque la viscosité de la phase dispersée est bien plus élevée que celle de la phase continue, les gouttelettes sont très faiblement déformées et ne se cassent pas (figure 16, d).



Figure 161. Schéma de la forme gouttelettes sous cisaillement (cisaillement croissant de gauche à droite). a) eau dans huile silicone  $K=2.10^{-4}$ , b) huile de ricin oxydée dans huile silicone K=1, c) huile de ricin oxydée dans sirop de maïs K=0.7, et d) huile silicone (très visqueuse) dans huile de ricin oxydée K=6.

#### 4.1.2. Cisaillement de mélanges de polymères

Sous cisaillement, les gouttelettes des mélanges de polymères fondus de forte fraction volumique s'étirent et s'alignent dans le sens de l'écoulement. Lorsque le cisaillement est suffisant, la rupture et coalescence des gouttelettes conduit à la formation de filaments.

Le mélanges de polystyrène (PS) et polybutadiène (PB) dans un solvant commun, le dioctylphtalate, a montré la formation de ces filaments<sup>57, 58</sup>. Plus le cisaillement appliqué est fort, plus les filaments sont fins.

Ce comportement a également été observé pour des mélanges de polymères fondus composés de polydiméthylsiloxane (PDMS) dans du polyisobutylène (PIB)<sup>59</sup>. Pour le mélange de polymères fondus de polybutadiène et polyisoprène, la formation des filament se produit à plus faible taux de cisaillement lorsque la phase dispersée est la moins visqueuse<sup>60</sup>.
#### 4.1.3. Courbe d'écoulement des émulsions

La figure 17 montre le comportement typique de la viscosité des émulsions en fonction de la fraction volumique et du taux de cisaillement<sup>61</sup>.



Figure 17. Comportement typique de la viscosité des émulsions en fonction du taux de cisaillement en fonction de la fraction volumique.

Taylor<sup>62</sup> fut le premier à proposer une équation (9) pour prédire la viscosité newtonienne des émulsions ( $\eta_0$ ) en fonction de la fraction volumique de phase dispersée ( $\Phi$ ), et du rapport de viscosité entre la phase continue ( $\eta_c$ ) et dispersée ( $\eta_d$ ) :

$$\eta_0 = \eta_c \left[ 1 + \phi \frac{5K+2}{2K+2} \right] \tag{9}$$

Cependant, cette équation n'est valide que pour de faibles fractions volumiques et ne tient pas compte de l'évolution de la viscosité en fonction du gradient de cisaillement ( $\dot{\gamma}$ ), de la tension interfaciale et de la taille des gouttelettes. Kroy<sup>63</sup> (équation 10) et Frankel *et al.*<sup>64</sup> (équation 11) ont proposés des équations pour intégrer ces paramètres :

$$\eta = \frac{\eta_c}{1 + (\tau \dot{\gamma})^2} \left[ x \left[ \frac{2K + 2 + 3\phi(K + 0.4)}{2K + 2 - 2\phi(K + 0.4)} + \frac{2K + 3 + 3\phi(K - 1)}{2K + 3 - 2\phi(K - 1)} x (\tau \dot{\gamma})^2 \right]$$
(10)

$$\eta = \frac{\eta_c}{1 + (\tau_1 \gamma)^2} * \left[ 1 + \Phi \frac{5K + 2}{2K + 2} + \left( 1 + \Phi \frac{5*(K - 1)}{2K + 3} \right) * (\tau \gamma)^2 \right]$$
(11)

avec

4.

$$\tau = \frac{\eta_c * R}{\Gamma} * \frac{(19K+16)(2K+3-2\Phi(K-1))}{40(K+1)-8\Phi(5K+2)}$$
(12)

Choi et Schowalter<sup>65</sup> proposent également une équation pour modéliser les courbes d'écoulement des émulsions eau dans eau (équation 13).

$$\eta = \eta_c \left[ \frac{1 + h_1 h_2 \dot{\gamma}^2}{1 + h_2^2 \dot{\gamma}^2} \right]$$
(13)

avec

$$h_1 = \tau \left[ 1 + \Phi \frac{5(19K+16)}{4(K+1)(2K+3)} \right] \text{ and } h_2 = \tau \left[ 1 + \Phi \frac{3(19K+16)}{4(K+1)(2K+3)} \right]$$
(14)

# 4.2. Rhéologie des émulsions eau dans eau

#### 4.2.1. Morphologie des émulsions

La microscopie optique permet l'observation de la morphologie des émulsions sans et avec cisaillement, grâce au couplage du microscope avec une cellule de cisaillement. Stokes *et al.*<sup>66</sup> ont montré, du fait de la faible tension interfaciale des émulsions eau-dans-eau, qu'il était possible de contrôler la taille initiale des gouttelettes en fonction du cisaillement appliqué (figure 18).



Figure 18. Taille des gouttelettes après un cisaillement de  $100s^{-1}$  (haut)  $10s^{-1}$  (milieu) et  $1s^{-1}$  (bas)<sup>66</sup>.

cisaillement mais quand ce dernier est arrêté, ils se cassent en petites gouttelettes sous l'effet des instabilités de Rayleigh-Plateau.



Figure 19. Morphologie d'émulsion eau dans eau (dextrane – gélatine) sous un cisaillement de  $1.5 \text{ s}^{-1}$  (a),  $4.5 \text{ s}^{-1}$  (b),  $9 \text{ s}^{-1}$  (c) et  $13.5 \text{ s}^{-1}$  <sup>67</sup>.

Les instabilités de Rayleigh-Plateau sont causées par les perturbations de l'écoulement (figure 20). Ce phénomène mène à la rupture des cylindres en des gouttelettes.



Figure 20. Illustration de l'instabilité de Rayleigh-Plateau.

Tromp, *et al.* ont montré avec un cisaillement continu que les filaments coalescent entre eux dans le temps. A des temps très longs, des bandes peuvent être observées<sup>67</sup>. Ces auteurs ont observé la morphologie des émulsions sous cisaillement, mais n'ont pas comparé les résultats avec le comportement en rhéologie.

## 4.2.2. Ecoulement des émulsions eau dans eau

L'écoulement des émulsions eau-eau a été très peu étudié<sup>54, 67-69</sup>. Wolf *et al.* <sup>69</sup> ont étudié la viscosité sous cisaillement des émulsions composées de gélatine et dextrane. Leurs données expérimentales ont été comparées avec les équations de la littérature et ont montré une bonne

correspondance avec le modèle proposé par Choi et Schowalter<sup>65</sup> à faible cisaillement (équation 13).

Pour les forts cisaillements, ils relient le comportement avec une loi de mélange logarithmique (équation 15) :

$$\log (\eta_c) = \phi \log (\eta_d) + (1 - \phi) \log (\eta_c)$$
(15)

Capron *et al.*<sup>54</sup> ont étudié une émulsion composée d'alginate et de caséinate et ont constaté que l'équation de Kroy<sup>63</sup> (équation 10) permet de prédire la viscosité de l'émulsion en fonction du taux de cisaillement. Cependant les auteurs n'ont pas étudié la morphologie des émulsions sous cisaillement et ont pensé que les gouttelettes se cassaient au-delà d'un taux de cisaillement critique.

A ce jour, les études de la viscosité et la morphologie ont été réalisées séparément. Un des objectifs de ce travail est de comparer les données de viscosité et de morphologie pour le même système et ainsi de mieux comprendre l'effet de cisaillement. De plus, nous avons étudié l'effet de la stabilisation des émulsions sur leur rhéologie et leur morphologie, ce qui n'avait pas encore été rapporté dans la littérature.

1. Lissant, K. J., Emulsification and demulsification—an historical overview. *Colloids and surfaces* **1988**, *29* (1), 1-5.

2. Chappat, M., Some applications of emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **1994**, *91*, 57-77.

3. Stokes, G. G., MATHEMATICAL and PHYSICAL PAPERS vol III. **1901**.

4. Pickering, S. U., Cxcvi.—emulsions. *Journal of the Chemical Society, Transactions* **1907**, *91*, 2001-2021.

5. Binks, B. P., Particles as surfactants—similarities and differences. *Current opinion in colloid & interface science* **2002**, *7* (1-2), 21-41.

6. Taylor, P., Ostwald ripening in emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **1995**, *99* (2-3), 175-185.

7. Beijerinck, M., Über eine Eigentümlichkeit der löslichen Stärke. *Zentralblatt for Bakteriologie, Parasiten und Infektionskrankheiten* **1896**, *2*, 679-699.

8. Piculell, L.; Lindman, B., Association and segregation in aqueous polymer/polymer, polymer/surfactant, and surfactant/surfactant mixtures: similarities and differences. *Advances in Colloid and Interface Science* **1992**, *41*, 149-178.

9. Matalanis, A.; Jones, O. G.; Mcclements, D. J., Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food Hydrocolloids* **2011**, *25* (8), 1865-1880.

10. Kang, C.; Sandler, S., Phase behavior of aqueous two-polymer systems. *Fluid Phase Equilibria* **1987**, *38* (3), 245-272.

11. Grinberg, V. Y.; Tolstoguzov, V., Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in solutions. *Food Hydrocolloids* **1997**, *11* (2), 145-158.

12. Norton, I.; Frith, W., Microstructure design in mixed biopolymer composites. *Food Hydrocolloids* **2001**, *15* (4-6), 543-553.

13. Gonzalez-Jordan, A.; Nicolai, T.; Benyahia, L., Influence of the protein particle morphology and partitioning on the behavior of particle-stabilized water-in-water emulsions. *Langmuir* **2016**, *32* (28), 7189-7197.

14. Semenova, M. G.; Dickinson, E., *Biopolymers in food colloids: Thermodynamics and molecular interactions*. CRC Press: 2010.

15. Dickinson, E., Particle-based stabilization of water-in-water emulsions containing mixed biopolymers. *Trends in food science & technology* **2019**, *83*, 31-40.

16. Esquena, J., Water-in-water (W/W) emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2016**, *25*, 109-119.

17. Vis, M.; Opdam, J.; Van't Oor, I. S.; Soligno, G.; Van Roij, R.; Tromp, R. H.; Erné, B. H., Water-in-water emulsions stabilized by nanoplates. *ACS Macro Letters* **2015**, *4* (9), 965-968.

18. Vis, M.; Peters, V. F.; Tromp, R. H.; Perné, B. H., Donnan potentials in aqueous phase-separated polymer mixtures. *Langmuir* **2014**, *30* (20), 5755-5762.

19. Flory, P. J., *Principles of polymer chemistry*. Cornell University Press: 1953.

20. De Gennes, P.-G.; Gennes, P.-G., *Scaling concepts in polymer physics*. Cornell university press: 1979.

21. Nicolai, T.; Murray, B., Particle stabilized water in water emulsions. *Food Hydrocolloids* **2017**, *68*, 157-163.

22. Tolstoguzov, V. B., Thermodynamic Incompatibility of Food. *Food colloids and polymers: Stability and mechanical properties* **1993**, *113*, 94.

23. Buzza, D. M. A.; Fletcher, P. D.; Georgiou, T. K.; Ghasdian, N., Water-in-Water Emulsions Based on Incompatible Polymers and Stabilized by Triblock Copolymers–Templated Polymersomes. *Langmuir* **2013**, *29* (48), 14804-14814.

24. Vis, M.; Peters, V. F.; Tromp, R. H.; Erné, B. H., Donnan potentials in aqueous phaseseparated polymer mixtures. *Langmuir* **2014**, *30* (20), 5755-5762.

25. Balakrishnan, G.; Nicolai, T.; Benyahia, L.; Durand, D., Particles trapped at the droplet interface in water-in-water emulsions. *Langmuir* **2012**, *28* (14), 5921-5926.

26. Ding, P.; Wolf, B.; Frith, W.; Clark, A.; Norton, I.; Pacek, A., Interfacial tension in phaseseparated gelatin/dextran aqueous mixtures. *Journal of Colloid and Interface Science* **2002**, *253* (2), 367-376.

27. Forciniti, D.; Hall, C.; Kula, M., Interfacial tension of polyethyleneglycol-dextran-water systems: influence of temperature and polymer molecular weight. *Journal of Biotechnology* **1990**, *16* (3-4), 279-296.

28. Bamberger, S.; Seaman, G. V.; Sharp, K.; Brooks, D. E., The effects of salts on the interfacial tension of aqueous dextran poly (ethylene glycol) phase systems. *Journal of Colloid and Interface Science* **1984**, *99* (1), 194-200.

29. Ryden, J.; Albertsson, P.-A., Interfacial tension of dextran—polyethylene glycol—water two—phase systems. *Journal of Colloid and Interface Science* **1971**, *37* (1), 219-222.

30. Vis, M.; Blokhuis, E. M.; Erné, B. H.; Tromp, R. H.; Lekkerkerker, H. N., Interfacial tension of phase-separated polydisperse mixed polymer solutions. *The Journal of Physical Chemistry B* **2017**, *122* (13), 3354-3362.

31. Vis, M.; Peters, V. F.; Blokhuis, E. M.; Lekkerkerker, H. N.; Erné, B. H.; Tromp, R. H., Decreased interfacial tension of demixed aqueous polymer solutions due to charge. *Physical review letters* **2015**, *115* (7), 078303.

32. Scholten, E.; Sagis, L. M.; Van Der Linden, E., Effect of bending rigidity and interfacial permeability on the dynamical behavior of water-in-water emulsions. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110* (7), 3250-3256.

33. Scholten, E.; Visser, J. E.; Sagis, L. M.; Van Der Linden, E., Ultralow interfacial tensions in an aqueous phase-separated gelatin/dextran and gelatin/gum arabic system: A comparison. *Langmuir* **2004**, *20* (6), 2292-2297.

34. Wolf, B.; Scirocco, R.; Frith, W.; Norton, I., Shear-induced anisotropic microstructure in phase-separated biopolymer mixtures. *Food Hydrocolloids* **2000**, *14* (3), 217-225.

35. Lundin, L.; Norton, I.; Foster, T.; Williams, M.; Hermansson, A.; Bergstrom, E., Phase separation in mixed biopolymer systems. *SPECIAL PUBLICATION-ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY* **2000**, *251*, 167-180.

36. Nguyen, B. T.; Nicolai, T.; Benyahia, L., Stabilization of water-in-water emulsions by addition of protein particles. *Langmuir* **2013**, *29* (34), 10658-10664.

37. De Freitas, R. A.; Nicolai, T.; Chassenieux, C.; Benyahia, L., Stabilization of water-inwater emulsions by polysaccharide-coated protein particles. *Langmuir* **2016**, *32* (5), 1227-1232.

38. Murray, B. S.; Phisarnchananan, N., Whey protein microgel particles as stabilizers of waxy corn starch+ locust bean gum water-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids* **2016**, *56*, 161-169.

39. Xue, L.-H.; Xie, C.-Y.; Meng, S.-X.; Bai, R.-X.; Yang, X.; Wang, Y.; Wang, S.; Binks, B. P.; Guo, T.; Meng, T., Polymer–protein conjugate particles with biocatalytic activity for stabilization of water-in-water emulsions. *ACS Macro Letters* **2017**, *6* (7), 679-683.

40. Ganley, W. J.; Ryan, P. T.; Van Duijneveldt, J. S., Stabilisation of water-in-water emulsions by montmorillonite platelets. *Journal of Colloid and Interface Science* **2017**, *505*, 139-147.

41. Peddireddy, K. R.; Nicolai, T.; Benyahia, L.; Capron, I., Stabilization of water-in-water emulsions by nanorods. *ACS Macro Letters* **2016**, *5* (3), 283-286.

42. Nguyen, B. T.; Wang, W.; Saunders, B. R.; Benyahia, L.; Nicolai, T., pH-responsive waterin-water Pickering emulsions. *Langmuir* **2015**, *31* (12), 3605-11.

43. Moschakis, T.; Murray, B. S.; Dickinson, E., Microstructural evolution of viscoelastic emulsions stabilised by sodium caseinate and xanthan gum. *Journal of Colloid and Interface Science* **2005**, *284* (2), 714-728.

44. Khemissi, H.; Bassani, H.; Aschi, A.; Capron, I.; Benyahia, L.; Nicolai, T., Exploiting complex formation between polysaccharides and protein microgels to influence particle stabilization of W/W emulsions. *Langmuir* **2018**, *34* (39), 11806-11813.

45. Inam, M.; Jones, J. R.; PéRez-Madrigal, M. M.; Arno, M. C.; Dove, A. P.; O'reilly, R. K., Controlling the size of two-dimensional polymer platelets for water-in-water emulsifiers. *ACS central science* **2017**, *4* (1), 63-70.

46. Chatsisvili, N.; Philipse, A. P.; Loppinet, B.; Tromp, R. H., Colloidal zein particles at waterwater interfaces. *Food Hydrocolloids* **2017**, *65*, 17-23.

47. Tuinier, R.; Dhont, J.; De Kruif, C., Depletion-induced phase separation of aggregated whey protein colloids by an exocellular polysaccharide. *Langmuir* **2000**, *16* (4), 1497-1507.

48. Molau, G., Heterogeneous polymer systems. *Kolloid-Zeitschrift und Zeitschrift für Polymere* **1970**, *238* (1-2), 493-498.

49. Ossenbach-Sauter, M.; Riess, G.; Champetier, G., Propriétés émulsifiantes des copolymères séquencés. Emulsions du type eau dans eau. *COMPTES RENDUS HEBDOMADAIRES DES SEANCES DE L ACADEMIE DES SCIENCES SERIE C* **1976**, *283* (6), 269-272.

50. Tromp, R. H.; Tuinier, R.; Vis, M., Polyelectrolytes adsorbed at water–water interfaces. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2016**, *18* (45), 30931-30939.

51. Cesi, V.; Katzbauer, B.; Narodoslawsky, M.; Moser, A., Thermophysical properties of polymers in aqueous two-phase systems. *International journal of thermophysics* **1996**, *17* (1), 127-135.

52. Grace, H. P., Dispersion phenomena in high viscosity immiscible fluid systems and application of static mixers as dispersion devices in such systems. *Chemical Engineering Communications* **1982**, *14* (3-6), 225-277.

53. Bentley, B.; Leal, L. G., An experimental investigation of drop deformation and breakup in steady, two-dimensional linear flows. *Journal of Fluid Mechanics* **1986**, *167*, 241-283.

54. Capron, I.; Costeux, S.; Djabourov, M., Water in water emulsions: phase separation and rheology of biopolymer solutions. *Rheologica Acta* **2001**, *40* (5), 441-456.

55. Renardy, Y., The effects of confinement and inertia on the production of droplets. *Rheologica acta* **2007**, *46* (4), 521-529.

56. Sibillo, V.; Pasquariello, G.; Simeone, M.; Cristini, V.; Guido, S., Drop deformation in microconfined shear flow. *Physical review letters* **2006**, *97* (5), 054502.

57. Kim, S.; Hobbie, E. K.; Yu, J.-W.; Han, C. C., Droplet breakup and shear-induced mixing in critical polymer blends. *Macromolecules* **1997**, *30* (26), 8245-8253.

58. Hashimoto, T.; Matsuzaka, K.; Moses, E.; Onuki, A., String phase in phase-separating fluids under shear flow. *Physical review letters* **1995**, *74* (1), 126.

59. Migler, K. B., String formation in sheared polymer blends: Coalescence, breakup, and finite size effects. *Physical review letters* **2001**, *86* (6), 1023.

60. Jeon, H.; Hobbie, E. K., Shear viscosity of phase-separating polymer blends with viscous asymmetry. *Physical Review E* **2001**, *63* (6), 061403.

61. Barnes, H. A., Rheology of emulsions—a review. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **1994**, *91*, 89-95.

62. Taylor, G. I., The viscosity of a fluid containing small drops of another fluid. *Proceedings* of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character **1932**, 138 (834), 41-48.

63. Kroy, K.; Capron, I.; Djabourov, M., On the Viscosity of Emulsions. *arXiv preprint physics/9911078* **1999**.

64. Frankel, N.; Acrivos, A., The constitutive equation for a dilute emulsion. *Journal of Fluid Mechanics* **1970**, *44* (1), 65-78.

65. Choi, S. J.; Schowalter, W., Rheological properties of nondilute suspensions of deformable particles. *The Physics of Fluids* **1975**, *18* (4), 420-427.

66. Stokes, J.; Wolf, B.; Frith, W., Phase-separated biopolymer mixture rheology: Prediction using a viscoelastic emulsion model. *Journal of Rheology* **2001**, *45* (5), 1173-1191.

67. Tromp, R. H.; De Hoog, E. H., Band formation on shearing in phase-separated polymer solutions. *Physical Review E* **2008**, *77* (3), 031503.

68. Wolf, B.; Frith, W. J.; Singleton, S.; Tassieri, M.; Norton, I. T., Shear behaviour of biopolymer suspensions with spheroidal and cylindrical particles. *Rheologica Acta* **2001**, *40* (3), 238-247.

69. Wolf, B.; Frith, W. J., String phase formation in biopolymer aqueous solution blends. *Journal of Rheology* **2003**, *47* (5), 1151-1170.

# Chapitre 2. Matériels et méthodes

1.	Ma	térie	els	. 46
	1.1.	Solu	utions mères	. 46
	1.2.	Pré	paration des émulsions	. 49
2.	Mé	thod	les	. 49
	2.1.	RM	N	. 49
	2.2.	Diff	usion de la lumière	. 50
	2.2	.1.	Diffusion de la lumière statique	. 50
	2.2	.2.	Diffusion de la lumière dynamique	. 51
	2.3.	LUN	٨iSizer®	. 52
	2.3	.1.	Sédimentation de particules	. 53
	2.3	.2.	Etude d'émulsions	. 54
	2.3	.3. In	fluence de l'épaisseur du tube	. 55
	2.4.	Мо	dification chimique du chitosane	. 56
	2.4	.1.	Acétylation	. 56
	2.4	.2.	Désacétylation	. 57
	2.5.	Rhé	ologie	. 58
	2.5	.1.	Caractéristiques de l'appareil	. 58
	2.5	.2.	Effet de la vitesse de la rampe de taux de cisaillement	. 58
	2.6.	Mic	roscopie Confocale	. 58
	2.6	.1.	Caractéristiques du microscope	. 58
	2.6	.2.	Marquage des additifs polymeres par des fluorophores	. 59
	2.6	.3.	Observation des échantillons à courts et longs temps	. 59
	2.7.	Rhé	ologie confocale	. 59
	2.8.	Ten	sion interfaciale	. 61

# 1. Matériels

# 1.1. Solutions mères

Les poudres de dextrane et de POE (tableau 1 et figure 1) sont dissoutes dans de l'eau ultrapure, à température ambiante, sous agitation pendant une nuit. Le POE contient des particules de silice qui sont retirées en centrifugeant la solution à 50000G pendant 4h30. La solution mère de POE est préparées à 100 g/L et celle de dextrane à 200 g/L.

Echantillons	Masse molaire (g/mol)	Provenance
Dextrane	1.6x10 <sup>5</sup>	Sigma-Aldrich, Etats-Unis
POE	2x10 <sup>5</sup>	

Tableau 1 : Provenance et masse molaire du dextrane et du POE utilisés pour cette étude.



#### Figure 1. Structure chimique du POE et du dextrane

Le propylène glycol alginate (PGA) et diethylaminoethyl dextrane (DEAED) sont solubilisés dans de l'eau ultrapure à température ambiante. Pour le chitosane, le pH de la solution mère est ajusté à 2 pour faciliter sa solubilisation, toujours à température ambiante. Les solutions d'additifs polymères sont préparées à une concentration de 20 g/L.

Le PGA est un polysaccharide obtenu en fonctionnalisant l'alginate par un oxyde de propylène. Le DEAED est obtenu en fonctionnalisant du dextrane par du chlorure de diethylaminoethyl. Le pKa apparent de ce polymère est d'environ 9.5.<sup>1</sup> Le chitosane est un polysaccharide cationique et a un pKa apparent d'environ 6.5, son degré d'acétylation est déterminé par RMN<sup>2</sup>. La masse molaire et le rayon hydrodynamique sont déterminés par diffusion de la lumière. Les caractéristiques des polymères additifs sont rassemblés dans le tableau 2.

Echantillons	Masse molaire	Rayon hydrodynamique	Degré de substitution	Provenance
	(g/mol)	(nm)	molaire (%)	
DEAED	5x10 <sup>5</sup>	39	19	Sigma-Aldrich,
				Etats-Unis
PGA	8x10 <sup>5</sup>	62	70	Kimica, Japon
Chitosane	$3.4 \times 10^5$	58	25	Sigma-Aldrich,
				Etats-Unis

 Tableau 2 : Caractérisation des additifs polymères utilisés dans la stabilisation des émulsions

 POE-dextrane.

Les structures chimiques de ces polymères sont montrées en figure 2. Le DEAED et le chitosane sont des polyélectrolytes cationiques pour des pH inférieurs à leur pKa respectif. Les charges se situent sur les amines. Le PGA est un polyélectrolyte anionique au-dessus de pH 3.5. La charge est portée par les acides carboxyliques.



Figure 2. Structure chimique du chitosane, DEAED et PGA

Le pourcentage d'eau contenu dans les poudres est déterminé par analyse thermogravimétrique et est de 11%, 3.7% et 5.5% pour le PGA, le DEAED et le chitosane, respectivement. La quantité d'eau dans les poudres n'a pas été prises en compte pour le calcul des concentrations des solutions.

Les différents additifs polymères testés en stabilisation à une concentration de 1 g/L et pH 7 [(alginate, methyl cellulose, hydroxymethyl propyl cellulose, hydroxyethyl cellulose (HPMC), gélatine, κ-carrageenan (KC), poly(alcool vinylique), polystyrene sulfonate, gélatine de poisson, amylopectine )(Sigma Chemical Co. Etats-Unis), gomme arabique (Alland & Robert, France), pectine, scléroglucane (Cargill, France) et xyloglucane (UEM, Brésil)] sont solubilisés avec de l'eau ultrapure sous agitation pendant une nuit à température ambiante. L'amylopectine est solubilisée à 80°C. Les solutions mères sont ensuite conservées à 4°C.

Le KC commercial contient du potassium qui induit la gélification à forte concentration (environ 10 g/L). Pour éviter la formation du gel, le KC est dialysé contre une solution de NaCl à 0.1 mol/L pendant 1 jour puis contre de l'eau pure pour éliminer l'excès de sel pendant deux jours, la dialyse est effectuée à température ambiante. Il est ensuite lyophilisé puis resolubilisé à la concentration voulue.

Les caractéristiques des échantillons de chitosane commerciaux, de différentes masses molaires et degrés d'acétylation, étudiés dans le chapitre 5, sont résumées dans le tableau 3. Ces échantillons de chitosane sont produits par désacétylation de chitine de crevette sauf C4 qui est produit à partir de chitine de crabe.

Echantillon de	Provenance	Degré	Masse molaire	
chitosane		d'acétylation (%)	(x10 <sup>5</sup> g/mol)	
C1		24	2.50±0.08	
C2	Sigma- Aldrich,	Sigma- Aldrich,	25	3.26±0.04
C3			22	4.47±0.06
C4	Etats-Unis	23	6.80±0.08	
C5		24	5.3±0.4	
C6		28	5.50±0.06	
C7		20	2.4±0.7	
C8	Pronova,	20	7.8±0.8	
C9	Norvège	20	3.8±0.2	
C10	Chitolytic,	4	1.2±0.1	
C11	Canada	14	1.2±0.1	

Tableau 3 : Masse molaire, degré d'acétylation et provenance des échantillons commerciaux de chitosane utilisés dans le chapitre 5.

# 1.2. Préparation des émulsions

Les émulsions sont préparées en pesant les quantités de solutions de POE, de dextrane, d'additif polymère et d'eau nécessaires. Les émulsions sont ensuite vortexées pour les homogénéiser. Des essais d'ordre d'addition ont été réalisés et aucun impact sur la morphologie et la stabilité des émulsion n'a été observé. Pour les émulsions contenant un polyélectrolyte, l'ajustement du pH peut être effectué directement sur les solutions mères ou après avoir pesé les différents composants de l'émulsion sans qu'il n'y ait d'impact sur la stabilisation. Des essais d'ajustement du pH des solutions mères avant mélange ou de l'émulsion formée ont été réalisés et les deux voies ont conduit à la même stabilité des émulsions. Le pH est ajusté en ajoutant de petites quantités de HCl ou de NaOH à 0.1 mol/L.

# 2. Méthodes

#### 2.1. RMN

Le taux d'acétylation du chitosane est déterminé par RMN <sup>1</sup>H sur un appareil Bruker de 400MHz. Le chitosane étant visqueux, les expériences sont menées à 70°C afin de diminuer la viscosité, et le nombre de scans est de 128 ou 256. Le chitosane est analysé dans de l'eau deutérée avec ajout de DCl pour acidifier le milieu afin de pouvoir solubiliser le chitosane. Un exemple de spectre RMN <sup>1</sup>H est présenté sur la figure 3. Le degré d'acétylation est déterminé par l'équation 16 <sup>3,4</sup> selon la méthode proposée par Hirai, *et al.* 

$$DA = \begin{pmatrix} \frac{1}{3} \times I_{CH_3} \\ \frac{1}{6} \times I_{H_{2-6}} \end{pmatrix} \times 100$$
(16)

La résonance des protons du groupement  $CH_3$  de l'acétyl se situe vers 2ppm (vert) et les protons H2 à H6 résonnent entre 3.5 et 4.2 ppm (bleu). Le degré d'acétylation est calculé comme étant le rapport des intégrales de ces signaux.



Figure 3. Spectre RMN <sup>1</sup>H (400MHz) du chitosane dans  $D_2O$  avec DCl à 70°C afin de déterminer le degré d'acétylation du chitosane selon la méthode de Hirai, *et al.*<sup>4</sup>

# 2.2. Diffusion de la lumière

La diffusion de la lumière statique est menée sur un appareil ALV-CGS3, ALV-Langen. La lumière est produite par un laser hélium-néon possédant une longueur d'onde de 632nm. Un bain themostaté régule la température au sein de la cellule de mesure avec une précision de 20.0±0.2°C.

L'intensité diffusée relative ( $I_r$ ) est obtenue en soustrayant l'intensité du solvant ( $I_{solvant}$ ) à l'intensité de la solution (I), le tout divisé par l'intensité diffusée par le toluène ( $I_{toluene}$ ) à 20°C.

$$I_r = \frac{I - I_{solvant}}{I_{toluène}}$$
(17)

#### 2.2.1. Diffusion de la lumière statique

Pour les solutions diluées, l'intensité relative est liée à la masse molaire moyenne en poids  $(M_w)$  et le facteur de structure (S(q)) du soluté. C est la concentration massique du polymère.

$$\frac{l_r}{\kappa c} = M_w \times S(q) \tag{18}$$

Avec 
$$q = \frac{4\pi}{\lambda_0} \sin \frac{\theta}{2}$$
 (19)

K étant une constante définie par

$$K = \frac{4\pi^2 n_s^2}{\lambda^4 N_a} \times \left(\frac{\delta n}{\delta C}\right)^2 \times \left(\frac{n_{toluène}}{n_{solvant}}\right)^2 \times \frac{1}{R_{toluène}}$$
(20)

avec N<sub>a</sub> le nombre d'Avogadro,  $(\partial n / \partial C)$  l'incrément d'indice de réfraction et R<sub>toluène</sub> la constante de Rayleigh du toluène à 20 °C. Le  $(\partial n / \partial C)$  utilisé pour le chitosane est de 0.185<sup>2</sup>, pour le DEAED on a utilisé 0.15<sup>5</sup> et pour le PGA 0.154 (mL/g)<sup>6</sup>

Le facteur de structure permet de décrire les variations d'intensités en fonction de q (le vecteur de diffusion) et dépend de la forme et de la taille des objets en solution ainsi que des interactions <sup>7</sup>. En millieu dilué, on peut négliger l'effet des interactions et la dépendance à faible q peut être utilisée pour déterminer le rayon de giration ( $R_g$ ).

$$S(q) = \left(1 + \frac{q^2 \times R_g^2}{3}\right)^{-1}$$
(21)

Les solutions de polyélectrolytes sont préparées avec 0.1mol/L de NaCl pour éviter les fortes interactions électrostatiques entre les chaînes. Pour obtenir la masse molaire, on mesure l'intensité diffusée à plusieurs concentrations et plusieurs angles puis on extrapole  $\frac{KC}{I_r}$  à q = 0 et C = 0.

#### 2.2.2. Diffusion de la lumière dynamique

La fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée  $(g_2(t))$  est reliée à la fonction de corrélation du champ électrique  $(g_1(t))$  selon l'équation suivante<sup>8</sup>.

$$g_2(t) = 1 + g_1(t)^2$$
(22)

L'analyse de  $g_1(t)$  permet l'obtention d'une distribution de temps de relaxation (A(log $\tau$ )) en utilisant la distribution l'exponentielle généralisée (GEX)<sup>9</sup>.

$$g_{1}(t) = \sum \alpha i \cdot \exp(-Diq \ 2 \ t)$$
  
$$g_{1}(t) = \int A(\log(\tau)) \exp(-t/\tau) d\log \tau$$
(23)

Avec

$$A(\log(\tau)) = k\tau^{p} \exp^{-\left(\frac{t}{\tau_{*}}\right)^{S}}$$
(24)

p et s sont des paramètres qui décrivent la largeur et l'asymétrie de la distribution des temps de relaxation.

Le temps de relaxation ( $\tau$ ) est lié au coefficient de diffusion (D) en solution diluée quand q $\rightarrow$ 0.

$$\tau = (q^2 \times D)^{-1} \tag{25}$$

Le coefficient de diffusion permet le calcul du rayon hydrodynamique  $(R_h)$  grâce à la relation de Stokes-Einstein.

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R_h} \tag{26}$$

 $\eta$  est la viscosité de la solution et k est la constant de Bolzmann. T est la température absolue.

La distribution de temps de relaxation donne une distribution de rayons hydrodynamiques. Un rayon hydrodynamique moyen peut alors être déterminé.

# 2.3. LUMiSizer®

Le Lumisizer® est une centrifugeuse mesurant la quantité de lumière transmise sur toute la longueur du tube au cours du temps (Figure 1).





L'appareil permet la mesure entre 5 et 2300 g avec une durée maximale de mesure de 30h. L'émulsion à étudier est placée dans une cuvette en polycarbonate avec une largeur 10mm ou de 2mm. La mesure de transmittance se fait sur toute la longueur du tube à l'aide de sources lumineuses visible et IR à 470, 630, et 885nm. Pendant la mesure, la cuvette est placée horizontalement dans la centrifugeuse entre la source lumineuse et le détecteur.

Les émulsions sont homogénéisées juste avant la mesure. Au temps initial, les gouttelettes de l'émulsion sont donc réparties de manière homogène sur toute la hauteur du tube. La transmittance mesurée sera donc la même à toutes les positions. Sous l'effet centrifuge, les gouttelettes sédimentent (ou crèment) et éventuellement coalescent. Au cours du temps, les profils évolueront donc selon la viscosité de la phase continue, la taille des gouttelettes, la vitesse de centrifugation et de la présence ou non de stabilisant.

# 2.3.1. Sédimentation de particules

Si la suspension est monodisperse, la sédimentation conduit à un front bien défini qui progresse avec le temps vers la droite (bas du tube) (figure 5a). Si la suspension est polydisperse, les particules de taille plus importante sédimenteront plus vite et le front sera plus étendu avec une pente qui dépend de la dispersité (figure 5c). Dans le cas de suspensions polydisperses avec plusieurs populations, on obtient les profils types de la figure 5b avec différents fronts de sédimentation, chacun correspondant à une population en taille de particules différente.



Figure 5. Profils caractéristiques de différent types de dispersion (a) suspension monomodale et monodisperse, (b) suspension polydisperse tétramodale, et (c) suspension polydisperse<sup>10</sup>.

# 2.3.2. Etude d'émulsions

Les émulsions peuvent présenter des phénomènes de coalescence en plus de la sédimentation. Il est alors plus difficile de différencier les processus de sédimentation-crémage de la coalescence. D'autant plus que ces différents mécanismes se produisent généralement simultanément. La figure 6 montre l'évolution des profils de transmittance d'une émulsion eauhuile de soja contenant 0.5% (w/w) de lécithine. Les gouttelettes d'huile de soja crèment progressivement, ce qui est visible par la diminution monotone de la transmittance vers le haut du tube avec une pente caractéristique de la dispersité des gouttelettes<sup>11</sup>.



Figure 6. Profils de transmission au cours du temps d'une émulsion huile dans eau stabilisée par 0.5% (w/w) de lécithine centrifugée à 2300G,  $20^{\circ}C^{11}$ .

#### 2.3.3. Influence de l'épaisseur du tube

Des tubes de polycarbonate de 2mm et de 10mm d'épaisseur sont utilisés pour étudier la déstabilisation des émulsions sous centrifugation. Evidemment, la transmittance initiale des émulsions dans les tubes de 10mm est plus faible que dans les tubes de 2mm (figure 7). Dans les deux types de tubes, la transmittance augmente sur toute la longueur du tube dans les premiers temps. Un début de sédimentation est visible au bout de 8 minutes pour le tube de 10mm tandis qu'elle n'apparaît qu'après 17 minutes pour le tube de 2mm. Les profils aux mêmes temps pour les tubes de 2mm et 10mm sont différents. Les émulsions se déstabilisent plus rapidement dans les tubes de 10mm pour la même vitesse de centrifugation. **Pour réaliser une comparaison quantitative entre différentes émulsions, des tubes de même épaisseur devront être utilisés.** Pour cette étude nous avons utilisé des tubes d'épaisseur 2 mm excepté pour les expériences à 1G pour lesquelles les tubes de 10mm sont utilisés, les gouttelettes restant coincées entre les parois des tubes de 2mm.



Figure 7. Superposition des profils de transmission en fonction de la position dans le tube et du temps d'une émulsion D/P  $\Phi$ =0.25 avec 1g/L de chitosane à 150G dans un tube de 2mm (ligne continue) et de 10mm (pointillés) d'épaisseur normalisées pour présenter une transmittance initiale identique.

# 2.4. Modification chimique du chitosane

#### 2.4.1. Acétylation

0.5g de chitosane est solubilisé dans 50 mL de solution aqueuse d'acide acétique à 0.5% (w/w), puis 50 mL de méthanol sont ajoutés sous agitation. Dans une ampoule à brome, la quantité d'anhydride acétique nécessaire pour obtenir le taux d'acétylation visé est mélangée à 20mL de méthanol. Ce mélange est ajouté goutte à goutte sous forte agitation puis le mélange est laissé à réagir durant deux heures à température ambiante. Le schéma réactionnel est présenté en figure 8. Le pH de la solution est ensuite ajusté jusqu'à 10 (à ce pH, le chitosane précipite), puis la solution est dialysée contre une solution de NaCl 0.1M à pH 7 pour éviter la formation d'acétate de chitosane puis contre de l'eau ultrapure jusqu'au retour à pH neutre pour éliminer les réactifs et solvants résiduels. Le chitosane est ensuite lyophilisé<sup>12</sup>.



Figure 8. Mécanisme réactionnel de la N-acétylation du chitosane par l'anhydride acétique<sup>13</sup>.

# 2.4.2. Désacétylation

0.5 g de chitosane est ajouté à 30mL d'une solution aqueuse de NaOH à 50% (w/w) et est chauffé à 80°C pendant des temps différents selon le degré d'acétylation souhaité (tableau 4). Le chitosane est insoluble en milieu alcalin.

Durée de désacétylation	Précurseur	Taux d'acétylation final	
1.5h	C2 (DA 25%, M <sub>w</sub> =3.6x10 <sup>5</sup> g/mol)	14%	
2h	C2 (DA 25%, M <sub>w</sub> =3.6x10 <sup>5</sup> g/mol)	10%	
4h	C2 (DA 25%, M <sub>w</sub> =3.6x10 <sup>5</sup> g/mol)	4%	
4h	C4 (DA 23%, M <sub>w</sub> =6.8x10 <sup>5</sup> g/mol)	6%	

Tableau 4 : Récapitulatif des temps de désacétylation et des taux d'acétylation obtenus.

La réaction est réalisée sous flux d'argon. Le ballon est plongé dans un bain de glace en fin de réaction. La suspension est ensuite filtrée puis lavée à l'eau ultrapure jusqu'à obtention d'un pH neutre. Le chitosane est ensuite lavé au méthanol puis à l'acétone et séché à l'étuve à vide jusqu'à un poids constant<sup>14</sup>.

#### 2.5. Rhéologie

#### 2.5.1. Caractéristiques de l'appareil

Les rhéomètres à contrainte imposée AR2000 et ARG2 (TA instruments) avec une géométrie cône-plan (4cm, 2°) ont été utilisés pour les mesures d'écoulement. Le volume d'émulsion est d'environ 0.6 mL. La température est fixée à 20°C et est contrôlée par un plan Peltier avec une précision de 0.1°C. L'émulsion est placée dans la géométrie puis est pré-cisaillée à 1000s<sup>-1</sup> pendant 30s. La plupart des mesures d'écoulement sont effectuées avec une rampe de cisaillement de 1000s<sup>-1</sup> à 0.01s<sup>-1</sup> pendant 2 minutes suivie de l'augmentation du taux de cisaillement de 0.01s<sup>-1</sup> à 1000s<sup>-1</sup> durant 2 minutes.

#### 2.5.2. Effet de la vitesse de la rampe de taux de cisaillement

Des rampes plus lentes et plus rapides ont été également testées. Les mesures avec des rampes de 1 et 2 minutes sont identiques. En revanche, en augmentant le temps de la mesure, la rhéofluidification se produit à plus faible taux de cisaillement et la viscosité à plus fort taux de cisaillement (10s<sup>-1</sup>) est plus élevée. A très faible (inférieur à 0.1s<sup>-1</sup>) et très fort taux de cisaillement (supérieur à 100s<sup>-1</sup>) la viscosité ne dépend pas de la vitesse de la mesure. L'hystérèse est causée par les la déformation des gouttelettes, leur coalescence et rupture éventuelle, et est caractéristique de leur taille. L'effet de la vitesse des rampes de cisaillement est dû à la coalescence des gouttelettes et est moins important pour les émulsions stabilisées.

# 2.6. Microscopie Confocale

#### 2.6.1. Caractéristiques du microscope

Les tailles de gouttes et les morphologies ont été étudiées à l'aide d'un microscope confocal Zeiss LSM 800 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Allemagne). Deux objectifs à immersion (HC × PL APO 63 × ouverture numérique (O.N) = 1.2, and HC × PL APO 25 × O.N = 0.7) et un objectif à air (HC × PL APO 10 × O.N = 0.45) sont utilisés. Afin de visualiser l'émulsion, une faible quantité d'une solution de dextrane-FITC (dextrane- fluorescéine isothiocyanate) à 500 ppm est ajoutée à l'émulsion (1% du volume total). La phase dextrane apparaîtra donc en clair et la phase POE en sombre.

## 2.6.2. Marquage des additifs polymeres par des fluorophores

Pour les expériences de partition du polymère stabilisant dans l'émulsion, les différents polymères sont fonctionnalisés par deux fluorophores, la fluorescéine isothiocyanate (FITC) et la rhodamine isothiocyanate (RITC) selon la méthode de Heilig<sup>15</sup> légèrement modifiée. Brièvement, 1g de polysaccharide est solubilisé dans 20mL de DMSO et  $80\mu$ L de pyridine sont ajoutés sous agitation. 0.1g de FITC et  $40\mu$ L de dilaurate de dibutyl étain sont ensuite ajoutés. Le mélange est laissé à réagir pendant 3h à température ambiante. Le chitosane étant plus réactif du fait de sa fonction amine et étant soluble seulement en milieu acide, le dilaurate de dibutyl étain et la pyridine ne sont pas ajoutés au milieu réactionnel et la solubilisation est réalisée dans une solution à 0.5% d'acide acétique.

Dans le cas où les polymères fonctionnalisés sont utilisés, une faible quantité, 1% en volume également, est ajoutée à l'émulsion déjà formée et vortexée de nouveau. La longueur d'onde d'excitation de la rhodamine est de 561 nm et celle de la FITC est de 488 nm. La gamme de longueur d'onde de mesure est comprise entre 490 et 600 nm pour la FITC et entre 525 et 700 mn pour la rhodamine B.

#### 2.6.3. Observation des échantillons à courts et longs temps

Les puits (Lab-Tek, Thermo-Fisher, US) ont été utilisés pour les mesures courtes, comme l'observation des tailles de gouttes initiales. Pour des observations sur la durée les échantillons ont été scellés hermétiquement entre une lame de verre concave et une lamelle. Les lames sont placées verticalement à 20°C entre les mesures et placées horizontalement pour les expériences. L'écoulement des échantillon est très négligeable pendant la mesure.

# 2.7. Rhéologie confocale

La morphologie des émulsions sous cisaillement a été étudiée à l'aide d'un appareil commercial RheOptiCAD® (CAD Instruments, Les Essarts-le-roi, France). La cellule de cisaillement<sup>16</sup> est composée de deux lames de verre parallèles se déplaçant dans des sens opposés. La distance maximale parcourue est de 6500  $\mu$ m pour la lame du bas et de 19500  $\mu$ m pour la lame du haut. Cet appareil peut être utilisé en association avec un microscope confocal.

Pour un fluide s'écoulant en régime laminaire, la couche  $z_0$  a une vitesse v, et la couche z a une vitesse v+ $\Delta v$ . Les couches  $z_0$  et z sont distantes de  $\Delta z$ . La couche z ayant avancé de dx par rapport à la couche  $z_0$ .

La déformation ( $\gamma$ ) peut être définie par

$$\gamma = \frac{\Delta x}{\Delta z} = \frac{\Delta v \times \Delta t}{\Delta z}$$
(27)

Figure 9. Schéma illustrant le taux de cisaillement.

Le taux de cisaillement est défini commé étant la déformation par unité de temps.

$$\dot{\gamma} = \frac{\Delta \gamma}{\Delta t} = \frac{\Delta v}{\Delta z} \tag{28}$$

Le taux de cisaillement est dépend de l'entrefer ( $\Delta z$ ) et de la vitesse de déplacement des plaques ( $\Delta v$ )(figure 9).

Les entrefers utilisés sont de 500  $\mu$ m pour la majorité des mesures et de 200  $\mu$ m lorsqu'un taux de cisaillement plus élevé est appliqué. Pour les faibles cisaillements, la mesure peut durer plusieurs dizaines de secondes tandis que pour les forts cisaillements la mesure ne sera que de quelques secondes. Les gammes de taux de cisaillement accessibles se situent entre 0.1 et 120 s<sup>-1</sup>. L'échantillon est vortexé puis placé dans la cellule de cisaillement et précisaillé à 10s<sup>-1</sup> pendant 10s afin d'obtenir à peu près la même taille de gouttes avant toute mesure. La morphologie des émulsions sous cisaillement est investiguée à différentes fractions volumiques, différents taux de cisaillement sans et en présence de stabilisant.

# 2.8. Tension interfaciale

La tension interfaciale des émulsions eau-dans-eau est très faible et ne peut pas être mesurée avec les techniques habituelles utilisées pour les émulsions eau-huile (anneau de Du Noüy par exemple). La tension interfaciale a été déterminée au moyen de la courbure de l'interface liquide-liquide aux abords de la cuvette à 20°C. La forme de la courbure est reliée à la tension interfaciale par la longueur capillaire  $(l_c)^{17}$ .

$$\frac{x(z)}{l_c} = \operatorname{arccosh}\left(\frac{2l_c}{z}\right) - \operatorname{arccosh}\left(\frac{2l_c}{h}\right) - \sqrt{4 - \frac{z^2}{l_c^2}} + \sqrt{4 - \frac{h^2}{l_c^2}}$$
(29)

Avec x la distance en partant du bord, z est la hauteur de l'interface pour x>0 et h la hauteur de l'interface à x=0 en considérant que z = 0 quand x= $\infty$ . La tension interfaciale ( $\Gamma$ ) peut être déduite de la longueur capillaire une fois que la différence de densité ( $\Delta \rho$ ) entre les deux phases est connue.

$$l_c = \sqrt{\frac{\Gamma}{\Delta \rho g}} \tag{30}$$

g est la constante gravitationnelle. La différence de densité est mesurée avec une précision de  $10^{-6}$  g.cm<sup>-3</sup> avec un densimètre à tube oscillant Metler Toledo DM50.

Les cuves sont rincées à l'eau ultrapure plusieurs fois pour éliminer d'éventuelles traces de tensioactif avant la mesure de la tension interfaciale. Les deux phases sont déposées l'une au-dessus de l'autre en perturbant le moins possible l'interface puis centrifugées pour retirer les bulles formées et s'assurer que les phases sont bien complètement séparées. Les cuves utilisées sont des cuves en PMMA (polymethacrylate de méthyle) et l'interface est observée à l'aide d'un appareil photo Nikon couplé à un objectif macro. Les images utilisées pour la détermination de la tension interfaciale à partir des l'équations 29 et 30 sont montrées dans la figure 8.



Figure 8. Tension interfaciale déterminée par la courbure de l'interface proche du bord de la cuvette des émulsions D/P sans (haut) et avec 1 g/L de chitosane (bas). La ligne continue représente la modélisation de l'interface par l'équation avec h = 0.445mm et  $\Gamma = 62\mu$ N/m pour les émulsions D/P pures et avec h = 0.485mm et  $\Gamma = 60\mu$ N/m en présence de chitosane.

Pour déterminer précisément la courbure de l'interface, l'image est transformée en noir et blanc et un seuillage est effectué. L'équation 22 est utilisée pour déterminer la tension interfaciale à 5  $\mu$ N/m près. Les émulsions avec et sans additif présentent la même tension interfaciale dans le bruit de la mesure. La tension interfaciale de l'émulsion de POE à 40 g/L et de dextrane à 63 g/L est déterminée comme étant de 55±5  $\mu$ N/m. 1. Heinze, T.; Liebert, T.; Heublein, B.; Hornig, S., Functional polymers based on dextran. In *Polysaccharides Ii*, Springer: 2006; pp 199-291.

2. Ahmed, K. F.; Aschi, A.; Nicolai, T., Formation and characterization of chitosanprotein particles with fractal whey protein aggregates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2018**, *169*, 257-264.

3. Tan, S. C.; Khor, E.; Tan, T. K.; Wong, S. M., The degree of deacetylation of chitosan: advocating the first derivative UV-spectrophotometry method of determination. *Talanta* **1998**, *45* (4), 713-719.

4. Hirai, A.; Odani, H.; Nakajima, A., Determination of degree of deacetylation of chitosan by 1 H NMR spectroscopy. *Polymer Bulletin* **1991**, *26* (1), 87-94.

5. Hanselmann, R.; Burchard, W.; Lemmes, R.; Schwengers, D., Characterization of DEAE-dextran by means of light scattering and combined size-exclusion chromatography/low-angle laser light scattering/viscometry. *Macromolecular Chemistry and Physics* **1995**, *196* (7), 2259-2275.

6. Huglin, M. B., Specific Refractive Index Increments of Polymer Solutions. Part I. 'Literature Values. *JOURNAL OF APPLIED POLYMER SCIENCE* **1965**, *9*, 3963-4001.

7. Brown, W., *Dynamic light scattering: the method and some applications*. Clarendon press Oxford: 1993; Vol. 313.

8. Berne, B. J.; Pecora, R., *Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics.* Courier Corporation: 2000.

9. Nicolai, T.; Gimel, J. C.; Johnsen, R., Analysis of relaxation functions characterized by a broad monomodal relaxation time distribution. *Journal de Physique II* **1996**, *6* (5), 697-711.

10. Lerche, D., Comprehensive characterization of nano-and microparticles by in-situ visualization of particle movement using advanced sedimentation techniques. *KONA Powder and Particle Journal* **2019**, *36*, 156-186.

11. Dammak, I.; Do Amaral Sobral, P. J., Investigation into the physicochemical stability and rheological properties of rutin emulsions stabilized by chitosan and lecithin. *Journal of Food Engineering* **2018**, *229*, 12-20.

12. Kurita, K.; Ishii, S.; Tomita, K.; Nishimura, S. I.; Shimoda, K. J. J. O. P. S. P. a. P. C., Reactivity characteristics of squid  $\beta$ -chitin as compared with those of shrimp chitin: High potentials of squid chitin as a starting material for facile chemical modifications. **1994**, *32* (6), 1027-1032.

13. Kubota, N.; Tatsumoto, N.; Sano, T.; Toya, K., A simple preparation of half N-acetylated chitosan highly soluble in water and aqueous organic solvents. *Carbohydrate research* **2000**, *324* (4), 268-274.

14. Kurita, K.; Tomita, K.; Tada, T.; Ishii, S.; Nishimura, S. I.; Shimoda, K. J. J. O. P. S. P. a. P. C., Squid chitin as a potential alternative chitin source: deacetylation behavior and characteristic properties. **1993**, *31* (2), 485-491.

15. Heilig, A.; Göggerle, A.; Hinrichs, J., Multiphase visualisation of fat containing  $\beta$ lactoglobulin– $\kappa$ -carrageenan gels by confocal scanning laser microscopy, using a novel dye, V03-01136, for fat staining. *LWT-Food Science and Technology* **2009**, *42* (2), 646-653.

16. Boitte, J.-B.; Vizcaino, C.; Benyahia, L.; Herry, J.-M.; Michon, C.; Hayert, M., A novel rheo-optical device for studying food complex systems under controlled double plate shear. *REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS* **2013**, *84*.

17. Vis, M.; Blokhuis, E. M.; Erné, B. H.; Tromp, R. H.; Lekkerkerker, H. N., Interfacial tension of phase-separated polydisperse mixed polymer solutions. *The Journal of Physical Chemistry B* **2017**, *122* (13), 3354-3362.

Chapitre 3. Stabilisation des émulsions eau dans eau par des polymères commerciaux en solution.

Intro	oduc	tion		5
1.	Etu	de pl	hénoménologique	7
1.	1.	Effe	t du type d'additif polymère6	7
	1.1	.1.	Stabilisation des émulsions POE-dextrane	8
	1.1	.2.	Taille des gouttelettes au temps initial	9
	1.1	.3.	Suivi de la taille des gouttelettes au cours du temps7	1
1.	2.	Visc	osité des émulsions72	2
1.	3.	Effe	t du pH7	5
1.	4.	Effe	t de la concentration du polymère ajouté7	7
1.	5.	Effe	t de NaCl75	Э
1.	6.	Effe	t de la dilution	С
1.	7.	Effe	t de l'inversion de phase	2
2.	Mé	canis	sme de la stabilisation	3
2.	1.	Part	ition de l'additif polymère dans les phases POE et dextrane84	4
2.	2.	Inte	raction entre le polymère et le POE ou le dextrane88	8
Con	clusi	on		2

# Chapitre 3. Stabilisation des émulsions eau dans eau par des polymères commerciaux en solution.

# Introduction

A ce jour dans la littérature, il a été démontré que les émulsions eau dans eau pouvaient être stabilisées par des particules (effet Pickering) de différentes tailles<sup>1</sup>, natures<sup>2, 3</sup> et morphologies<sup>3-6</sup>. Des copolymères à blocs<sup>7</sup> ont également permis de stabiliser ces émulsions. Cependant, à ce jour, la stabilisation des émulsions eau dans eau par des homopolymères linéaires n'a pas encore été étudiée.

Nous nous intéressons ici à la stabilisation de l'interface. Dans le cadre de ce travail, la sédimentation et le crémage ne sont pas considérés comme étant de la déstabilisation, bien que le système devienne macroscopiquement hétérogène. La présence d'une émulsion est caractérisée par la turbidité du système et par la présence de gouttelettes visibles au microscope confocal. Par analogie avec l'utilisation des particules pour stabiliser les émulsions eau dans eau, pour pouvoir limiter, voire empêcher la coalescence des gouttelettes, les additifs polymères linéaires doivent s'accumuler à l'interface entre les deux phases constituants l'émulsion. De plus, la chaîne de l'additif polymère en solution doit être de taille suffisante pour couvrir toute l'épaisseur de l'interface eau-eau, et ainsi empêcher le contact entre les polymères incompatibles<sup>8, 9</sup>. L'enchevêtrement à l'interface étant de l'ordre de grandeur de la longueur de corrélation des chaînes de polymère. Les additifs polymères en solution sont moins denses. Le rayon hydrodynamique d'une chaîne de polymère en solution étant plus grand que celui d'une particule de même masse. Ainsi, cette différence de densité pourrait permettre l'utilisation d'une quantité moins importante d'additifs polymères pour couvrir une même surface. Cette hypothèse est illustrée sur la figure 1.



Figure 1. Schéma hypothétique du mode de stabilisation des émulsions eau dans eau par des particules et par des polymères en solution.

A l'interface, les chaînes de polymères des phases composant l'émulsion sont enchevêtrées. Ces polymères étant incompatibles, cet enchevêtrement est défavorable. Pour les stabiliser, les particules doivent se placer à l'interface et être de taille suffisante pour empêcher le contact entre les deux polymères incompatibles<sup>8</sup>. L'hypothèse est que l'additif polymère en solution se placerait à l'interface de la même manière que les particules et couvrirait l'interface en se plaçant entre les deux phases incompatibles.

Afin de déterminer si des additifs polymères commerciaux en solution sont capables de stabiliser les émulsions eau dans eau, de nombreux additifs polymères ont été testés. Ces additifs sont principalement des polysaccharides, mais des protéines et des polymères synthétiques ont également été testés (pour la liste complète des additifs polymères testés, voir chapitre 2. Page 47).

# 1. Etude phénoménologique

# 1.1. Effet du type d'additif polymère

La plupart des additifs polymères testés ne montrent seulement qu'une faible amélioration de la stabilité, attribuée à l'augmentation de la viscosité de l'émulsion, et seuls le PGA, le DEAED et le chitosane ont montré une capacité très significative à stabiliser les émulsions POE-dextrane

(figure 2). Le chitosane utilisé dans ce chapitre est l'échantillon C2 de masse molaire Mw=  $3.4 \times 10^5$  g/L et de 25% de degré d'acétylation.

Les deux phases constituant l'émulsion, les solutions de POE et de dextrane, sont totalement transparentes. Par conséquent, l'apparition de turbidité est due à la formation de gouttelettes de l'une des phases dispersées dans la seconde. On peut donc observer visuellement si des gouttelettes sont présentes, et suivre l'évolution de l'émulsion qualitativement au cours du temps grâce à la turbidité. Une étude quantitative sera menée par la suite (chapitre 4) à l'aide d'une centrifugeuse analytique.

#### 1.1.1. Stabilisation des émulsions POE-dextrane

Les émulsions utilisées dans ce chapitre auront toutes une fraction volumique de phase dispersée de 0.25. Les émulsions D/P sans additif se déstabilisent en trois heures. L'ajout de 1 g/L de chitosane et de DEAED permet une stabilisation des émulsions pendant au moins une semaine (pas de séparation de phase macroscopique et turbidité toujours présente). Le PGA présente une sédimentation des gouttelettes après une semaine, sans formation d'une couche continue par coalescence des gouttelettes. En ajoutant 1 g/L de KC, l'émulsion met environ deux fois plus de temps à se déstabiliser que l'émulsion sans additif (figure 2). En ajoutant 1 g/L de KC à l'émulsion D/P, sa viscosité newtonienne est doublée (voir figure 6) ce qui retarde d'autant la sédimentation et la coalescence des gouttelettes. On peut donc attribuer la très faible amélioration de la stabilité des émulsions contenant du KC à l'augmentation de leur viscosité.



Figure 2. Emulsions D/P à pH 5 sans polymère ajouté (gauche) et avec 1 g/L des différents additifs polymères à différents temps après homogénéisation.

1.1.2. Taille des gouttelettes au temps initial

Sur les images de microscopie confocale, prises rapidement après l'homogénéisation, la taille des gouttelettes est plus faible en présence de 1 g/L de DEAED que de chitosane ou de PGA (figure 3).



Figure 3. Images de microscopie confocale d'émulsions D/P à pH 5 contenant 1g/L de chitosane, de PGA et de DEAED, immédiatement après homogénéisation. La taille de l'image est de 255µm\*255µm, l'objectif utilisé est un objectif à immersion avec un grossissement X25.

Cette observation est confirmée par le traitement de la taille de gouttelettes en nombre et en volume (figure 4). La distribution en nombre des tailles de gouttelettes donne une plus grande

importance aux petites gouttelettes plus nombreuses tandis que la distribution en volume donne un poids plus important aux gouttelettes de grande taille. Les distributions en nombre et en volume sont tous les deux montrées pour recouper les résultats et mieux décrire le système.

L'émulsion contenant le DEAED conduit à des gouttelettes de taille plus faibles avec une distribution relativement étroite (que ce soit en nombre ou en volume). Le tableau 1 regroupe les tailles de gouttelettes, au temps initial, en nombre et en volume, des émulsions contenant les différents additifs polymères.

	Chitosane	DEAED	PGA
Taille de gouttelettes en moyenne en nombre (µm)	8±5	3±2	6±4
Taille de gouttelettes en moyenne en volume (µm)	14±6	6±2	14±10

Tableau 1 : récapitulatif des tailles de gouttelettes des émulsions contenant des additifs polymères immédiatement après homogénéisation. L'incertitude de la taille correspond à l'écart type.

Les émulsions contenant du DEAED ont des gouttelettes de taille la plus faible en comparaison avec le chitosane et le PGA. Le DEAED permet l'obtention d'émulsions présentant peu de gouttelettes de taille supérieure à 15  $\mu$ m (figure 4.b). La distribution en nombre des tailles de gouttelettes pour les émulsions contenant du PGA montre un grand nombre de très petites gouttelettes,  $3\pm 2\mu$ m, mais la distribution des tailles en volume montre la présence de plus grosses gouttelettes pouvant mesurer jusqu'à 30  $\mu$ m. Les émulsions avec 1 g/L de PGA présentent donc beaucoup de toutes petites gouttelettes et quelques gouttelettes plus grandes. Le chitosane donne des tailles de gouttelettes proches en nombre et en volume, il y a peu de très petites gouttelettes et peu de très grosses gouttelettes. La taille des gouttelettes juste après homogénéisation est peu impactée par la présence de polymère stabilisant, sauf pour les émulsions avec 1 g/L de DEAED pour lequel l'effet est plus important.



Figure 4. Analyse des tailles de gouttelettes des émulsions en nombre (a) et en volume (b) contenant 1 g/L de chitosane, DEAED, et PGA juste après homogénéisation. Les lignes continues sont des guides pour l'œil.

#### 1.1.3. Suivi de la taille des gouttelettes au cours du temps

Les échantillons sont homogénéisés pendant 30 secondes au vortex puis placés entre une lame concave et une lamelle qui sont scellées pour permettre l'observation des émulsions dans le temps sans les perturber. Ces lames sont placées verticalement au repos pendant 7 jours et sont placées horizontalement pour la mesure. L'échantillon étant visqueux, son écoulement est négligeable sur le temps de la mesure. L'observation est donc caractéristique du système au temps donné.

	Chitosane	DEAED	PGA
Diamètre des gouttelettes en moyenne en volume (µm)	14±10	20±6	80±20

Tableau 2 : récapitulatif des tailles de gouttelettes des émulsions contenant des additifs polymères une semaine après homogénéisation.

Les émulsions sans stabilisant évoluent de 14 $\mu$ m de diamètre à une émulsion totalement séparée après seulement trois heures. Les gouttelettes des émulsions contenant 1 g/L de DEAED sont les plus petites au temps initial mais grossissent légèrement après sept jours. Le diamètre des gouttelettes en nombre est de 6 $\mu$ m juste après homogénéisation et augmente jusqu'à 20 $\mu$ m après une semaine. Dans le cas des émulsions contenant 1 g/L de chitosane, la taille des gouttelettes n'évolue quasiment pas durant une semaine, le diamètre en volume au pic restant centré autour de 14 $\mu$ m, malgré l'apparition de quelques gouttelettes de taille plus importante (figure 5). Les émulsions contenant 1 g/L de PGA présentent un accroissement des tailles de gouttelettes plus important au cours du temps. Les gouttelettes sont de 15  $\mu$ m au temps initial et grossissent jusqu'à atteindre 80  $\mu$ m de diamètre après 7 jours (figure 5). La vitesse de sédimentation évoluant avec le carré du rayon des gouttelettes (loi de Stokes, équation 1), l'accroissement avec le temps de la taille des gouttelettes en présence de PGA explique la sédimentation plus prononcée après sept jours (figure 2).



Figure 5. Distribution des tailles de gouttes d'émulsions POE-dextrane en présence de 1g/L de chitosane (gauche), DEAED (milieu) et PGA (droite) à différents temps après homogénéisation. Les lignes continues sont des guides pour l'œil.

L'addition d'un polymère stabilisant n'influence pas la taille initiale des gouttelettes mais ralentit la coalescence, et donc l'augmentation de la taille des gouttelettes au cours du temps.

# 1.2. Viscosité des émulsions

Nous avons constaté dans les paragraphes précédents que les émulsions POE-dextrane pouvaient être stabilisées par des additifs polymères. L'étude de la viscosité des émulsions en présence d'additif polymère permet de déterminer si l'augmentation de stabilité est due à une augmentation de viscosité de la phase continue ou une stabilisation de l'interface, ou les deux en même temps. En viscosifiant la phase continue, le mouvement des gouttelettes est ralenti, tout comme la coalescence.

Seules les viscosités newtoniennes seront comparées dans ce chapitre. Il est nécessaire de connaître la viscosité de la phase continue pour pouvoir calculer la vitesse de déstabilisation des émulsions. De plus, les gouttelettes n'étant pas connectées entre elles (figure 3) la viscosité
de la phase continue est proche de celle de la phase continue. Les émulsions sans additif polymère présentent une viscosité newtonienne de 0.45 Pa.s. La figure 6 montre la viscosité des émulsions en fonction du taux de cisaillement. Les émulsions contenant 1 g/L de polymère présentent des viscosités newtoniennes de 0.8, 1.15, et 1.2 Pa.s pour le DEAED, le PGA et le chitosane, respectivement (figure 6). La viscosité newtonienne du carraghénane est identique à celle du dextrane cationique mais ne permet pas de stabiliser les émulsions. L'augmentation de la viscosité de l'émulsion à elle seule ne peut donc pas expliquer l'amélioration de la stabilisation.



Figure 6. Courbe d'écoulement à taux de cisaillement croissant des émulsions D/P ( $\Phi$ =0.25) sans ou avec 1 g/L de chitosane (pH 5), DEAED (pH 5), PGA (pH 4) et  $\kappa$ -carraghénane (pH 7).

Le tableau 3 regroupe les vitesses de sédimentation et les paramètres utilisés pour leur calcul selon la loi de Stokes (équation 1, page 17,  $v = \frac{g\Delta\rho 2r^2}{9\eta}$ ). La taille des gouttelettes augmente rapidement au cours du temps pour les émulsions sans stabilisant et accélère la déstabilisation. On considère ici la vitesse de sédimentation initiale. La vitesse de sédimentation au temps initial est vingt fois plus lente avec 1 g/L de DEAED comparée à l'émulsion sans additif. Comparativement, le temps de stabilisation observé pour des émulsions contenant 1 g/L de DEAED est augmenté d'un facteur beaucoup plus important. La stabilité accrue des émulsions contenant du polymère stabilisant ne peut donc pas être attribuée à la seule augmentation de la viscosité et à la légère diminution de la taille des gouttelettes. Le fait que

	g (m/s²)	$\Delta \rho (kg/m^3)$	r (m)	η (Pa.s)	v (m/s)
Sans additif			10 x10 <sup>-6</sup>	0.45	2.4x10 <sup>-8</sup>
Chitosane	0.91	50	7 x10 <sup>-6</sup>	1.2	4.5x10 <sup>-9</sup>
DEAED	9.81	50	3 x10 <sup>-6</sup>	1.15	1.2x10 <sup>-9</sup>
PGA			7 x10 <sup>-6</sup>	0.8	4.6x10 <sup>-9</sup>

les gouttelettes restent de faible taille après une semaine démontre un effet interfacial du polymère stabilisant.

Tableau 3 : tableau récapitulatif des paramètres utilisés dans le calcul de la vitesse de sédimentation avec la loi de Stokes.

La loi de Stokes est applicable pour des systèmes dilués sans interactions hydrodynamiques. Dans le cas présent, cette condition n'est pas respectée, mais le calcul des vitesses de sédimentation permet toutefois une étude plus quantitative de l'effet du polymère sur la sédimentation. Afin d'estimer la vitesse de sédimentation, nous avons considéré les tailles initiales des gouttelettes, or, pour l'émulsion sans stabilisant (et pour les émulsions contenant le PGA dans une bien moindre mesure), la taille des gouttes évolue très fortement dans le temps (coalescence rapide). Cette coalescence accélère la sédimentation, ainsi la vitesse calculée sousestime la vitesse de sédimentation réelle. Cependant, les vitesses calculées nous permettent d'estimer quantitativement l'effet du polymère sur la sédimentation. Pour les émulsions contenant 1g/L de DEAED et de chitosane, la taille des gouttelettes n'évoluant que peu sur la période étudiée, le calcul de la vitesse initiale de sédimentation reste raisonnable.

Pour une émulsion non stabilisée, 9.5 jours sont nécessaires pour parcourir la distance entre le haut du tube et le bas du tube, soit 2.5 cm. Cette vitesse est calculée en utilisant le rayon des gouttelettes au temps initial. Si la taille des gouttelettes double, ce temps est réduit à 2.4 jours. L'évolution de la taille des gouttelettes au cours du temps explique pourquoi les émulsions sont complètement déstabilisées après seulement trois heures. Pour les émulsions stabilisées par des additifs polymères, il faudrait 64 jours pour que les gouttelettes soient sédimentées pour le chitosane et 63 jours pour le PGA et 241 jours pour le DEAED. Les tailles de gouttelettes du DEAED et du PGA évoluent au cours du temps, mais le chitosane présente une très faible augmentation de taille. Pour ce dernier, une émulsion sans sédimentation visible est obtenue après un mois, mais un suivi à des temps plus grand n'a pas été effectué.

### 1.3. Effet du pH

Les trois polymères étudiés qui ont permis de stabiliser les émulsions POE-dextrane sont tous des polyélectrolytes. Le chitosane présente des fonctions amine avec un pKa proche de 6.5, le DEAED présente également des fonctions amine dont le pKa est d'environ 9.5 et le PGA possède des fonctions carboxyles dont le pKa est de 3.5. Ces polymères sont donc sensibles au pH, il est donc primordial d'étudier leur comportement au sein de l'émulsion en fonction du pH.

Afin d'ajuster le pH de l'émulsion, on ajoute de faibles quantités de HCl ou NaOH 0.1 mol/L. L'ajustement du pH a été effectué soit une fois l'émulsion formée ou soit sur les différentes solutions permettant la préparation de l'émulsion avant de les mélanger. Dans les deux cas, aucune différence sur la stabilité des émulsions n'a été remarquée.

Les émulsions contenant du chitosane sont étudiées entre les pH 3 et 6, au-delà de pH 6 le chitosane s'agrège en solution aqueuse comme le montrent des mesures de diffusion de la lumière (voir figure 7).

La figure 7 montre l'inverse de l'intensité relative (qui correspond à la masse molaire en masse apparente) en fonction du vecteur de diffusion. On peut observer que pour des pH inférieurs à 5.5, l'intensité diffusée reste la même pour tous les pH. A partir de pH 5.5 une faible augmentation de l'intensité est visible. A pH 6 l'intensité augmente de manière importante. On a donc de faibles interactions attractives entre les chaînes de chitosane à pH 5.5 et le polysaccharide est totalement agrégé à pH 6. A plus fort pH on observe une précipitation macroscopique du chitosane.



Figure 7. R/KC (masse molaire apparente) en fonction du vecteur d'onde à différents pH d'une solution de chitosane à 0.5 g/L dans 0.1M de NaCl.

Les émulsions D/P avec 1 g/L de chitosane sont stables de pH 3 à 6 pendant au moins 7 jours. Les émulsions contenant du DEAED et du PGA présentent un optimum de stabilité (figure 8). Le DEAED ne montre pas de signe de déstabilisation après une semaine pour les pH 5 et 6. Les pH 3, 4 7, 8, et 9 présentent une phase continue de phase dextrane de différentes hauteurs, mais la phase supérieure reste turbide après une semaine. Des gouttelettes sont donc toujours présentes. Les émulsions contenant 1 g/L de PGA sont déstabilisées aux pH 9 et 10. Les émulsions de pH 3 à 8 sont sédimentées, avec une sédimentation minimale à pH 4. La stabilité vis-à-vis de la coalescence et de la sédimentation des émulsions est donc influencée par le pH.



Figure 8. Emulsions D/P en présence de 1 g/L de chitosane, DEAED et PGA à différents pH après 7 jours.

La viscosité des émulsions a été mesurée à tous les pH et aucune variation significative de la viscosité newtonienne n'a été observée alors que la stabilité des émulsions contenant le DEAED ou le PGA est fortement influencée par le pH. Cette dépendance de stabilité avec le pH ne s'explique donc pas par une variation de la viscosité de l'émulsion avec le pH. Le DEAED est totalement chargé en dessous de pH 8 et le PGA au-dessus de pH 5, cependant la stabilité des émulsions varie malgré une très faible variation du taux de charge. Par exemple, la stabilité des émulsions contenant du DEAED change entre les pH 3 et 4 tandis que le changement du taux de charge est infime. La stabilité ne dépend donc pas seulement de la densité de charge des polymères Nous constatons que la présence de charges semble indispensable à la stabilisation des émulsions POE-dextrane (les émulsions contenant des polymères non chargés ne sont pas stables), cependant, à l'heure actuelle, nous n'expliquons pas cette observation.

### 1.4. Effet de la concentration du polymère ajouté

Les émulsions précédentes étaient étudiées à une concentration d'additif polymère fixe de 1 g/L. L'effet de la concentration en polymère ajouté est maintenant étudié au pH auquel les émulsions sont le plus stables, c'est-à-dire pH 5 pour le chitosane et le DEAED et pH 4 pour le PGA.

Les émulsions contenant du chitosane et du DEAED sont stables pendant une semaine pour des concentrations égales ou supérieures à 0.6 g/L (figure 9). Pour ces deux polymères à 0.4 et 0.2 g/L, on observe une sédimentation de gouttelettes et un éclaircissement de la phase inférieure qui est un signe de coalescence. Les émulsions contenant 0.4 g/L de DEAED ont une stabilité augmentée pendant au moins trois jours quand une émulsion sans stabilisant se déstabilise totalement en trois heures (figures 9 et 2).

Les émulsions contenant 1 g/L de PGA ne présentaient pas de signe de déstabilisation (figure 8). En diminuant la concentration d'additif polymère, on voit progressivement une sédimentation de plus en plus importante. Bien que les émulsions sédimentent, des gouttelettes sont toujours présentes à 0.2 g/L de PGA après une semaine. Ce polysaccharide est donc l'additif polymère permettant de stabiliser l'interface POE-dextrane avec la plus faible concentration.



Figure 9. Emulsions D/P contenant différentes concentrations de Chitosane à pH 5, de DEAED à pH 5 et de PGA à pH 4 après trois jours (haut) et après une semaine (bas).

Les émulsions D/P ont été étudiées avec du chitosane à différentes concentrations et différents pH (figure 10). Alors que les émulsions sont stables à tous les pH à 1 g/L, on commence à voir des différences de stabilité en diminuant la concentration. A pH 6, les gouttelettes de l'émulsion sédimentent après trois jours quand la concentration est inférieure ou égale à 0.8 g/L. Des gouttelettes sont toujours présentes à ces faibles concentrations après une semaine. Le chitosane étant agrégé à pH 6, la stabilité des émulsions peut être attribuée à un effet Pickering par des agrégats de chitosane.



1 0.8 0.6 0.4 0.2 g/L

Figure 10. Emulsions D/P à différents pH et concentrations de chitosane à différents temps après homogénéisation. Le temps en jours est indiqué à gauche des photos.

### 1.5. Effet de NaCl

Les polymères permettant la stabilisation des émulsions POE-dextrane sont tous les trois des polyélectrolytes. L'influence de la concentration en sel dans le milieu est potentiellement un facteur important. Si la charge portée par le polyélectrolyte joue un rôle dans la stabilisation, l'émulsion sera déstabilisée en présence de sel du fait de l'écrantage des charges portées par le polyélectrolyte.

Une faible concentration en sel a un effet important sur les émulsions contenant du chitosane et du DEAED. Dès 10 mmol/L de sel, les gouttelettes de l'émulsion avec chitosane sédimentent après quelques jours (figure 11). Une phase continue de dextrane apparaît rapidement pour le système contenant du DEAED à 15 mmol/L de NaCl, l'interface POE-Dextrane n'est donc plus stabilisée. Le PGA est plus résistant à l'ajout de sel. On observe une légère sédimentation à 30 mmol/L de NaCl et une sédimentation plus forte à 100 mmol/L, dans les deux cas des gouttelettes sont toujours présentes.



Figure 11. Emulsions D/P en présence de 1 g/L de chitosane à pH 5, DEAED à pH 5 et PGA à pH 4 contenant différentes concentrations en NaCl après trois jours (haut) et après une semaine (bas).

Les émulsions eau dans eau sont applicables dans de nombreux domaines dont l'agroalimentaire ou encore la pharmaceutique ou la cosmétique. Dans ces applications, la concentration en sel est souvent importante. La résistance à l'ajout de sel est donc importante, le PGA serait alors le polysaccharide le plus adapté à ces applications.

### 1.6. Effet de la dilution

Les émulsions sont plus stables lorsque leur composition se situe loin de la binodale. Plus la composition se rapproche de la binodale, moins la stabilisation est aisée. En diluant l'émulsion, les fractions volumiques restent constantes, mais la tension interfaciale diminue. La tension interfaciale a été déterminée comme étant proportionnelle à la longueur des segments conjugués à la puissance 3.9<sup>10</sup>. Les émulsions sans additif sont diluées avec de l'eau ultrapure.

Au temps initial, les émulsions sont progressivement moins turbides quand la dilution augmente (figure 12). Après un jour, on peut observer que les émulsions avec un facteur de dilution de 2 ou moins présentent une fraction volumique de 0.25 de dextrane et 0.75 de POE. Quand la dilution est supérieure à deux fois, un changement des fractions volumiques de dextrane qui deviennent 0.2 et 0.1 pour des dilutions de 2.5 et 3 fois (traits blancs sur la figure 12 et tableau 4) est observé. La diminution de la phase dextrane est due à un changement de composition des phases lorsque la composition se rapproche de la binodale.

Facteur de dilution	1	1.2	1.5	2	2.5	3	4
Tension interfaciale (µm/m)	55	37	16	6	2	1	/
Fraction volumique de dextrane	0.25	0.25	0.25	0.25	0.2	0.1	/

Tableau 4 : Tension interfaciale et fractions volumiques en fonction du facteur de dilution.

Lorsque le facteur de dilution est égal à 3, l'émulsion se situe sur la binodale (figure 13) et la tension interfaciale est quasiment nulle<sup>10</sup>. Pour une dilution d'un facteur 4, la solution est homogène, les deux polymères coexistent dans une seule et même phase.



Figure 12. Emulsions D/P sans additifs à différentes dilutions juste après homogénéisation (haut) et après une jour (bas).

La tension interfaciale a été mesurée par deux méthodes, la relaxation des tailles de gouttelettes et la courbure de l'interface proche du bord de la cuvette. Des résultats similaires ont été obtenus par ces deux méthodes et une tension interfaciale de  $55\pm5\mu$ N/m a été déterminée pour les émulsions POE-dextrane sans stabilisant. La tension interfaciale a également été mesurée en présence de  $\kappa$ -carraghénane et des trois polymères stabilisants. La tension interfaciale a été déterminée comme étant identique pour les émulsions de même facteur de dilution avec ou sans polymère ajouté. L'ajout d'additif polymère n'a donc aucun impact significatif sur la tension interfaciale des émulsions POE-dextrane.

De la même manière, nous avons étudié l'influence de la dilution des émulsions en présence de polymère stabilisant. Les émulsions contenant du polymère stabilisant sont diluées avec une solution à 1 g/L du polymère ajusté au pH voulu afin de conserver la concentration et le pH constant. Un seul paramètre est ainsi varié, la concentration des deux phases l'émulsion.



Figure 13. Evolution de la composition de l'émulsion en fonction du facteur de dilution.

Les émulsions contenant 1 g/L de chitosane sont stables durant une semaine jusqu'à un facteur de dilution de 2.5. Les émulsions contenant 1 g/L de DEAED et PGA sont stables pendant une semaine jusqu'à un facteur de dilution de 1.5 et 1.2 respectivement (figure 14). Le chitosane présente donc la plus grande résistance à la dilution.



Figure 14. Emulsions D/P contenant 1 g/L de chitosane (pH 5), DEAED (pH5) et PGA (pH 4) à différents facteurs de dilution trois jours (haut) et une semaine (bas) après homogénéisation.

### 1.7. Effet de l'inversion de phase

Les émulsions D/P ont été étudiées et ont pu être stabilisées par le chitosane, le DEAED et le PGA. L'effet de ces polymères sur les émulsions P/D est étudié afin d'observer s'ils sont capables de les stabiliser également.

Pour rappel, à 1 g/L, le chitosane stabilise les émulsions D/P à tous les pH pendant une semaine sans signe de déstabilisation. En revanche, pour les émulsions P/D, on observe que le chitosane améliore la stabilité des émulsions à pH 5 et pH 6 par rapport à une émulsion non stabilisée mais est totalement déstabilisée après une semaine (figure 15). Il apparaît clairement que le chitosane est plus efficace pour les émulsions D/P que les émulsions P/D. Nous n'avons pas d'explication à ce phénomène à ce stade.

Le DEAED est capable de stabiliser les émulsions P/D de pH 4 à pH 9. Un léger crémage est observable à tous les pH et une phase continue de POE est visible pour les pH 8 et pH 9 après une semaine. Le DEAED est donc capable de stabiliser les émulsions D/P et P/D.

Les gouttelettes des émulsions P/D contenant du PGA crèment et coalescent après seulement 3 jours. Après une semaine, une phase POE est clairement visible. De la turbidité est pourtant toujours visible dans la phase continue de dextrane, des gouttelettes sont donc toujours présentes. Le PGA stabilise les émulsions D/P avec de la sédimentation mais les émulsions P/D ne sont pas stables vis-à-vis de la coalescence.



Figure 15. Emulsions P/D contenant 1g/L de chitosane (pH 5), DEAED (pH 5), et PGA (pH 4).

### 2. Mécanisme de la stabilisation

Dans la partie 1.2 de ce chapitre, l'effet de la viscosité des émulsions sur leur stabilité a été étudié. Il a été conclu que la seule augmentation de viscosité des émulsions ne pouvait pas expliquer la stabilité accrue des émulsions en présence de polymère stabilisant. Le mécanisme de stabilisation est investigué par observation de la partition des polymères stabilisants entre les deux phases et la recherche d'interactions entre ces derniers.

### 2.1. Partition de l'additif polymère dans les phases POE et dextrane

Connaître la localisation de l'additif polymère pourrait donner des indices sur la manière dont il stabilise l'émulsion. Il a déjà été décrit dans la littérature que les particules stabilisaient mieux les émulsions quand elles se situent à l'interface avec une préférence pour la phase continue<sup>1</sup>. Les particules peuvent donc prévenir la coalescence des gouttelettes.

Afin de déterminer la localisation des polymères stabilisants, ces derniers ont été faiblement chimiquement modifié (environ une molécule de fluorophore tous les mille oses) par greffage de FITC et de RITC. Une faible quantité de polymère marqué par du fluorophore est ajoutée à une émulsion pour déterminer la partition du polysaccharide entre les phases POE et le dextrane.

Deux fluorophores sont utilisées afin de s'affranchir d'un biais lié à l'affinité intrinsèque du fluorofore vis-à-vis d'une des phases. La fluorescéine libre se partitionne préférentiellement dans la phase dextrane et la rhodamine libre se partitionne préférentiellement dans la phase POE. En étudiant la partition des polymères marqués par ces deux fluorophores, on peut s'affranchir de ce biais (figure 16).

La partition des polymères stabilisants entre la phase POE et la phase dextrane présente la même tendance pour les deux marquages, il n'y a donc pas d'impact de la nature du marquage sur la partition des polymères stabilisants. De plus, que ce soit pour les émulsions D/P ou P/D, le polymère stabilisant se place préférentiellement dans la même phase (figure 16).



pH3	pH5	pH7	pH10	
				100µm
			Tet .	
	pH3	рнз рн5 		рH3 рH5 рH7 рH10

a)

b)



Figure 16. Emulsions D/P et P/D contenant 1 g/L de chitosane (a), de DEAED (b) et de PGA (c) contenant une fraction du polymère marqué par de la FITC ou de la RITC à différents pH.

Le ratio de l'intensité de la phase dextrane sur l'intensité de la phase POE est mesuré par analyse de contraste. Auparavant, nous nous sommes assurés de la proportionnalité entre la concentration des polymères dans chaque phase et l'intensité. Ainsi, le ratio des intensités reflète directement le rapport des concentrations du polymère marqué entre les deux phases et par conséquent sa répartition.

La partition du chitosane est sensiblement la même pour les émulsions D/P et P/D. De plus, le ratio de l'intensité mesurée dans la phase dextrane et de celle mesurée dans la phase POE (R) étant quasiment identique pour les deux types de marquages, les valeurs de ratio présentées sont les moyennes pour les émulsions D/P, P/D et les deux types de marquages, FITC et RITC (figure 17).

Le ratio des intensités de la phase dextrane sur la phase POE est étudié en fonction du pH. On peut observer que le chitosane se partitionne préférentiellement dans la phase dextrane. En augmentant le pH, la fraction de chitosane se localisant dans la phase dextrane augmente. Le PGA se partitionne également de préférence dans la phase dextrane, excepté à pH 3 et pH 10. A pH 3, le pH est proche du pKa, la diminution de l'hydrophilie pourrait expliquer la différence de partition. Cependant, à pH 9 tout comme à pH 10 le taux charge du PGA est proche de 100%, la différence de partition est donc difficilement explicable. Le DEAED se partitionne de

manière quasiment identique entre la phase POE et la phase dextrane sur toute la gamme de pH. La partition des polymères entre la phase POE et la phase dextrane est donc dépendante du pH pour le chitosane et le PGA. Cependant, aucune corrélation entre la répartition de l'additif est la stabilité des émulsions ne peut être extraite.



Figure 17. Partition du polymère ajouté entre la phase POE et la phase dextrane ( $\mathbf{R} = \frac{I_{dextran}}{I_{PFO}}$ )

La résistance à la coalescence que le polyélectrolyte ajouté apporte à l'émulsion est le signe qu'il se place à l'interface. Toutefois une couronne de polymère autour des gouttelettes ne peut pas être observée. Il est possible que la différence d'intensité entre les deux phases et l'interface ne soit pas suffisante pour pouvoir observer le polymère à l'interface.

Dans le cas du DEAED, la partition entre les deux phases de l'émulsion étant identique, il est plus aisé d'observer le polymère marqué à l'interface. En effet, un anneau légèrement lumineux est observé autour des gouttelettes de dextrane sans sel. Le contraste augmente quand on ajoute 0.1 mol/L de NaCl rendant la présence du polymère stabilisant à l'interface plus observable (figure 18). L'observation de cet anneau de polymère marqué à l'interface est la preuve de la localisation préférentielle du DEAED à l'interface. En ajoutant du sel, les charges sont écrantées et le volume occupé par les chaînes de polymère à l'interface diminue. Les additifs polymère pourraient alors être de taille insuffisante pour stabiliser l'interface. La meilleure observation de la couronne d'additif polymère montre que la concentration de polymère à l'interface augmente après l'ajout de sel.





Cependant, l'ajout de sel déstabilise l'émulsion, l'observation de la couronne de stabilisant autour de l'émulsion n'est donc pas la garantie de la stabilisation de l'émulsion.

# 2.2. Interaction entre le polymère et le POE ou le dextrane

Une explication de la stabilisation des émulsions POE-dextrane par certains polymères serait que le polymère ajouté ait une affinité spécifique pour le POE, le dextrane ou les deux polymères composant l'émulsion. Les polyélectrolytes pourraient interagir avec ces polymères par complexation et former des particules stabilisant l'interface.

Le POE ou le dextrane à la concentration présente dans l'émulsion après séparation de phase sont mélangés avec 10 g/L de chitosane. La même expérience est réalisée avec du DEAED et du PGA. Il est observé qu'à ces concentrations les solutions restent parfaitement transparentes. On peut donc exclure la possibilité que les polymères soient incompatibles, ce qui ne peut pas expliquer la stabilité accrue des émulsions en présence d'additif d'autant plus que la concentration utilisée en émulsion est 10 fois plus faible.

Si les polyélectrolytes ajoutés ne présentent pas d'interactions répulsives fortes avec les phases de l'émulsion, ils peuvent avoir des interactions attractives. Ces interactions sont investiguées en milieu dilué par diffusion de la lumière.

Les solutions de POE, dextrane, chitosane, DEAED et PGA sont préparées à des concentrations pour lesquelles l'intensité diffusée est similaire pour chacune d'elles. On mesure l'intensité diffusée par des solutions de chaque polymère seul. La somme des intensités de ces solutions de polymère stabilisant et d'une des phases est comparée à l'intensité diffusée par le mélange. En diffusion de la lumière, l'intensité diffusée est proportionnelle à la taille des objets en solution. Si le polymère ajouté avait une interaction attractive avec l'une des phases, la complexation entraînerait la présence d'objets de taille plus importante qui diffuseraient avec une intensité plus importante. Si l'intensité diffusée par le mélange est supérieure à la somme des intensités des polymères seuls, il y a interaction attractive. Si l'intensité du mélange est plus faible que la somme des intensités, l'interaction est répulsive. Enfin, si la somme des intensités du mélange, il n'y a pas d'interaction spécifique entre le polysaccharide ajouté et le POE ou le dextrane.

Le chitosane, le DEAED et le PGA sont étudiés en diffusion de la lumière en présence de POE ou de dextrane à différents pH afin d'observer leur comportement. Les résultats obtenus dans le cas du chitosane à pH 5 sont montrés sur la figure 19.

Les résultats obtenus aux différents pH pour le chitosane et le DEAED sont similaires (figures 19 et 20). L'intensité diffusée par le mélange est plus faible ou égale à l'intensité obtenue par la somme des solutions individuelles. Les interactions entre le POE et le dextrane avec ces deux polymères sont donc faiblement répulsives ou négligeables.



Figure 19. Intensité diffusée en fonction du vecteur de diffusion de solutions aqueuses de chitosane (1 g/L), dextrane (0.05 g/L), POE (0.1 g/L) à pH 5 et mélanges de Chitosane avec le POE (a) ou avec le dextrane (b) contenant les mêmes quantités de polymère. La somme des intensités des solutions individuelles est également montrée.



Figure 20. Intensité en fonction du vecteur de diffusion de solutions aqueuses de DEAED (1 g/L), dextrane (0.15 g/L), POE (0.4 g/L) à pH 5 et mélanges de DEAED avec le POE (a) ou avec le dextrane (b) contenant les mêmes quantités de polymère. La somme des intensités des solutions individuelle est également montrée.

Le mélange POE-PGA à pH4 montre une intensité plus faible que la somme des intensités, mais à pH 6 et pH 10 l'intensité diffusée par le mélange est plus forte que la somme des intensités. Le mélange dextrane-PGA présente également à tous les pH une intensité diffusée plus importante que la somme des intensités des solutions prises séparément (figure 21). L'augmentation de l'intensité est d'environ 40%. Il y a donc de faibles interactions attractives entre le PGA et les composants de l'émulsion.

L'étude des interactions du polymère stabilisant avec le POE et le dextrane, montre qu'il n'y a pas de fortes interactions et donc pas de complexation entre le stabilisant et les polymères constituant l'émulsion. On peut donc en déduire que les émulsions sont stabilisées par des chaînes de polymères individuelles en solution.



Figure 21. Intensité en fonction du vecteur de diffusion de solutions aqueuses de PGA (1 g/L), dextrane (0.1 g/L), POE (0.3 g/L) à pH 4 (a,b), pH 6 (c, d) et pH 10 (e, f) et mélanges de PGA avec le POE (a, c, e) ou avec le dextrane (b, d, f) contenant les mêmes quantités de polymère. La somme des intensités des solutions individuelle est également montrée.

# Conclusion

Il a été montré que certains polymères étaient capables de stabiliser les émulsions eau dans eau. Les émulsions contenant ces polymères stabilisants sont très sensibles à l'ajout de sel et à la variation du pH, la charge semble indispensable à la stabilisation. Les polymères ajoutés doivent donc être des polyélectrolytes. Les émulsions peuvent être stabilisées par des polymères cationiques (chitosane, DEAED) tout comme anioniques (PGA) et ce, à de faibles concentration, inférieures à 1 g/L.

Une stabilisation par répulsion entre les gouttelettes qui porteraient une charge de surface plus importante que la phase continue n'expliquerait pas pourquoi des polyélectrolytes tels que l'alginate et le  $\kappa$ -carraghénane ne stabiliseraient pas les émulsions. L'effet de la charge seule n'est donc pas suffisant pour permettre la stabilisation.

La différence entre l'alginate et le PGA est un groupement propylène glycol sur 80% des unités glycosidiques. Ce groupement est légèrement hydrophobe. Le chitosane porte également des groupements hydrophobes, les groupements acétyles, tout comme le DEAED qui possède des groupements éthyles sur l'amine. Il semblerait donc que la présence de groupements hydrophobes soit également nécessaire pour la stabilisation des émulsions eau dans eau.

La stabilité des émulsions diffère en fonction de la concentration, du pH, de la force ionique ou encore de la fraction volumique pour les différents polymères stabilisants. Ces comportements peuvent différer du fait de la différence d'interaction à l'interface.

L'observation d'un anneau de polymère stabilisant autour des gouttelettes (par microscopie confocale) n'est possible que dans le cas des émulsions contenant du DEAED, ce qui démontre que la concentration en polymères stabilisants est localement plus importante à l'interface. Cependant, il faut mentionner que le polymère se répartit également entre dans les deux phases (figure 19.a).

La détermination des tailles de gouttelettes des émulsions stabilisées par des polymères en solution montre que les gouttelettes grossissent peu en une semaine (figure 5). La coalescence est donc fortement ralentie. Pour empêcher la coalescence, une partie du polymère stabilisant doit nécessairement se situer à l'interface bien qu'il se partitionne également entre les deux phases de l'émulsion (figure 23).

Il a été rapporté dans la littérature que la présence des particules stabilisantes à l'interface n'était pas suffisante pour stabiliser les émulsions<sup>10</sup>. Il a été montré que les particules devaient également interagir entre elles à l'interface pour former une couche protectrice<sup>2</sup>. L'hypothèse émise ici est que les polymères stabilisants peuvent interagir entre eux à l'interface en s'enchevêtrant et en ayant des interactions attractives entre les groupements hydrophobes. Un réseau polymère à l'interface protègerait ainsi les gouttelettes de la coalescence.





En se plaçant à l'interface, les polyélectrolytes peuvent agir par répulsion électrostatique comme une protection stérique, empêchant ainsi le contact entre les gouttelettes et la coalescence.

La concentration d'additif polymère à l'interface est un paramètre important à déterminer. Cependant, le polymère se plaçant également dans les deux phases, la détermination de cette concentration à l'interface est très difficile. En plus de la charge et des groupements hydrophobes, l'enchevêtrement des chaînes d'additifs polymères entre elles à l'interface pourrait être indispensable à la stabilisation des émulsions. 1. Nguyen, B. T.; Nicolai, T.; Benyahia, L., Stabilization of water-in-water emulsions by addition of protein particles. *Langmuir* **2013**, *29* (34), 10658-10664.

2. Nguyen, B. T.; Wang, W.; Saunders, B. R.; Benyahia, L.; Nicolai, T., pH-responsive water-in-water Pickering emulsions. *Langmuir* **2015**, *31* (12), 3605-11.

3. Peddireddy, K. R.; Nicolai, T.; Benyahia, L.; Capron, I., Stabilization of water-in-water emulsions by nanorods. *ACS Macro Letters* **2016**, *5* (3), 283-286.

4. Gonzalez-Jordan, A.; Nicolai, T.; Benyahia, L., Influence of the protein particle morphology and partitioning on the behavior of particle-stabilized water-in-water emulsions. *Langmuir* **2016**, *32* (28), 7189-7197.

5. Ganley, W. J.; Ryan, P. T.; Van Duijneveldt, J. S., Stabilisation of water-in-water emulsions by montmorillonite platelets. *Journal of Colloid and Interface Science* **2017**, *505*, 139-147.

6. Inam, M.; Jones, J. R.; PéRez-Madrigal, M. M.; Arno, M. C.; Dove, A. P.; O'reilly, R. K., Controlling the size of two-dimensional polymer platelets for water-in-water emulsifiers. *ACS central science* **2017**, *4* (1), 63-70.

7. Ossenbach-Sauter, M.; Riess, G.; Champetier, G., Propriétés émulsifiantes des copolymères séquencés. Emulsions du type eau dans eau. *COMPTES RENDUS HEBDOMADAIRES DES SEANCES DE L ACADEMIE DES SCIENCES SERIE C* **1976**, 283 (6), 269-272.

8. Nicolai, T.; Murray, B., Particle stabilized water in water emulsions. *Food Hydrocolloids* **2017**, *68*, 157-163.

9. Vis, M.; Opdam, J.; Van't Oor, I. S.; Soligno, G.; Van Roij, R.; Tromp, R. H.; Erné, B. H., Water-in-water emulsions stabilized by nanoplates. *ACS Macro Letters* **2015**, *4* (9), 965-968.

10. Balakrishnan, G.; Nicolai, T.; Benyahia, L.; Durand, D., Particles trapped at the droplet interface in water-in-water emulsions. *Langmuir* **2012**, *28* (14), 5921-5926.

# Chapitre 4. Etude quantitative de la stabilisation par le chitosane

Introduction	
1. Etude des profils de transmittance	
2. Analyse des profils de transmittance	
2.1. Etude du suivi du front de sédimentation et de la for	mation de la couche continue de
la phase dispersée	
2.2. Evolution de la transmittance à des positions fixes er	n fonction du temps 104
3. Résultats et discussion	
3.1. Influence de la concentration de chitosane	
3.2. Influence du pH	
3.3. Influence de la vitesse de centrifugation	
Conclusion	

# Chapitre 4. Etude quantitative de la stabilisation par le chitosane

# Introduction

L'étude de la stabilisation des émulsions eau dans eau a été effectuée dans le chapitre 3 de manière qualitative. Le POE et le dextrane donnent lieu à des solutions transparentes, qui une fois émulsionnées, forment une émulsion turbide. Lors de sa déstabilisation, la turbidité de l'émulsion évolue jusqu'à la séparation de phase totale constituée des phases POE et dextrane limpides. Le suivi de la stabilité peut donc s'effectuer en observant la turbidité des émulsions sur toute la hauteur du tube au cours du temps. L'utilisation d'un appareil permettant de suivre l'évolution de la turbidité de manière quantitative au cours du temps permet d'interpréter plus finement les différents processus de la déstabilisation.

Le LUMiSizer® est un appareil qui permet d'accélérer la déstabilisation des émulsions par centrifugation afin de les caractériser plus rapidement mais également d'étudier l'effet de cette augmentation de la force de pesanteur sur la déstabilisation. Les émulsions seront caractérisées à 1G par le LUMiReader® et à différentes vitesses de centrifugation par le LUMiSizer®.

Les différents mécanismes de déstabilisation sont tout d'abord décrits pour une émulsion D/P avec  $\Phi = 0.25$  ( $\Phi$  étant la fraction volumique de phase dispersée) non stabilisée et pour la même émulsion stabilisée par l'ajout de 1 g/L de chitosane. Puis, l'effet de de la concentration en chitosane et du pH a été étudié. Enfin l'impact de la vitesse de centrifugation a été investigué.

# 1. Etude des profils de transmittance

La transmittance de la phase dextrane pure est d'environ 90% tandis que celle de la phase POE est d'environ 85%. Cette différence de transmittance est due à la différence d'indice de réfraction entre les deux milieux. La figure 1 montre la transmittance des émulsions D/P sans et avec chitosane à 1 g/L en fonction de la position dans le tube à différents temps pendant la centrifugation à 30G. Les positions dans le tube sont normalisées, avec l'interface eau-air à 1 et le bas du tube à 0.

On observe une transmittance initiale d'environ 40% du fait de la diffusion d'une partie de la lumière par l'émulsion qui est turbide au temps initial. Quand on continue à suivre l'évolution des profils en fonction du temps pour l'émulsion sans chitosane, on observe d'abord, jusqu'à 7.5 minutes, une augmentation de la transmittance jusqu'à environ 60% sur toute la hauteur du tube, excepté aux abords du fond de tube où des gouttelettes sont sédimentées (figure 1.a). Cette augmentation est probablement due à la coalescence, car la coalescence rend la transmittance plus élevée. En effet, quand la taille des gouttelettes augmente par coalescence la fraction de la lumière diffusée à très faibles angles et détectée comme transmise augmente. La diminution de la turbidité étant la même sur toute la hauteur du tube, il a été conclu que la coalescence est homogène, c'est-à-dire uniforme dans tout l'échantillon. Cette augmentation de transmittance est visible initialement avec et sans chitosane, bien que ce phénomène soit moins marqué avec 1 g/L de chitosane (environ 45% de transmittance ) (figure 1.b). Pour l'émulsion contenant du chitosane, la diminution de la transmittance en bas du tube est causée par une accumulation progressive des gouttelettes.

En absence de chitosane, dès 7.5 minutes, une phase avec une transmittance plus élevée apparaît en bas du tube et croît jusqu'à atteindre 25% de la hauteur du tube (figure 1.a'). Cette augmentation de transmittance est liée à la formation d'une couche homogène macroscopique de la phase dextrane qui grandit au fur et à mesure que les gouttelettes coalescent avec la couche homogène. L'interface entre les phases POE et dextrane séparées progresse vers la position relative de 0.25, les gouttelettes accumulées à l'interface se déplacent avec celle-ci. Le déplacement de ce front explique le déplacement du minimum de transmittance au fur et à mesure de la formation de la couche homogène de dextrane en bas du tube.

Avec 1 g/L de chitosane, la coalescence est fortement retardée et on observe un effet marqué de la sédimentation. La distribution de la taille des gouttelettes étant polydisperse, les gouttelettes ne sédiment pas toutes à la même vitesse (loi de Stockes), ce qui explique que le front de sédimentation n'est pas vertical (figure 1.b).





Figure 1. Suivi de la transmittance en fonction de la position dans le tube d'une émulsion D/P  $\Phi$ =0.25 pH5 à différent temps à 30G, 20°C sans (a et a') et avec 1 g/L de chitosane (b).

Les émulsions non stabilisées présentent presque exclusivement une augmentation homogène de la transmittance au cours du temps. Les émulsions contenant 1 g/L de chitosane s'éclaircissent peu avant la formation d'un front de sédimentation. Ces deux types d'émulsions présentent donc des profils de déstabilisation très différents. Afin de mieux appréhender la transition entre ces deux comportements, nous nous sommes intéressés à l'émulsion contenant 0.6 g/L de chitosane qui présente un comportement intermédiaire.

Les différentes étapes de la déstabilisation sont illustrées dans la figure 2. Entre 30 s et 16.5 minutes (figures 2a et 2b), on observe une augmentation de la transmittance sur toute la hauteur de tube qui est causée par la coalescence des gouttelettes. De plus, la transmittance diminue dans le bas du tube du fait de l'accumulation de gouttelettes due à la sédimentation de ces dernières à partir 16.5 minutes. Les effets de coalescence et sédimentation augmentent avec le temps et à 33 min (figure 2c) on observe une transmittance plus élevée en haut du tube. Ceci montre que l'effet de la sédimentation devient significatif avec l'apparition d'un léger front de sédimentation à la position relative de 0.8. Après 1h45, ce front de sédimentation est clairement visible et on observe, en même temps, une augmentation de la transparence au fond du tube qui

prouve la formation d'une phase homogène macroscopique de dextrane. Il y a donc formation d'une phase POE en haut du tube et d'une phase dextrane en bas du tube avec une accumulation de gouttelettes entre les deux phases. L'accumulation des gouttelettes à l'interface est identifiable par la diminution de transmittance (figure 2.d). La hauteur de la phase dextrane augmente avec le temps jusqu'à la déstabilisation complète (figure 2.e). La déstabilisation totale est visible par l'obtention d'une transmittance des phase POE et dextrane équivalente à celle des phases pures. Il n'y a alors plus de POE dans la phase dextrane et inversement. De plus l'interface entre les phases de POE et de dextrane se situe alors à la position relative de 0.25 ce qui correspond à la fraction volumique de phase dextrane (phase dispersée).





Figure 2. Profils de transmittance et états schématiques correspondants d'une émulsion D/P contenant 0.6 g/L de chitosane pH 5 à une vitesse de centrifugation de 30G.

# 2. Analyse des profils de transmittance

# 2.1. Etude du suivi du front de sédimentation et de la formation de la couche continue de la phase dispersée

Les profils de transmission sont analysés afin de mieux caractériser l'évolution des émulsions. Le suivi du front de sédimentation est effectué sur la phase POE en partant du haut du tube et la formation de la couche continue de la phase dextrane est suivi en partant du bas du tube pour une valeur de 70% de transmittance, comme illustré par les flèches bleues horizontales sur la figure 3.



Figure 3. Schéma de l'analyse du suivi de déstabilisation des émulsions D/P avec 0.6 g/L de chitosane pH5 30G au cours du temps. Les flèches horizontales montrent le suivi au cours du temps de la position dans le tube de la phase POE et de la phase dextrane pour une transmittance de 70%. Les flèches rouges verticales représentes les positions auxquelles les temps caractéristiques sont relevés.

On détermine sur toute la longueur du tube le temps auquel la transmittance dépasse un certain seuil (figure 3). Des résultats pour un niveau de transparence à trois pourcentages de transmittance différents sont étudiés (60. 65 et 70%). Les profils de position en fonction du temps montrent que plus le seuil de transmittance choisi est bas, plus le temps auquel la transmittance atteint la position d'équilibre est faible, seul un décalage systématique des valeurs au cours du temps apparaît et le comportement qualitatif est le même (figure 4).



Figure 4. Suivi du front de sédimentation dans la phase POE à 60%, 65% et 70% de transmittance (entre les positions relatives 0.25 et 1) et de la formation de la couche continue de la phase dextrane (entre les positions relatives 0 et 0.25) en fonction du temps pour des émulsions D/P  $\Phi$ =0.25 avec 0.6 g/L de chitosane à pH 5 et 30G. La ligne continue indique la position où les temps caractéristiques sont relevés.

A partir de la figure 4, un temps caractéristique de sédimentation est défini arbitrairement comme étant le temps auquel on atteint le seuil de transmittance au milieu entre le ménisque (haut de l'échantillon) et l'interface entre les deux phases à l'équilibre (soit pour une position relative de 0.625, figure 3). La même approche a été appliquée pour le suivi de la formation de la couche continue de dextrane en bas du tube pour une position relative de 0.125 (voir flèches rouges sur la figure 3). Ces temps caractéristiques permettent de comparer la stabilité des émulsions entre elles. Le suivi de la formation de la phase POE donne une information sur la vitesse de sédimentation des gouttelettes et le suivi de la formation de la phase dextrane permet de connaître la vitesse de coalescence mais également la résistance des gouttelettes à la compression, le suivi de la déstabilisation étant réalisé sous centrifugation.

## 2.2. Evolution de la transmittance à des positions fixes en fonction du temps



Figure 5. Schéma de l'analyse du suivi de transmittance de l'émulsion D/P avec 0.6 g/L de chitosane pH 5 à 30G au cours du temps.

Un second type d'analyse est le suivi de la transmittance moyenne au cours du temps dans le haut du tube où se forme la couche continue de la phase POE afin de caractériser la coalescence et la sédimentation (figure 5). La plage d'analyse est choisie au milieu entre le ménisque et l'interface entre les deux phases à l'équilibre entre les positions relatives 0.43 et 0.67. Une transmittance moyenne au cours du temps est ainsi obtenue (figure 6).



Figure 6. Suivi de l'évolution de la transmittance moyenne entre les positions relatives 0.43 et 0.67 au cours du temps dans la phase POE de l'émulsion D/P avec 0.6 g/L de chitosane pH 5 à 30G.

La figure 6 est le résultat du suivi de transmittance décrit figure 5. Dans les premiers temps, la transmittance augmente progressivement avec le temps jusqu'à atteindre 55%. La transmittance augmente ensuite rapidement jusqu'à atteindre 85% (qui correspond à la valeur de la phase homogène de POE). L'éclaircissement dans le tube aux premiers temps est dû à la coalescence homogène des gouttelettes le long du tube. La forte augmentation est ensuite attribuée au passage du front de sédimentation qui laisse place à une phase homogène de POE. Le temps pour lequel la transmittance augmente brutalement est donc caractéristique de la vitesse de sédimentation.

# 3. Résultats et discussion

### 3.1. Influence de la concentration de chitosane

Les émulsions à pH 5 sont étudiées à différentes concentrations de chitosane afin d'observer l'effet sur les profils de transmission. La figure 7 montre l'évolution du front de sédimentation et de la couche continue de dextrane à 30 G pour des émulsions contenant différentes concentrations de chitosane. Avec le temps, les deux fronts se rejoignent à la valeur d'équilibre de séparation de phase totale (position relative=0.25). Un fort ralentissement des deux

processus et un changement dans les profils de transmission est observé quand la concentration en chitosane augmente. Cet effet est visible en ajoutant seulement 0.1 g/L. Le temps caractéristique déterminé pour la phase dextrane est systématiquement plus grand que le temps de sédimentation.



Figure 7. Suivi du front de sédimentation et de la formation de la couche continue de la phase dextrane en fonction du temps (pour 70% de transmittance), à 30G pour des émulsions D/P  $\Phi$ =0.25 à pH 5 à différentes concentrations de chitosane. Les lignes continues indiquent la position à laquelle les temps caractéristiques sont pris (milieu de chaque phase à l'équilibre).

La figure 8 montre les temps caractéristiques de sédimentation et de formation d'une phase continue de dextrane en fonction de la concentration en chitosane, définis précédemment comme étant les temps auxquels la valeur de transmittance atteint 70% aux positions 0.625 et 0.125, respectivement. Les valeurs de trois réplicats sont montrées pour chaque concentration. En augmentant la concentration de chitosane, on diminue la vitesse de sédimentation et la vitesse de formation de la phase continue de dextrane. Bien que le temps de sédimentation soit systématiquement plus court que pour la formation de la phase continue de dextrane, leur évolution avec la concentration de chitosane semble similaire. Pour comparaison, l'évolution de la viscosité des émulsions avec la concentration en chitosane est également montrée sur la figure 8. La viscosité augmente nettement moins fortement avec la concentration en chitosane que les temps de sédimentation et de formation de la phase de dextrane. En effet, par exemple

à 1 g/L de chitosane, la viscosité n'est augmentée que d'un facteur 3 par rapport à l'émulsion sans chitosane alors que les temps de sédimentation et de formation de la phase dextrane sont augmentés d'environ 60 fois. Les temps nécessaires pour sédimenter et former la phase de dextrane ne peuvent pas être expliqués uniquement par l'augmentation de la viscosité. Ce résultat confirme l'observation que les vitesses de sédimentations au temps initial ne peuvent pas expliquer l'accroissement de la stabilité des émulsions, comme vu dans le chapitre précédent. La présence des additifs polymères a un effet sur la taille des gouttelettes, qui restent petites. Ainsi la vitesse de sédimentation, dépendant de la viscosité et les tailles de gouttelettes, est fortement réduite. L'influence de l'augmentation de la viscosité sur la sédimentation est très modérée. En revanche, la taille initiale et l'évolution des gouttelettes au cours du temps a un effet très important sur la vitesse de sédimentation.



Figure 8. a) Comparaison des temps caractéristiques de sédimentation, de la vitesse de formation de la phase dextrane à pH 5, à 30G, et de l'augmentation de la viscosité divisé par le rayon au carré en fonction de la concentration de chitosane.

La figure 9 montre le suivi de la transmittance de la phase POE au cours du temps pour des émulsions contenant différentes concentrations de chitosane. Les courbes présentent une première pente suivie d'une augmentation rapide de la transmittance puis d'un plateau. La

rapide augmentation de transmittance est due au passage du front de sédimentation. La valeur du plateau atteint après le passage du front est égale à la transmittance de la phase pure de POE. L'augmentation progressive de la transmittance est plus lente quand l'émulsion contient plus de chitosane. Ceci montre que la coalescence est ralentie par la couche de chitosane à la surface des gouttelettes. Par conséquent, la sédimentation est ralentie ce qui explique pourquoi l'augmentation rapide de l'intensité causée par le passage du front de sédimentation se produit plus tard.



Figure 9. Suivi de l'évolution de la transmittance moyenne entre d=0.47 et d=0.62 au cours du temps dans la phase POE à différentes concentrations de chitosane à pH 5 et à 30G.

### 3.2. Influence du pH

Le chitosane est un polyélectrolyte avec un pKa d'environ 6.5. Par conséquent, le pH peut avoir un effet sur la stabilité des émulsions en contenant. L'évolution des profils de transmittance des émulsions à 30G est étudiée à différents pH en présence de différentes concentrations de chitosane.

L'effet du pH sur les temps caractéristiques en fonction de la concentration en chitosane est montré dans la figure 10. Trois répétitions sont faites pour chaque système. Il n'y a pas de différence significative entre pH 4, pH 5 et pH 6, mais les temps caractéristiques sont
systématiquement plus courts à pH 3 que ce soit pour la sédimentation ou la formation de la phase dextrane.



Figure 10. Temps caractéristique de sédimentation (a), de formation de la phase dextrane (b) en fonction de la concentration de chitosane à différents pH à 30G. La ligne horizontale correspond au temps caractéristique de l'émulsion sans additif polymère.

Le chitosane présente sensiblement le même taux de charge aux pH 3 et 4, la différence de taux de charge étant plus important entre les pH 4 et 6, il est difficile d'expliquer la déstabilisation plus rapide des émulsions contenant du chitosane à pH 3 par la variation du taux de charge du chitosane. Les tailles de gouttelettes à différents pH ont été mesurées juste après homogénéisation et sont similaires pour tous les pH étudiés. Dans le chapitre précédent, il a été démontré que la partition du chitosane entre les deux phases évoluait en faveur du dextrane lorsque le pH augmente. Ainsi, la stabilisation moindre à pH 3 est peut-être liée à la variation d'affinité relative du chitosane entre les phases POE et dextrane.

#### 3.3. Influence de la vitesse de centrifugation

Les émulsions sont étudiées à 1G avec le Lumireader et à 30, 150 et 1000G avec le Lumisizer. Afin d'obtenir des résultats fiables, les émulsions sont étudiées à 1G dans des tubes de plus grande épaisseur (10 mm) que ceux utilisés durant la centrifugation (2 mm). De ce fait, les valeurs absolues de la transmittance sont légèrement différentes, mais l'effet du temps sur les profils peut être comparé.

La dépendance de la sédimentation avec la force centrifuge pour une émulsion est difficile à déterminer. Pour les émulsions, en plus du changement de vitesse de sédimentation, les gouttelettes peuvent coalescer, entraînant la variation de leur taille. A 1G, sans stabilisant, la transmittance augmente uniformément sur toute la longueur du tube, la coalescence se produit alors plus rapidement que la sédimentation. Aucun front de sédimentation n'est observable à 1G. En revanche à 1000G, le front de sédimentation se forme très rapidement, en quelques secondes, rendant la coalescence initiale très peu visible. Le front de sédimentation pour les émulsions sans stabilisant n'est pas observé à 30G. Un changement de comportement entre les émulsions centrifugées à 30G et 1000G se produit donc. Les profils de transmittance sont très différents pour une émulsion sans chitosane à 1G et à 1000G (figure 11). La coalescence à 1G se produit avant la sédimentation alors que le contraire se produit à 1000G.



Figure 11. Profils de transmittance en fonction de la position dans le tube et du temps d'une émulsion D/P  $\Phi$ =0.25 sans chitosane à pH 5 et à 1G (a) et 1000G (b).

La figure 12 montre qu'en présence de 1 g/L de chitosane la déstabilisation est extrêmement lente à 1G, l'émulsion étant stable après 12 jours. Une faible augmentation de la transmittance est visible en bas du tube, et peut résulter de la coalescence des gouttelettes. La transmittance reste faible car les gouttelettes restent nombreuses et petites. De ce fait, la sédimentation est

très lente. A 1000G, la sédimentation se produit plus lentement que pour les émulsions sans stabilisant. Une accumulation de gouttelettes de dextrane est visible avec la lente formation de la couche continue de dextrane due à la déstabilisation de l'émulsion par coalescence. Les émulsions contenant 1 g/L de chitosane opposent donc de la résistance à la coalescence bien qu'elles soient comprimées par la force centrifuge.



Figure 12. Profils de transmittance en fonction de la position dans le tube et du temps d'une émulsion D/P  $\Phi$ =0.25 avec 1 g/L de chitosane à pH 5 et à 1G (a) et 1000G (b).

La figure 13 montre l'effet de la vitesse de centrifugation sur les temps caractéristiques de sédimentation et de formation de la couche continue de la phase dextrane à différentes concentrations de chitosane. A toutes les vitesses de centrifugation, les temps caractéristiques augmentent quand la concentration de chitosane augmente. Comme attendu, les temps caractéristiques diminuent avec G même si les résultats sont proches pour 30G et 150G. Les figures 13.c et 13.d montrent les temps multipliés avec G. Une superposition des résultats est attendue dans cette représentation si la déstabilisation augmenteit de manière proportionnelle à l'accélération de la centrifugation. Néanmoins, t<sub>e</sub>xG augmente quand G augmente (figures 13.c et 13.d), particulièrement entre 30G et 150G. Il est évident que la vitesse de centrifugation a un impact sur les mécanismes de déstabilisation. Les plus faibles valeurs de t<sub>e</sub>xG à plus faibles vitesses sont expliquées par le fait que des gouttelettes ont plus de temps pour coalescer avant que la sédimentation ne devienne significative. Comme des gouttelettes plus grosses sédimentent plus vite, à une valeur de G donnée, t<sub>e</sub>xG est plus petit quand G est plus faible. En revanche, les valeurs de t<sub>e</sub>xG à 30g et 150g sont relativement proches, ce qui montre que l'effet de coalescence est limité à ces accélérations.





Figure 13. Comparaison des temps caractéristiques de sédimentation (a, c) et de formation de la couche continue de la phase dextrane (b, d) à différentes vitesses de déstabilisation à pH 5. Les figures c et d sont normalisées en multipliant les temps caractéristiques par G.

Plus la vitesse de centrifugation est importante plus la sédimentation est visible et la coalescence devient moindre. Ainsi, les contributions relatives de la coalescence et de la sédimentation variant avec G, les mesures effectuées sous centrifugation ne peuvent pas être extrapolées pour obtenir le temps de stabilisation des émulsions à 1G. Cependant une comparaison qualitative des émulsions étudiées dans les mêmes conditions peut être réalisée.

Comme mentionné plus haut, la déstabilisation à 1G à plus faibles concentrations de chitosane est dominée par la coalescence qui peut être quantifiée par le suivi de la transmittance en haut du tube. La figure 14 montre que l'effet sur la stabilité est limité jusqu'à 0.3 g/L où la coalescence était 10 fois plus lente que pour une émulsion non stabilisée et que l'effet devient très important à partir de 0.4 g/L où la coalescence était au moins 1000 fois plus lente. Le profil de séparation de phases d'une émulsion sans chitosane à fort G est similaire à celui d'une émulsion avec chitosane à des G plus faibles. Les mécanismes de déstabilisation sont donc les mêmes avec et sans chitosane mais le chitosane ralentit fortement la coalescence des gouttelettes.



Figure 14. Suivi de la transmittance dans la phase POE au cours du temps et à différentes concentrations de chitosane, à pH 5 et à 1G.

Pour une concentration de polymère stabilisant suffisamment élevée, un impact important sur la stabilité est visible. Cette concentration pourrait être la concentration à laquelle les gouttelettes sont totalement protégées par une couche de chitosane. La coalescence initiale est arrêtée plus rapidement avec une concentration égale ou supérieure à 0.6 g/L. La concentration étant plus importante la quantité de chitosane aux abords de la gouttelette serait plus grande et formerait la couche protectrice plus rapidement, la concentration minimale pour empêcher la coalescence initiale est d'environ 0.6 g/L de chitosane. La stabilité des émulsions pendant la centrifugation ne montre pas un changement aussi brutal entre 0.4 et 0.6 g/L. Ceci peut être expliqué par l'importance pour la stabilité du temps laissé à la couche de chitosane pour se structurer. Ce temps avant la sédimentation, qui force le contact entre les gouttelettes, est plus long à 1G. La concentration critique d'enchevêtrement (C\*) du chitosan est de 0.69 g/L. Cependant, le DEAED permet de stabiliser les émulsions aux mêmes concentrations que le chitosan et présente un C\*beaucoup plus éleve, 3.3g/L. Cette valeur a été calculée à partir du rayon obtenu par diffusion de la lumière en présence de 0.1mol/L de NaCl. Le rayon sans sel est difficile à déterminer et la concentration encore plus. La concentration interfaciale doit être déterminée pour approfondir la compréhension des mécanismes de stabilisation.

# Conclusion

Le suivi du profil de transmittance permet de distinguer les différents phénomènes pendant la déstabilisation des émulsions : coalescence et sédimentation suivies de la formation d'une couche homogène de la phase dispersée. La centrifugation permet d'accélérer la déstabilisation et par conséquent de diminuer le temps de l'expérience. Néanmoins, la centrifugation modifie le comportement des émulsions car la coalescence est moins dépendante de la vitesse de centrifugation que la sédimentation. Par conséquent, il n'est pas possible de déduire complètement le comportement des émulsions à 1 G des mesures effectuées à des vitesses de centrifugation plus élevées. Par contre, les effets qualitatifs de la concentration du stabilisant ou du pH peuvent être obtenus rapidement par le suivi des profils de transmittance en fonction du temps pendant la centrifugation.

Même une faible quantité de chitosane (0.1 g/L) ralentit la coalescence des gouttelettes de la phase dextrane, mais au moins 0.6 g/L sont nécessaires pour stabiliser les émulsions plus d'une semaine à 1G. L'effet de sédimentation devient plus important quand la coalescence est fortement ralentie par la présence de chitosane et/ou quand la vitesse de centrifugation est plus grande. Il y a un faible effet du pH sur la capacité stabilisante du chitosane entre pH 4 et pH 6, mais à pH 3 le chitosane est moins efficace. A des plus forts pH, le chitosane n'est plus soluble.

L'effet de l'ajout de chitosane aux émulsions POE-dextrane est le plus visible à 1G. La déstabilisation des émulsions sans additifs à 1G est due majoritairement à la coalescence. Les émulsions contenant 1 g/L de chitosane présentent une coalescence quasi nulle. Pour permettre cette diminution de la coalescence des gouttelettes, le chitosane doit se trouver à l'interface. L'étude de la transmittance des émulsions à différents temps et différentes positions dans le tube semblent renforcer l'hypothèse formulée dans le chapitre 3 (figure 23) d'une couche protectrice de chitosane autour des gouttelettes.

Chapitre 5. Impact de la masse molaire et du degré de substitution du chitosan sur la stabilité des émulsions eau dans eau.

Introdu	ction
1. Ecl	nantillons commerciaux de chitosan119
1.1.	Stabilité des émulsions D/P à pH 5 avec chitosan à 1 g/L119
1.2.	Effet de la concentration en chitosan
1.3.	Effet du pH124
2. Mo 120	odification chimique du chitosan : effet du degré d'acétylation et de la masse molaire
2.1.	Acétylation126
2.2.	Désacétylation
2.3.	Réacétylation129
Conclus	sion

# Chapitre 5. Impact de la masse molaire et du degré de substitution du chitosan sur la stabilité des émulsions eau dans eau.

# Introduction

De nombreux polymères ont été utilisés pour tenter de stabiliser les émulsions eau dans eau. Parmi ces polymères, nous avons montré dans le chapitre trois que le chitosan, le DEAED et le PGA étaient capables de stabiliser ces émulsions. Nous avons conclu que pour permettre de stabiliser les émulsions, des charges et une partie hydrophobe étaient nécessaires sur le polymère stabilisant.

Les taux de charge et de groupements hydrophobes tout comme la masse molaire du polymère peuvent être des paramètres importants pour la stabilisation des émulsions. Le chitosan, le DEAED et le PGA utilisés ont à priori ces bonnes proportions entre charges, fonctions hydrophobes pour une masse molaire donnée. Toutefois, il convient de faire varier plus systématiquement ces paramètres, ce qui est l'objet de ce chapitre.

L'effet de différents échantillons de chitosan commerciaux possédant des masses molaires et des degrés d'acétylation différents sur la stabilisation des émulsions a d'abord été étudié. Dans un second temps, afin d'étendre la gamme de degré d'acétylation disponible, le taux d'acétylation du chitosan a été modifié par acétylation et désacétylation, puis caractérisé. Les résultats obtenus pour les différents échantillons sont recoupés pour déterminer l'influence de ces trois paramètres et extraire les conditions que doit remplir le chitosan pour pouvoir stabiliser les émulsions PEO-dextran.

### 1. Echantillons commerciaux de chitosan

#### 1.1. Stabilité des émulsions D/P à pH 5 avec chitosan à 1 g/L

Les échantillons de chitosan de différentes masses molaires et différents degrés d'acétylation sont ajoutés à des émulsions D/P  $\Phi$ =0.25 à pH 5. Les masses molaires et degrés d'acétylation de ces échantillons sont regroupés dans le tableau 1. Ce pH a été choisi sur la base des observations effectuées dans le chapitre 3 avec l'échantillon C2 (pH auquel la stabilité est la plus importante (figure 10 chapitre 3)). La stabilité des émulsions est suivie visuellement en fonction du temps. La figure 1 montre les photos des émulsions après une semaine.

Echantillon	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11
Degré d'acétylation (%)	24	25	22	23	24	28	20	20	20	4	14
Masse molaire (x10 <sup>5</sup> g/mol)	2.5	3.3	4.5	6.8	5.3	5.5	2.4	7.8	3.8	1.2	1.2

 Tableau 1. Récapitulatif des masses molaires et des degrés d'acétylation des différents

 échantillons de chitosan.

Une distinction de la stabilité des émulsions vis-à-vis de la sédimentation et vis-à-vis de la coalescence est effectuée. Les émulsions sont ici classées en trois catégories, stables sans sédimentation, sédimentées mais avec présence de gouttelettes, ou instables une semaine après homogénéisation. Les échantillons de chitosan C1, C2, C4, C5, C6 et C8 à 1 g/L et pH5 stabilisent les émulsions au moins pendant une semaine sans montrer de signe de sédimentation ni de coalescence (figure 1). Ces échantillons de chitosan ont des masses molaires supérieures à 2 x  $10^5$  g/mol et des degrés d'acétylation supérieurs ou égaux à 20%. Les émulsions avec les échantillons C3, C7 et C9 sont relativement stables vis-à-vis de la coalescence a tout de même eu lieu. Les échantillons de chitosan C3, C7 et C9 ont une masse molaire supérieure à  $2x10^5$  g/mol et des degrés d'acétylation entre 20 et 22%. Ces échantillons de chitosan ont des caractéristiques proches de celles des échantillons C1, C2 C4, C6 et C8, cependant une différence de comportement est observée. La stabilité semble donc être très sensible au degré d'acétylation et à la masse molaire quand le degré d'acétylation est proche de 20%. La sédimentation est moins marquée pour l'échantillon 3 qui a une masse molaire plus élevée.

L'échantillon C9 montre une phase inférieure plus turbide que l'échantillon 7 dont la masse molaire est plus faible. Les échantillons C10 et C11 ont une masse molaire faible,  $1.2x10^5$  g/mol et de faibles degrés d'acétylation. Ils ne permettent pas de stabiliser les émulsions eau dans eau pendant une semaine puisqu'une séparation de phases macroscopique est très nettement observée.



Figure 1. Stabilité des émulsions D/P contenant 1 g/L de chitosan à pH 5 une semaine après homogénéisation.

L'effet de la masse molaire et du degré d'acétylation des échantillons de chitosan sur la stabilité des émulsions est montré dans la figure 2. On peut distinguer trois régions. A forte masse molaire et fort degré d'acétylation, le chitosan stabilise les émulsions sans signe de coalescence ni de sédimentation. A forte masse molaire mais plus faible degré d'acétylation, les émulsions sont stables vis-à-vis de la coalescence mais sédimentent. Les émulsions avec du chitosan de faible masse molaire et faible degré d'acétylation ne sont pas stables.

La masse molaire et le degré d'acétylation semblent être des paramètres importants pour la stabilisation des émulsions PEO-dextran par le chitosan. La stabilité est améliorée quand la masse molaire est supérieure pour un même degré d'acétylation.



Figure 2. Diagramme de stabilité des émulsions D/P à pH 5 en fonction de la masse molaire et du degré d'acétylation du chitosan ajouté à 1 g/L. Stable vis-à-vis de la coalescence et de la sédimentation en vert, instable en rouge et stable vis-à-vis de la coalescence en noir, après une semaine.

L'influence du degré d'acétylation semble critique, une légère diminution de ce dernier pouvant fortement influencer la stabilité (différence entre C1 et C7, par exemple). Pour confirmer ces hypothèses, il est nécessaire d'étudier de plus nombreux échantillons de masse molaire et de degrés d'acétylation différents.

#### 1.2. Effet de la concentration en chitosan

La figure 3 montre la stabilité des émulsions D/P ( $\Phi$ =0.25) contenant différentes concentrations de chitosan. L'impact de la concentration en chitosan des échantillons C1 à C4 et C7 à C9 est étudié. L'étude à différentes concentrations permet de discriminer les échantillons de chitosan stables pendant une semaine sans signe de déstabilisation.

Avec les échantillons C1 et C2, les émulsions sont stables pendant au moins une semaine à 0.8 g/L mais dès 0.6 g/L, une faible fraction de phase homogène de dextran est visible au bout de 7 jours (figure 3). L'émulsion avec 0.4 g/L de C1 se déstabilise rapidement. A 0.4 g/L C2 a

un comportement similaire qu'à 0.6 g/L, mais avec une sédimentation et une phase dextran plus marquées. Pour ces deux échantillons (C1 et C2), les émulsions ne sont plus stables après 1 jour avec 0.2 g/L de chitosan.

Pour C3, l'émulsion forme une phase continue de dextran à 7, 5 et 3 jours respectivement pour les concentrations de 0.8, 0.6 et 0.4 g/L. Les émulsions à 0.2 g/L ne sont pas stables, bien qu'une légère turbidité soit visible après une semaine montrant la présence de grosses gouttelettes persistantes.

L'échantillon C4 a un degré d'acétylation proche de celui des trois premiers échantillons, sa masse molaire est en revanche bien supérieure. En diminuant la concentration, les émulsions sont stables jusqu'à 0.6 g/L (figure 3). A 0.4 g/L, la sédimentation apparaît rapidement et une phase transparente qui évolue lentement est visible dans le bas du tube dès 2 jours. Ce comportement est proche de celui de l'échantillon C2. Les échantillons de chitosan C7, C8 et C9 ont un degré d'acétylation de 20% et différentes masses molaires. L'ajout de C7 à 1 g/L ne permet pas de conserver une émulsion stable pendant une semaine, cependant la stabilité est augmentée par rapport à une émulsion sans additif. Avec au moins 0.6 g/L de C7 et jusqu'à 1 g/L une émulsion est toujours observée après trois jours, mais elle présente des signes de sédimentation et de coalescence au-delà. A 0.4 et 0.2 g/L, des gouttelettes sont toujours visibles mais la séparation de phase est quasiment complète après trois jours. C7 et C1 ont des masses molaires comparables, cependant, C1 a un degré d'acétylation plus élevé et stabilise mieux les émulsions. Le même phénomène est observable entre les échantillons C2 et C9 et entre C4 et C8.





Les émulsions contenant du chitosan de plus fort degré d'acétylation nécessitent une concentration plus faible en additif polymère pour être stabilisées pendant une semaine. Le comportement des émulsions avec différentes concentrations de chitosan appuie l'hypothèse

formulée en observant les émulsions à 1 g/L de chitosan. Augmenter la masse molaire et augmenter le degré d'acétylation augmentent la stabilité des émulsions.

#### 1.3.Effet du pH

Le nombre de fonctions amines augmente quand le degré d'acétylation diminue. La différence de degré d'acétylation pourrait donc affecter le pH optimal de stabilisation les émulsions PEOdextran par le chitosan. La figure 4 montre la stabilité des émulsions D/P ( $\Phi$ =0.25) contenant 1 g/L de chitosan à différents pH pour les échantillons C1 à C4 et C7 à C9.

C1, C2 et C3 présentent une stabilisation optimale à pH5. La stabilité décroit au-dessus et en dessous de ce pH. Les émulsions sont toujours stables après une semaine pour les pH 3 et 4 dans le cas de C1 et pH 3 à 5 pour C2. C3 voit la stabilité de ses émulsions décroitre rapidement en s'éloignant de pH5.

A tous les pH entre 5 et 6.5, C4 permet de stabiliser les émulsions pendant au moins une semaine avec l'apparition d'une très fine couche en bas du tube à pH 6.5 après le quatrième jour (figure 4). Pour les pH 3 et 4, l'émulsion se déstabilise très vite. Après un jour l'émulsion est complètement déstabilisée.

Les échantillons C7 à C9 ont tous les trois un degré d'acétylation de 20% mais des masses molaires différentes. A pH 5 l'échantillon C9 a toujours des gouttelettes avec une phase supérieure turbide, et l'échantillon C8 est stable avec de la sédimentation. La figure 4 montre une émulsion stable à tous les pH pour les échantillons C8 et C9 avec des pH optimaux respectivement à 5.5 et 6. Le chitosan C7 sédimente rapidement et une phase continue de dextran est visible après une semaine. En diminuant le degré d'acétylation, on s'attend à un pH optimal augmenté pour obtenir un taux de charge identique. Par exemple, l'échantillon C7 présente de la coalescence à pH 5 avec formation prononcée d'une phase dextran après 7 jours. Cette phase diminue à pH 5.5 et n'est plus perceptible à pH6.



Figure 4. Suivi de stabilité des émulsions D/P à différents pH contenant 1 g/L pour les échantillons C1 à C4 et C7 à C9.

La déstabilisation de C4 à pH 3 et 4 est remarquable. La masse molaire de ce chitosan est élevée et le degré d'acétylation intermédiaire entre C2 et C8 qui sont tous deux stables à ces pH. La courbe de titration de C4 par de la soude montre un taux de fonctions amines supérieur à celui attendu d'après la détermination du taux d'acétylation par RMN. La déstabilisation du C4 aux

pH inférieurs pourrait être expliquée par une acétylation partielle sur les fonctions hydroxyles. Le nombre de charges serait ainsi plus élevé qu'attendu pour C4 et un pH plus élevé serait nécessaire pour diminuer le taux de charges à la même valeur que pour les échantillons C2 et C8 et ainsi trouver le bon équilibre entre parties hydrophobes et charges qui semble essentiel à la stabilisation.

# 2. Modification chimique du chitosan : effet du degré d'acétylation et de la masse molaire

Afin d'affiner le diagramme de stabilité des émulsions D/P et de mieux appréhender l'impact du degré d'acétylation du chitosan sur la stabilisation des émulsions, ce paramètre a été modulé par modification chimique. L'acétylation du chitosan permet d'étudier l'impact du degré d'acétylation sans faire varier la masse molaire. Malheureusement, a contrario la désacétylation se fait dans des conditions qui entraînent la dégradation des chaînes de polysaccharides.

#### 2.1. Acétylation

L'acétylation du chitosan C2, C4 et C8 est effectué en milieu aqueux en présence d'anhydride acétique selon le protocole décrit par Kurita, *et al.*<sup>1</sup> La quantité d'anhydride acétique ajoutée est calculée en fonction du taux d'acétylation visé. Le taux d'acétylation maximal est de 50%, au-dessus de cette valeur, le chitosan n'est plus soluble dans l'eau<sup>2</sup>. Le taux d'acétylation est ensuite vérifié par RMN <sup>1</sup>H. La conservation de la masse molaire moyenne en masse après acétylation est vérifiée pour quelques échantillons par diffusion statique de la lumière et montre qu'aucune dégradation des chaînes de chitosan ne se produit lors de l'acétylation.

Echantillon	C2	C12	C13	C14
Degré d'acétylation (%)	25	35	40	50
Masse molaire ( $x10^5$ g/mol)	3.25	3.5	3.5	3.5

C4	C15	C16
23	40	50
6.8	6.8	6.8

Echantillon	<b>C8</b>	C17	C18
Degré d'acétylation (%)	20	30	50
Masse molaire ( $x10^5$ g/mol)	7.8	7.8	7.8

C10	C19	C20
4	25	40
1.2	1.2	1.2

Echantillon	C11	C21	C22
Degré d'acétylation (%)	14	25	40
Masse molaire ( $x10^5$ g/mol)	1.2	1.2	1.2

Tableau2. Masse molaire et degré d'acétylation des échantillons obtenus après acétylation des échantillons C2, C4, C8, C10 et C11. Les précurseurs utilisés sont indiqués en gras dans la première colonne de chaque tableau.

L'acétylation de C2 à 50% (C14) ne provoque pas de changement du comportement de l'émulsions à pH 5 et 1 g/L par rapport à son précurseur. Afin d'observer l'effet sous d'autres conditions, les émulsions avec C14 ont été étudiées à différentes concentrations et différents pH. Le comportement à toutes les concentrations et pH est proche de celui du chitosan avant acétylation (figure 5).





Les émulsions contenant les échantillons C10 et C11 avec un degré d'acétylation initial faible se déstabilisent après un jour. Nous avons constaté que l'acétylation ne permet pas d'augmenter la stabilisation des émulsions avec ces échantillons de chitosan de faible masse molaire. Ceci démontre que malgré un degré d'acétylation supérieur à la valeur critique d'environ 25%

observée pour des échantillons commerciaux, des échantillons de chitosan de faible masse molaire ne sont pas capables de stabiliser des émulsions D/P. Cette observation illustre l'importance de la masse molaire. L'augmentation du nombre de groupements hydrophobes ne semble pas améliorer la stabilité des émulsions quand la masse molaire du chitosan est trop faible.

#### 2.2. Désacétylation

L'effet de désacétylation du chitosan a été testé sur C2 et C4. La désacétylation se produit en présence d'une forte concentration en soude, ici 40% massique et en chauffant à 80°C<sup>3</sup>. Dans ces conditions, le chitosan n'est pas soluble et la désacétylation se produit en milieu hétérogène. Le processus de la désacétylation conduit à la dégradation des chaînes de chitosan et donc une diminution de la masse molaire (figure 6).

Les échantillons C23 à C25 sont obtenus par désacétylation de C2 et présentent des degrés d'acétylation respectifs de 4, 10 et 14% alors que l'échantillon C26 est désacétylé à partir de C4 avec un degré d'acétylation de 6%. La désacétylation de C2 de 25 à 4% de groupements acétyles (C23) entraîne une diminution de la masse molaire d'environ 30%. Les émulsions contenant C2 désacétylés à 4 ou 10 % sont totalement séparées de phase après un jour seulement alors que pour rappel, elles restent stables en présence de C2 (25% d'acétylation) pendant plus de 7 jours. A 14%, on observe une sédimentation rapide, mais des grosses gouttelettes sont toujours visibles après un jour (figure 6).

Echantillon	C2	C23	C24	C25	C4	C26
Degré d'acétylation (%)	25	4	10	14	23	6
Masse molaire (x10 <sup>5</sup> g/mol)	3.25	1.9	2.1	2.3	6.8	3.6
Précurseur	/	C2	C2	C2	/	C4
			)			

Figure 6. Masse molaire et degré d'acétylation des échantillons obtenus après désacétylation des échantillons C2 et C4 (en gras). Stabilité des émulsions D/P contenant 1g/L de chitosan une semaine après homogénéisation à pH 5.

La diminution du degré d'acétylation combiné avec la diminution de la masse molaire diminue la stabilité des émulsions. Cependant, puisqu'il y a diminution de la masse molaire lors de la déacétylation, il est difficile, ici, de discriminer l'impact de chaque paramètre individuellement.

La désacétylation du C4 mène aussi à une masse molaire plus faible (C26), mais comme la masse molaire initiale était plus élevée, cette dernière, après la désacétylation jusqu'à 6%, est relativement proche de celle de C2. Ceci permet la comparaison de deux échantillons de masse molaire similaire mais possédant des degrés d'acétylation différents. Cet échantillon reste stable après une semaine tout en présentant une sédimentation d'une partie des gouttelettes qui forment une couche plus turbide en bas du tube sans qu'il y ait de formation d'une couche homogène de dextran. Il semble que l'effet de la désacétylation sur la stabilité est nettement moindre si la masse molaire est plus élevée.

#### 2.3.Réacétylation

L'effet de la réacétylation du chitosan désacétylé a été étudié. Nous avons vérifié que la masse molaire n'était pas ou faiblement modifiée par la réacétylation. Les émulsions avec les échantillons de chitosan de plus petite masse molaire ( $M_w=2.1x10^5$  g/mol) sont toutes déstabilisées après une journée et la réacétylation n'augmente pas la stabilité. Par contre, les émulsions avec les échantillons de chitosan de plus grande masse molaire ( $M_w=3.6x10^5$  g/mol) restent toutes stables pendant au moins une semaine sans signe de sédimentation comme c'est le cas pour l'échantillon à 6% d'acétylation (C26).

Echantillon	C24	C2	C28	C29	C3	C26	C31	C32	C33
Degré d'acétylation (%)	10	15	25	36	50	6	25	40	50
Masse molaire (x10 <sup>5</sup> g/mol)	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1	3.6	3.6	3.6	3.6
Précurseur	/	C2	C24	C24	C2	/	C26	C26	C26

Figure 7. Masse molaire et degré d'acétylation des échantillons obtenus après désacétylation (C24 et C26 en gras) et réacétylation (C27 à 32). Stabilité des émulsions D/P contenant 1g/L de chitosan après une semaine à pH 5.

La réacétylation des échantillons de chitosan de forte masse molaire permet d'améliorer la stabilité contre la sédimentation des émulsions D/P. Les échantillons de chitosan de masse molaire  $2.1 \times 10^5$  g/mol ne permettent pas la stabilisation des émulsions sur toute la gamme de degré d'acétylation accessible.

## Conclusion

La figure 7 décrit l'état des émulsions D/P après une semaine avec 1 g/L de chitosan pour tous les échantillons étudiés en fonction de la masse molaire et du degré d'acétylation. Toutes les émulsions avec des échantillons de chitosan de masse molaire plus faible que 2.1x 10<sup>5</sup> g/mol sont instables indépendamment de leur degré d'acétylation. Avec des masses molaires plus grandes, les émulsions sont stables, mais on observe une sédimentation quand le degré d'acétylation est plus faible qu'environ 25%. Cette valeur critique de degré d'acétylation dévie vers des valeurs sensiblement plus faibles quand la masse molaire augmente.



Figure 7. Diagramme de stabilité des émulsions D/P ( $\Phi$ =0.25) en fonction du degré d'acétylation et de la masse molaire des échantillons de chitosan commerciaux, acétylés, désacétylés et réacétylés à 1 g/L, pH 5. Echantillons stables en vert, stables avec sédimentation en noir et instable en rouge.

Il est surprenant que le degré d'acétylation n'ait pas un effet sur la stabilité pour le chitosan avec  $M_w$ =2.1x10<sup>5</sup> g/L, tandis qu'on observe un effet pour les masses molaires plus grandes. Il faut considérer la possibilité que la structure moléculaire des échantillons de chitosan désacétylés puis réacétylés ne soit pas la même que celle des échantillons seulement acétylés avec le même degré d'acétylation final (figure 7). En effet, l'acétylation n'est pas 100% sélective aux fonctions amine et peut également avoir lieu sur les fonctions hydroxyle. La fraction de fonctions amines disponibles étant différente selon le degré d'acétylation initial, il est fort probable que la répartition entre les N-acétyl et O-acétyl diffère selon le degré d'acétylation initial (pour un degré d'acétylation final identique). Ainsi, selon l'historique d'acétylation/désacétylation. Cette répartition des groupements acétyles pourrait affecter également la stabilité des émulsions.

1. Kurita, K.; Ishii, S.; Tomita, K.; Nishimura, S. I.; Shimoda, K. J. J. O. P. S. P. a. P. C., Reactivity characteristics of squid  $\beta$ -chitin as compared with those of shrimp chitin: High potentials of squid chitin as a starting material for facile chemical modifications. **1994**, *32* (6), 1027-1032.

2. Rinaudo, M., Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in polymer science* **2006**, *31* (7), 603-632.

3. Kurita, K.; Tomita, K.; Tada, T.; Ishii, S.; Nishimura, S. I.; Shimoda, K. J. J. O. P. S. P. a. P. C., Squid chitin as a potential alternative chitin source: deacetylation behavior and characteristic properties. **1993**, *31* (2), 485-491.

Chapitre 6. Viscosité et morphologie des émulsions eau dans eau non stabilisées et stabilisées par différents biopolymères

Introduc	ction .		134
1. Emuls	sions	POE-dextrane non stabilisées	135
1.1.	Influ	uence de la fraction volumique	135
1.1	1.	Viscosité	135
1.1	2.	Morphologie	142
1.2.	Influ	uence de la dilution de l'émulsion	146
1.2	2.1.	Viscosité	146
1.2	2.2.	Morphologie	147
2. Emuls	sions	stabilisées par des polysaccharides	149
2.1.	Influ	uence du type de polymère ajouté	149
2.2.	Influ	uence de la fraction volumique	151
2.2	2.1.	Viscosité	151
2.2	2.2.	Morphologie	154
2.3.	Influ	uence de la concentration en polymère ajouté	155
2.3	8.1.	Viscosité	155
2.3	8.2.	Morphologie	157
3. Em	nulsion	n D/P stabilisée par des microgels de protéines (WPI)	158
3.1.	Visc	osité	158
3.2.	Mor	phologie	160
4. Em	nulsion	ns avec deux phases de même viscosité	161
4.1.	Visc	osité	161
4.2.	Mor	phologie	162
Conclus	ion		164

# Chapitre 6. Viscosité et morphologie des émulsions eau dans eau non stabilisées et stabilisées par différents biopolymères

# Introduction

Il a été vu précédemment que les émulsions eau dans eau pouvaient être stabilisées de différentes manières. Des particules de différentes natures et morphologies<sup>1-4</sup> ou encore des polymères en solution<sup>5</sup> sont capables de stabiliser ces émulsions. Ce qui permet leur application dans de nombreux domaines tels que l'agroalimentaire, la pharmaceutique ou encore la cosmétique. Afin de les mettre en œuvre dans ces applications, il est intéressant de les étudier par rhéologie.

Les courbes d'écoulement des émulsions eau dans eau ont une allure caractéristique avec un plateau newtonien à bas taux de cisaillement suivi d'une première rhéofluidification, d'un second plateau et d'une seconde rhéofluidification. Cette forme particulière a déjà été décrite dans la littérature qui propose des équations pour la modéliser <sup>6-9</sup>.

Il est présenté ici une étude plus complète sur la relation entre la viscosité et la morphologie des émulsions POE-dextrane en fonction du taux de cisaillement. Les courbes d'écoulement ont été comparées aux modèles existants. Une cellule de cisaillement couplée à un microscope confocal a permis l'étude de la morphologie des émulsions sous cisaillement.

Les émulsions seront étudiées à différentes fractions volumiques, à différentes dilutions pour les émulsions non stabilisées et également en fonction de la concentration et du type de stabilisant pour les émulsions stabilisées. Une émulsion dont les deux phases présentent la même viscosité est également étudiée.

## 1. Emulsions POE-dextrane non stabilisées

#### 1.1. Influence de la fraction volumique

#### 1.1.1. Viscosité

Les émulsions D/P (triangle bleu de la figure 1) et P/D (carré rouge) avec une fraction volumique de phase dispersée de 25% se trouvant sur le même segment conjugué sont étudiées. Les concentrations du POE et du dextrane après séparation de phase sont respectivement 80.5 g/L et 161 g/L.



Figure 1. Diagramme de phase du système POE-dextrane<sup>10</sup>. Les compositions des émulsions D/P (triangle bleu) et P/D (carré rouge) à 25% de phase dispersée sont présentées.

La viscosité des émulsions en fonction du taux de cisaillement est étudiée pour les émulsions D/P et P/D de fraction volumique de phase dispersée  $\Phi$ =0.25. Le plateau newtonien des émulsions D/P (0.45 Pa.s) est plus élevé que celui des émulsions P/D (0.12 Pa.s). Cette viscosité est principalement régie par la viscosité de la phase continue. La phase POE étant plus visqueuse que la phase dextrane (0.32 Pa.s pour la phase POE et 0.065 Pa.s pour la phase dextrane), les émulsions D/P auront donc une viscosité newtonienne plus importante que les

émulsions P/D. Les viscosités des phases de POE et de dextrane pures sont également montrées en figure 2.

La solution de dextrane est de faible viscosité et ne présente pas de rhéofluidification sur la gamme de taux de cisaillement étudiée. La solution de POE est plus visqueuse que la phase dextrane avec une rhéofluidification visible à partir d'un taux de cisaillement de  $30 \text{ s}^{-1}$ .

Pour les émulsions, en augmentant le taux de cisaillement jusqu'à 2 s<sup>-1</sup>, la viscosité commence à diminuer. Cette première rhéofluidification est due à la déformation des gouttelettes. Lorsque le taux de cisaillement augmente encore jusqu'à atteindre 20 s<sup>-1</sup>, un plateau est atteint. Dans la littérature, la formation de ce plateau est attribuée à la rupture des gouttelettes. Enfin, à très forts taux de cisaillement, une seconde rhéofluidification a lieu. Cette rhéofluidification est attribuée à la rhéofluidification de la solution de POE qui forme une des deux phases de l'émulsion.

Les viscosités newtoniennes des émulsions sont plus élevées que celle de la phase continue correspondante. La rhéofluidification des émulsions P/D est moins marquée que celle des émulsions D/P, mais reste présente. Par ailleurs, l'indice de rhéofluidification de l'émulsion D/P est très proche de celui de la phase POE et celui de l'émulsion P/D est très peu marqué, alors que la phase dextrane reste newtonienne. On peut en déduire que la rhéofluidification de l'émulsion de l'émulsion est régie celle de la phase continue, mais que la phase dispersée y contribue également dans une moindre mesure.

Les courbes d'écoulement sont obtenues en cisaillement décroissant suivi de la même rampe en cisaillement croissant. On peut observer une hystérèse entre les courbes à taux de cisaillement croissante et décroissante (figure 2). En commençant par les forts taux de cisaillement, on observe l'effet de la relaxation d'un système fortement perturbé pendant la diminution du cisaillement. En taux de cisaillement croissant, on observe l'effet d'une augmentation du cisaillement sur les gouttelettes dispersées. Par la suite, on seules les courbes à taux de cisaillement croissant sont considérées



Figure 2. Courbes d'écoulement des émulsions D/P (triangles bleus) et P/D (triangles rouges) à une fraction volumique  $\Phi$ =0.25. Les viscosités des phases pures de POE à 80.5 g/L (carrés bleus) et de dextrane à 161 g/L (carrés rouges) sont montrées pour comparaison. Les lignes continues et hachurées sont les correspondances aux modèles des équations 10 et 12.

La figure 3 montre la viscosité des émulsions en fonction du taux de cisaillement croissant à différentes fractions volumiques. La viscosité newtonienne des émulsions augmente quand la fraction de POE augmente jusqu'à environ 75% puis diminue au-delà pour tendre vers une valeur proche de celle de la phase POE pure à 50%. A 35% la viscosité devient plus faible à cause de l'inversion de phases.



Figure 3. Courbes d'écoulement en augmentant le taux de cisaillement à différentes fractions volumiques de POE indiquées sur la figure. Les lignes continues et hachurées correspondent aux équations 10 et 11 (p.29).

Figure 3 montre que les équations 10 et 11 décrivent bien les valeurs expérimentales sur toute la gamme de taux de cisaillement à l'exception de  $\Phi = 50\%$ . Les paramètres pour ajuster les modèles aux données expérimentales sont les viscosités newtoniennes des phases continue et dispersée et le temps de relaxation. Pour correspondre aux viscosités à fort taux de cisaillement, il faut également prendre en compte la rhéofluidification du POE. Il faut maintenant évaluer si les valeurs extraites des modèles ont un réel sens physique.

Les valeurs de la viscosité newtonienne ( $\eta_0$ ) et de la viscosité du second plateau à plus fort taux de cisaillement ( $\eta_{\infty}$ ) sont comparées aux équations proposées dans la littérature dans la figure 4.

Des équations pour décrire les courbes d'écoulement ont été proposées par Kroy (équation 10). Pour rappel,  $K = \frac{\eta_c}{\eta_d}$ , soit le rapport de la viscosité de la phase dispersée sur celle de la phase continue.

$$\eta = \frac{\eta_c}{1 + (\tau \dot{\gamma})^2} \left[ x \left[ \frac{2K + 2 + 3\phi(K + 0.4)}{2K + 2 - 2\phi(K + 0.4)} + \frac{2K + 3 + 3\phi(K - 1)}{2K + 3 - 2\phi(K - 1)} \right] x (\tau \dot{\gamma})^2 \right]$$
(10)

Frankel et Acrivos ont également proposé une équation pour modéliser le comportement des émulsions eau dans eau (équation 12)

$$\eta = \frac{\eta_c}{1 + (\tau_1 \gamma)^2} * \left[ 1 + \Phi \frac{5K + 2}{2K + 2} + \left( 1 + \Phi \frac{5*(K - 1)}{2K + 3} \right) * (\tau \gamma)^2 \right]$$
(11)

avec

$$\tau = \frac{\eta_c * R}{\Gamma} * \frac{(19K + 16)(2K + 3 - 2\Phi(K - 1))}{40(K + 1) - 8\Phi(5K + 2)}$$
(12)

De même que Choi et Schowalter (équation 13).

$$\eta = \eta_c \left[ \frac{1 + h_1 h_2 \dot{\gamma}^2}{1 + h_2^2 \dot{\gamma}^2} \right] \tag{13}$$

avec

$$h_1 = \tau \left[ 1 + \Phi \frac{5(19K+16)}{4(K+1)(2K+3)} \right] \quad \text{et} \quad h_2 = \tau \left[ 1 + \Phi \frac{3(19K+16)}{4(K+1)(2K+3)} \right]$$
(14)

La viscosité à « fort » taux de cisaillement est relevée sur le second plateau (vers 20 s<sup>-1</sup>) quand la rhéofluidification de la phase POE est encore négligeable. Les valeurs de viscosités des deux plateaux de la courbe d'écoulement sont comparées aux valeurs théoriques dans la figure 4. On peut remarquer que le modèle de Choi et Schowalter prédit des viscosités au plateau newtonien beaucoup plus élevées que les valeurs expérimentales, et ce, même à faible fraction volumique de phase dispersée. Kroy *et al.*<sup>8</sup> ont également noté cette différence entre les valeurs expérimentales et les prédictions théoriques pour un système alginate-caséinate. Cependant, ce modèle a permis de décrire correctement des émulsions eau dans eau par le passé<sup>9</sup> pour des fractions volumiques inférieures à 20%.

Les viscosités à fort et faible cisaillement sont bien décrites par les équations 10 et 11 pour des fractions volumiques de phase dispersée inférieures à 25%. L'équation 10 semble donner les

valeurs de viscosités les plus proches des valeurs expérimentales. De manière inattendue, une simple loi de mélange logarithmique :  $\log (\eta_c) = \phi \log (\eta_d) + (1-\phi) \log (\eta_c)$  (équation 15) permet de mieux décrire les viscosités à fort taux de cisaillement pour toutes les fractions volumiques, ce qui a été également reporté par Wolf et Frith<sup>9</sup>.





La déviation des modèles théoriques par rapport aux résultats expérimentaux pour  $\eta_{\infty}$  peut s'expliquer par la formation de filaments à forts taux de cisaillement, comme il sera montré par la suite, qui n'est pas prise en compte par ces modèles théoriques. De plus, les interactions hydrodynamiques entre les gouttelettes à forte fraction volumique influencent fortement la viscosité de l'émulsion. Ces interactions ne sont pas prises en compte par ces théories, ce qui explique en partie les différences observées pour  $\eta_0$  avec les valeurs expérimentales.

Les viscosités et les temps de relaxation obtenus à partir des modèles de Kroy et Frankel et Acrivos sont présentés dans les figures 5.a et 5.b. La viscosité newtonienne de la phase continue

obtenue est proche de la viscosité de la phase POE pure quand  $\Phi>0.75$  et proche de la viscosité de la phase dextrane pure à  $\Phi \leq 0.25$ . La correspondance avec la viscosité de la phase dextrane à  $\Phi=0.5$  semble fortuite. Les viscosités extraites des modélisations sont donc cohérentes par rapport aux valeurs expérimentales pour des fractions volumiques en phase dispersée inférieures ou égales à 0.25. Par ailleurs, les viscosités de la phase dispersée obtenues sont comprises entre les viscosités des phases POE et dextrane.

Le temps de relaxation dépend de la viscosité des deux phases, de la tension interfaciale et des tailles de gouttelettes. Les émulsions à différentes fractions volumiques sont préparées sur le même segment conjugué, elles présentent donc toutes la même tension interfaciale, ce qui signifie que seule la taille des gouttelettes varie. Un plus grand temps de relaxation est donc relié à des gouttelettes de taille plus importante. Le temps de relaxation présente un maximum pour une fraction volumique  $\Phi$ =0.5 et diminue pour des fractions volumiques de phase dispersée plus faibles. Les temps de relaxation des émulsions pour lesquelles la phase POE est continue semblent être systématiquement plus grands que pour les émulsions P/D pour une même fraction volumique de phase dispersée.



Figure 5. Viscosités de la phase continue ( $\eta_c$ , Cercles), de la phase dispersée ( $\eta_d$ , triangles) (5a) et temps de relaxation (5b) obtenus par les équations 10 (symboles pleins) et 11 (symboles vides). Les lignes pointillées sur la figure 5a représentent en haut la viscosité de la phase de POE pure et en bas celle de la phase dextrane pure.

#### 1.1.2. Morphologie

Les images de microscopie confocale montrent la même tendance de tailles de gouttelettes que les valeurs obtenues par les modèles théoriques. La taille des gouttelettes augmente quand la fraction volumique de la phase dispersée augmente avec une inversion de phase comprise entre  $\Phi$ =0.5 et  $\Phi$ =0.65. Les gouttelettes semblent plus petites pour  $\Phi$ =0.35 que pour  $\Phi$ =0.65 alors que la fraction volumique de phase dispersée est identique ce qui est en accord avec la tendance des temps de relaxations.





Pour rappel, un temps de relaxation plus long est relié à une taille de gouttelettes plus importante. Sur le même segment conjugué, la tension interfaciale est la même et viscosité de chacune des phases également. Les gouttelettes de plus grande taille sont plus fortement déformées pour un même taux de cisaillement, elles ont besoin de plus de temps pour revenir à l'équilibre. Qualitativement, la variation de la taille de gouttelettes observée est similaire à celle calculée à partir du temps de relaxation (équation 12), mais les valeurs calculées (34-55 $\mu$ m) sont bien plus importantes que celles déterminées par microscopie confocale (9-27 $\mu$ m). Ces modèles, qui ne prennent pas en considération le fait que les gouttelettes puissent fortement se déformer, s'orienter et coalescer sous cisaillement, ne décrivent donc pas bien, quantitativement, la relaxation des émulsions eau dans eau.

Afin de pouvoir visualiser l'effet du cisaillement sur la morphologie des gouttelettes, une cellule de cisaillement couplée au microscope confocal a été utilisée (voir chapitre 2). Les émulsions sont vortexées avant d'être placées entre les deux lames et un précisaillement de 10 s<sup>-1</sup> est appliqué pendant 5 secondes puis le cisaillement voulu est appliqué.

A faible taux de cisaillement, les gouttelettes se déplacent avec la phase continue sans être déformées. En augmentant le taux de cisaillement, les gouttelettes sont de plus en plus déformées et s'alignent dans le sens du cisaillement. En augmentant encore le taux de cisaillement, les gouttelettes sont de plus en plus déformées jusqu'à s'étirer en longs filaments (figure 7). Des résultats similaires ont été déjà observés pour des émulsions eau dans eau par d'autres groupes précédemment<sup>9, 11</sup>. La cellule de cisaillement est, ici, composée de deux plans se déplaçant dans des directions opposées, le suivi sur des temps très longs ne peut pas être effectué. Tromp et De Hoog<sup>11</sup> ont montré que les filaments coalesçaient verticalement pour former des filaments plus épais voire des bandes lors de cisaillements durant des temps longs<sup>11</sup>.

Les gouttelettes se déforment à plus faibles taux de cisaillement quand la fraction volumique de phase dispersée est plus importante, du fait de l'augmentation de la taille des gouttelettes. Le taux de cisaillement auquel les filaments commencent à se former est également plus faible quand la fraction volumique augmente. La déformation des gouttelettes et la formation des filaments se produisent à de plus forts taux de cisaillement pour les émulsions P/D que pour les émulsions D/P de même fraction volumique, parce que la phase continue dextrane est moins visqueuse<sup>9</sup>.



Figure 7. Images de microscopie confocale des émulsions à différentes fractions volumiques de POE et à différents taux de cisaillement. Les zones claires représentent le fluorophore, dextrane-FITC qui est localisé dans la phase de dextrane.

En comparant les courbes de rhéologie avec la morphologie des gouttelettes sous cisaillement, on s'aperçoit que pour une faible vitesse de cisaillement, les gouttelettes ne sont pas déformées et se déplacent avec la phase continue. En augmentant le cisaillement les gouttelettes commencent à se déformer pour des taux de cisaillement correspondant à la première rhéofluidification observée sur la courbe de viscosité. Les gouttelettes se déforment jusqu'à
former des filaments. L'apparition des filaments concorde avec le second plateau de la courbe d'écoulement (figure 8). Ces phénomènes sont en accord avec les observations rapportées par Wolf et Frith pour des systèmes gélatine-dextrane<sup>9</sup>. A très fort taux de cisaillement (>100s<sup>-1</sup>), la seconde rhéofluidification présente un comportement intermédiaire entre celui de la phase dextrane et celle de la phase POE. Cependant, la pente n'évolue pas comme une combinaison de chacune des phases pondérées par la fraction volumique.



Figure 8. Courbe de viscosité en fonction du taux de cisaillement de l'émulsion D/P  $\Phi$ =0.25, les images de microscopie confocale sous cisaillement à 0.5, 3 et 10s<sup>-1</sup> sont également ajoutées. La ligne continue représentent l'ajustement à l'équation 10.

Tant que le fort cisaillement est appliqué, les gouttelettes sont étirées sous forme de filaments. Mais dès que le cisaillement s'arrête, les filaments relaxent sous forme de gouttelettes ou se cassent avant de relaxer. La figure 9 montre les images juste après l'arrêt d'un cisaillement de 10 s<sup>-1</sup>. Les filaments commencent à présenter des pincements, les instabilités de Rayleigh, et se cassent en de nombreux plus petits filaments qui relaxent en des gouttelettes sphériques. Les instabilités de Rayleigh sont dues aux fluctuations thermiques<sup>12</sup>. Les gouttelettes coalescent rapidement durant les 15 premières secondes, jusqu'à atteindre approximativement leur taille avant cisaillement. Entre 15 et 30 s, on n'observe plus de coalescence.



Figure 9. Images de microscopie confocale d'une émulsion D/P,  $\Phi$ =0.25, à différents temps après l'arrêt d'un cisaillement 10 s<sup>-1</sup>.

Un faible cisaillement favorise la coalescence des gouttelettes en comparaison à un système au repos. Le cisaillement favorise la rencontre des gouttelettes par rapport à la même émulsion au repos où le mouvement des gouttelettes n'est dû qu'à la différence de densité (sédimentation ou crémage).

### 1.2. Influence de la dilution de l'émulsion

L'émulsion D/P est diluée avec de l'eau ultra pure, ce faisant, on diminue la tension interfaciale en maintenant les fractions volumiques constantes comme on a pu le voir dans le chapitre 3.

En diluant par un facteur 3, des gouttelettes sont toujours visibles tandis qu'une dilution par un facteur 4 entraîne la disparition des gouttelettes. La binodale est franchie après avoir dilué 4 fois l'émulsion initiale, il n'y a plus d'émulsion. Les fractions volumiques ne varient pas en diluant l'émulsion deux fois. Après dilution d'un facteur 3, la fraction de phase dextrane devient de 10% contre 25% pour des concentrations plus élevées.

#### 1.2.1. Viscosité

La viscosité newtonienne des émulsions diminue quand les émulsions sont diluées. En effet, la concentration en polymère de chaque phase est diminuée. La dilution d'une émulsion par un facteur 3 provoque une chute de la viscosité de 0.45 Pa.s à 0.015 Pa.s. La rhéofluidification des émulsions est de moins en moins marquée avec la dilution. L'hystérèse semble diminuer jusqu'à la dilution de l'émulsion par un facteur 3 où elle n'est presque plus visible.



Figure 10. Viscosité en fonction du taux de cisaillement d'émulsions D/P  $\Phi$ =0.25 à différentes dilutions. Les lignes continues représentent l'ajustement à l'équation 10.

L'équation 10 permet de modéliser correctement les émulsions jusqu'à deux fois diluées. Les émulsions diluées trois fois présentent une première rhéofluidification très peu marquée, la modélisation de la courbe d'écoulement avec l'équation 10 est donc difficile (figure 10). Les paramètres issus de la modélisation de l'émulsion diluée trois fois ne seront pas exploités du fait de leur manque de précision.

Les viscosités des deux phases changent avec la dilution, tout comme la différence de densité et la tension interfaciale. Cependant, la relaxation ne semble pas changer beaucoup pour ces différentes dilutions. Par chance, les changements des différents paramètres semblent se compenser.

#### 1.2.2. Morphologie

Les gouttelettes sont légèrement plus petites après avoir été diluées 2 fois et bien plus petites après une dilution x3 (figure 11). Malgré cette différence de taille, le comportement sous cisaillement des émulsions aux différentes dilutions ne change pas. Les gouttelettes commencent à se déformer et à former des filaments aux mêmes taux de cisaillements.



Figure 11. Images de microscopie confocale des émulsions D/P d'une fraction volumique de 25% à différentes dilutions et différents taux de cisaillement. Les facteurs de dilution sont x1 (a), x1.5 (b), x2 (c) et x3 (d).

Le temps de relaxation des gouttelettes dépend de leur taille, du ratio entre la viscosité de la phase continue et la viscosité de la phase dispersée, de la viscosité de la phase continue et de la tension interfaciale (équation 12). En diluant d'un facteur 3, K qui était initialement égal à 4 diminue à 2.5. L'effet de la dilution sur la diminution de la viscosité de la phase continue et sur la diminution tension interfaciale est plus important,  $\Gamma = 16\pm 2\mu N.m^{-1}$ ,  $\eta c = 0.09$  Pa.s pour une dilution x1.5 et  $6\pm 2\mu N.m^{-1}$ ,  $\eta c = 0.04$  Pa.s pour une dilution x2. Les tailles de gouttelettes calculées à partir du temps de relaxation sont de 30 $\mu$ m et de 23 $\mu$ m pour les dilutions x1.5 et x2, respectivement.

Il semblerait que les diminutions de la viscosité et de la taille des gouttelettes compensent la diminution de la tension interfaciale. Ceci explique pourquoi le temps de relaxation ne varie que peu quand les émulsions sont diluées.

# 2. Emulsions stabilisées par des polysaccharides

#### 2.1. Influence du type de polymère ajouté

Il a été montré que les émulsions pouvaient être stabilisées par des polysaccharides en solution<sup>5</sup>. Le chitosane et le DEAED présentent la meilleure stabilité à pH 5, où les émulsions sont stables pendant au moins une semaine. L'addition de ces polymères en tant que stabilisant n'influence pas la tension interfaciale de l'émulsion de manière significative. L'ajout de ces additifs polymères entraîne une augmentation de la viscosité et une accentuation de la rhéofluidification. Le  $\kappa$ -carraghénane est utilisé comme témoin car ce polyélectrolyte entraîne une augmentation de la viscosité sans stabiliser les émulsions.

Des émulsions D/P préparées avec une faible quantité de polymère (Chitosane ou DEAED) marqué par de la FITC et de la RITC ont permis l'observation de la partition des additifs polymères entre les phases POE et dextrane. On a pu observer que l'additif polymère se partitionnait dans les deux phases et que seule une faible fraction, faiblement visible seulement pour le DEAED, se situait à l'interface.

Les additifs polymères à 1 g/L augmentent la viscosité newtonienne des émulsions d'environ un facteur 3 pour le chitosane et d'un facteur 2 pour le  $\kappa$ -carraghénane et le DEAED (figure 13). L'équation 2 s'ajuste bien aux courbes d'écoulement contenant les différents polymères avec des temps de relaxation de 0.31, 0.37 and 0.82 s, respectivement pour le chitosane, le DEAED et le  $\kappa$ -carraghénane. Les viscosités des phases continues obtenues par les modèles théoriques sont proches des valeurs obtenues en mesurant la phase POE avec 1 g/L de l'additif polymère.

Sur les images de microscopie confocale prises juste après cisaillement, on peut observer que les additifs polymères ont un effet sur la taille des gouttelettes. En effet, les gouttelettes restent plus petites en présence de chitosane et de DEAED comparées à celles sans additif ou avec 1 g/L de  $\kappa$ -carraghénane (figure 13).



Figure 13. Courbes d'écoulement d'émulsions D/P  $\Phi$ =0.25 non-stabilisées et stabilisées par 1 g/L de différents polymères en solution. Les lignes continues représentent l'ajustement à l'équation 10. Les images de microscopie confocale des émulsions contenant de l'additif polymère juste après un pré-cisaillement de 10 s<sup>-1</sup> sont également montrées, le fluorophore ajouté est le dextrane-FITC.

Les gouttelettes des émulsions contenant du  $\kappa$ -carraghénane sont elles-mêmes plus petites qu'en absence d'additif, cette réduction de taille est attribuée à l'augmentation de la viscosité des émulsions. La viscosité ralentit les gouttelettes qui se rencontrent moins facilement, limitant ainsi la coalescence initiale. En revanche, en présence de  $\kappa$ -carraghénane, les gouttelettes continuent de coalescer dans le temps alors qu'en présence de chitosane et de DEAED, les émulsions sont très résistantes à la coalescence. L'hypothèse formulée ici est que les gouttelettes ne coalescent plus une fois qu'une couche dense et cohésive de polymère stabilisant est formée autour de la gouttelette. La taille des gouttelettes juste après le cisaillement dépendrait donc de la vitesse de diffusion du polymère stabilisant vers l'interface après cisaillement. La coalescence est ensuite fortement ralentie et cela permet une stabilisation des émulsions pendant plus d'une semaine. Le chitosane semble former une couche protectrice autour des gouttelettes plus rapidement que le DEAED car les gouttelettes sont de taille plus faible.

## 2.2. Influence de la fraction volumique

#### 2.2.1. Viscosité

Le comportement sous cisaillement des émulsions D/P contenant les différents polymères en solution à différentes fractions volumiques (figures 14 et 15) est qualitativement similaire au comportement des émulsions sans stabilisant (figures 3 et 5). La viscosité du plateau newtonien est supérieur à celle du POE et du dextrane, chacun contenant 1 g/L d'additif polymère, du fait de la contribution des gouttelettes. La présence des gouttelettes entraîne une plus grande friction et donc une viscosité plus importante. La présence de l'additif polymère entraîne cependant un changement de la taille des gouttelettes, et la concentration d'additif polymère dans chacune des phases varie également. La présence de l'additif polymère à l'interface peut également affecter la viscosité en augmentant le frottement entre les gouttelettes, ce qui expliquerait la viscosité plus importante à fort taux de cisaillement.





Figure 14. Courbes d'écoulement des émulsions D/P contenant 1g/L de chitosane à pH 5 (a), DEAED à pH 5 (b), et  $\kappa$ -carraghénane à pH 7 (c) à différentes fractions volumiques. Les lignes continues représentent l'ajustement à l'équation 10.

Les valeurs de la viscosité des phases et le temps de relaxations obtenus à partir des ajustements à l'équation 10 sont montrées dans la figure 15. La viscosité de phase continue obtenue par le

modèle correspond à celle mesurée seulement pour  $\Phi$ <0.25. Les valeurs obtenues par extraction des modèles théoriques pour la viscosité de la phase dispersée, ne correspondent pas à celles mesurées. La viscosité du plateau newtonien est supérieur à celle du POE et du dextrane du fait de la contribution des gouttelettes. La présence des gouttelettes entraîne une plus grande friction et donc une viscosité plus importante.





Figure 15. Viscosité de la phase continue, de la phase disperse et temps de relaxation, obtenus par l'équation 10, des émulsions D/P contenant 1 g/L de chitosane pH 5 (haut), DEAED pH 5 (milieu), et  $\kappa$ -carraghénane pH 7 (bas) à différentes fractions volumiques.

Les différences quantitatives entre les émulsions sans stabilisant et les émulsions en présence d'additifs polymères sont dues à l'augmentation de viscosité des émulsions par l'ajout de 1g/L de polyélectrolytes. La diminution de la taille des gouttelettes et l'augmentation de la viscosité s'équilibrent de manière inattendue, il en résulte des temps de relaxation similaires pour les émulsions avec et sans additif polymère.

#### 2.2.2. Morphologie

La déformation des gouttelettes et la formation des filaments sous cisaillement des émulsions avec chitosane et DEAED se produisent à plus fort cisaillement qu'avec le  $\kappa$ -carraghénane (figure 16). La tension interfaciale étant identique pour les différents systèmes avec ou sans polymère ajouté, le changement de temps de relaxation ne s'explique que par la diminution des tailles de gouttelettes. Une gouttelette plus petite étant plus difficile à déformer, un cisaillement plus fort est alors nécessaire. De plus, la présence de  $\kappa$ -carraghénane n'empêche pas la coalescence à faible cisaillement tandis qu'en présence de 1g/L chitosane ou de DEAED il n'y a pas de coalescence visible à faible cisaillement.



Figure 16. Images de microscopie confocale des émulsions D/P contenant 1g/L de chitosane (a), DEAED (b), ou  $\kappa$ -carraghénane (c) à différents de taux cisaillement.

# 2.3. Influence de la concentration en polymère ajouté

#### 2.3.1. Viscosité

Les courbes d'écoulement des émulsions contenant différentes concentrations de polyélectrolyte présentent une rhéofluidification intermédiaire entre celle de l'émulsion sans stabilisant et celle contenant 1 g/L du même polymère (figure 17).

La viscosité des émulsions augmente avec la quantité de polymère ajouté et la taille des gouttelettes initiales est diminuée. La taille des gouttelettes est similaire pour les émulsions sans stabilisant et avec 0.2 g/L de chitosane. Dès 0.5 g/L, la taille moyenne en nombre diminue de  $45 \,\mu\text{m}$  à 17  $\mu\text{m}$  et atteint 8  $\mu\text{m}$  avec 1 g/L de chitosane.



Figure 17. Viscosité en fonction du cisaillement croissant des émulsions D/P  $\Phi$ =0.25 en présence de différentes concentrations de chitosane à pH 5 (a), de DEAED à pH 5 (b), et de  $\kappa$ -carraghénane à pH 7 (c). Les lignes continues représentent l'ajustement à l'équation 10. Images de microscopie confocale des émulsions contenant de haut en bas 1, 0.5, 0.2 et 0 g/L de chitosane à pH5 juste après arrêt d'un cisaillement de 10 s<sup>-1</sup>.

Les résultats obtenus, en utilisant l'équation 10, pour les émulsions à différentes concentrations en additifs polymères sont compris entre les valeurs de viscosité newtonienne du système avec 1 g/L de polysaccharide et le système sans additif (figure 18). Toutefois, le temps de relaxation ne semble pas dépendre de manière significative de la concentration en polymère dans le système. La viscosité des deux phases de l'émulsion augmente, mais la taille des gouttelettes diminue. Ces deux processus se compensent, le temps de relaxation ne varie donc pas.



Figure 18. Viscosité de la phase continue (gauche) et temps de relaxation (droite) des émulsions D/P ( $\Phi$ =0.25) à différentes concentrations en polymère ajouté.

#### 2.3.2. Morphologie

La figure 19 montre que les gouttelettes sont les plus petites avec 1 g/L de chitosane. Elles commencent à se déformer à un cisaillement de 2 s<sup>-1</sup> et des filaments sont présents à  $10s^{-1}$ . Avec 0.5 g/L de chitosane les gouttelettes sont plus grosses et encore plus avec 0.2 g/L de chitosane, toutefois la déformation et l'apparition des filaments se produisent au même taux de cisaillement qu'avec 1 g/L de chitosane. Le faible effet sur le temps de relaxation peut être attribué à la compensation entre l'augmentation de la viscosité et la diminution de la taille des gouttelettes.



Figure 19. Images de microscopie confocale d'émulsions D/P  $\Phi$ =0.25 à 1 g/L (a), 0.5 g/L (b), 0.2 g/L de chitosane à différents taux de cisaillement.

L'ajout de polymère stabilisant affecte essentiellement la coalescence qui est fortement ralentie. Cependant le comportement qualitatif des émulsions en présence de polymère stabilisant ou sans stabilisant est le même.

# 3. Emulsion D/P stabilisée par des microgels de protéines (WPI)

#### 3.1. Viscosité

Les microgels de protéines (Whey Protein Isolate, WPI) sont également capables de stabiliser les émulsions eau dans eau<sup>13</sup> par effet Pickering. En mélangeant les microgels avec de la rhodamine libre, la rhodamine se liant fortement aux protéines, on peut alors visualiser les particules dans l'émulsion. Il a été démontré que l'excès de rhodamine se partitionne très préférentiellement dans la phase POE et que l'excès de microgels se partitionne préférentiellement dans la phase dextrane<sup>13</sup>.

Ces particules s'accumulent à l'interface des émulsions D/P tout comme P/D, bien que les émulsions P/D soient les plus stables. On peut alors visualiser correctement le stabilisant dans l'émulsion contrairement au chitosane et au DEAED. La meilleure observation de cette couronne est due à une partition préférentielle des microgels à l'interface par rapport aux phases de l'émulsion. Il est intéressant de pouvoir observer directement le stabilisant, afin de déterminer sa localisation sous fort cisaillement.



Figure 20. Viscosité en fonction du taux de cisaillement des émulsions D/P (triangles bleus) et P/D (triangles rouges) à  $\Phi$ =0.25 contenant 1 g/L de microgels de WPI. Les solutions de POE à 80.5 g/L (carrés bleus) ou de dextrane 161 g/L (carrés rouges) avec 1 g/L de microgels sont également présentées. Les lignes continues correspondent aux modélisations par l'équation 10 des courbes d'écoulement à cisaillement croissant.

Le comportement des émulsions contenant 1 g/L de microgels de protéines est qualitativement le même que les émulsions sans ou avec du polymère stabilisant (figure 20). Les observations réalisées sur les systèmes contenant les microgels peuvent permettre une meilleure compréhension de l'émulsion contenant les additifs polymères. On peut donc émettre l'hypothèse que les polymères stabilisants se placeront de la même manière que les microgels de protéines.

#### 3.2. Morphologie

La figure 21 montre que les microgels sont bien visibles et forment une couronne autour des gouttelettes de POE ou de dextrane. Les émulsions commencent à se déformer à un cisaillement de 1s<sup>-1</sup> et de 5s<sup>-1</sup>, et les filaments apparaissent à 25s<sup>-1</sup> et 80s<sup>-1</sup> respectivement pour les émulsions D/P et P/D. Il a été vu que les émulsions pour lesquelles la phase dispersée est plus visqueuse sont plus difficiles à déformer. Ceci explique les valeurs supérieures de taux de cisaillement nécessaires pour déformer les gouttelettes de POE.



Figure 21. Images de microscopie confocale des émulsions D/P(a) et P/D (b) contenant 1 g/L de microgels de protéines à différents taux de cisaillement.

La présence des particules à l'interface est clairement visible même sous cisaillement. A fort cisaillement des fins filaments se forment et les microgels sont toujours visibles à l'interface. De forts cisaillements ne permettent pas de décrocher les microgels de l'interface. On peut supposer que si les particules se placent et restent à l'interface sous cisaillement, il en est probablement de même pour les polysaccharides stabilisants.

Après arrêt du cisaillement, on peut observer immédiatement des instabilités de Rayleigh suivies de la relaxation des gouttelettes jusqu'à environ 1s. Les gouttelettes subissent ensuite une coalescence rapide (clichés entre 1.5 et 2.4s) suivie d'une coalescence beaucoup plus lente (figure 22).



Figure 22. Images de microscopie confocale des émulsions P/D à différents temps après l'arrêt d'un cisaillement de  $10 \text{ s}^{-1}$  à différents grossissements.

## 4. Emulsions avec deux phases de même viscosité

Les émulsions étudiées précédemment avaient une phase POE environ 4 fois plus visqueuse que la phase dextrane. Afin de déterminer si cette différence de viscosité affecte la morphologie des émulsions sous cisaillement, une étude des émulsions contenant une phase POE de même viscosité que la phase dextrane est réalisée.

#### 4.1. Viscosité

Pour varier la viscosité du POE sans changer la tension interfaciale de l'émulsion sa concentration doit être identique, ainsi, un POE de plus faible masse molaire (100 000 g/mol) a été utilisé. La viscosité de chacune des deux phases pures est de 0.08 Pa.s. Les courbes d'écoulement des émulsions D/P et P/D se superposent parfaitement (figure 23).



Figure 23. Courbes d'écoulement des émulsions D/P (rouge) et P/D (noir)  $\Phi$ =0.25 avec deux phases de même viscosité.

## 4.2. Morphologie

Le comportement sous cisaillement des émulsions avec et sans microgels avec des phases de même viscosité est similaire à celui des émulsions dont les phases sont de viscosités différentes (figures 24 et figure 7).



Figure 24. Images de microscopie confocale des émulsions sans stabilisant D/P  $\Phi$ =0.25 avec des phases POE et dextrane de même viscosité à différents taux de cisaillement, la phase dextrane est la phase claire contenant du dextrane marqué FITC.

Dans le cas des émulsions avec des microgels (figure 25), les particules restent toujours à l'interface même à des cisaillements auxquels les filaments sont présents. Le comportement qualitatif des émulsions ne dépend donc pas de la différence de viscosité entre les deux phases.



Figure 25. Images de microscopie confocale des émulsions D/P  $\Phi$ =0.25 des émulsions de phases POE et dextrane de même viscosité avec 1 g/L de microgels à différents taux de cisaillement.

## Conclusion

Les gouttelettes s'écoulent avec la phase continue sans être déformées sur le plateau à faible taux de cisaillement. En augmentant le taux de cisaillement, la première rhéofluidification coïncide avec la déformation et l'alignement des gouttelettes. A plus fort taux de cisaillement, les gouttelettes subissent des ruptures et des coalescences qui conduisent à la formation de filaments. La formation des filaments se produit quand le second plateau se forme. L'épaisseur des filaments diminue avec l'augmentation du taux de cisaillement.

Les filaments sont stables tant que le cisaillement est appliqué. Dès que le cisaillement s'arrête, les filaments sont cassés en plus petits filaments qui relaxent. Les gouttelettes coalescent ensuite en deux étapes, une rapide puis une plus lente. Cette seconde étape de coalescence est encouragée par l'application d'un faible cisaillement.

Les courbes de viscosité en fonction du taux de cisaillement ont pu être modélisées par des équations présentes dans la littérature en tenant compte de la rhéofluidification des phases composant l'émulsion. Cependant, ces équations ne sont capables de décrire que les courbes d'écoulements dont le cisaillement est décroissant. A cisaillement constant, le système évolue lentement. L'étude du système à l'état stationnaire ne peut être effectué, l'état stationnaire pour une émulsion étant la séparation de phase totale.

Les taux de cisaillement auxquels les gouttelettes commencent à se déformer et à former des filaments dépendent de la taille initiale des gouttelettes, de la tension interfaciale, et de la viscosité des deux phases.

La stabilisation des émulsions eau dans eau par des polysaccharides ou par des microgels ne change pas qualitativement le comportement des émulsions sous cisaillement. Les gouttelettes sont déformées et des filaments sont formés en conservant la présence des stabilisants à l'interface.

Les stabilisants ont une action sur la coalescence des gouttelettes après l'arrêt du cisaillement puisqu'ils limitent la coalescence après la rupture des filaments, ce qui conduit à des gouttelettes plus petites. Cette observation démontre que les gouttelettes ont donc déjà une couche de stabilisant assez dense à l'interface. 1. Dickinson, E., Use of nanoparticles and microparticles in the formation and stabilization of food emulsions. *Trends in Food Science & Technology* **2012**, *24* (1), 4-12.

2. Dickinson, E., Particle-based stabilization of water-in-water emulsions containing mixed biopolymers. *Trends in Food Science & Technology* **2019**, *83*, 31-40.

3. Nicolai, T.; Murray, B., Particle stabilized water in water emulsions. *Food Hydrocolloids* **2017**, *68*, 157-163.

4. Esquena, J., Water-in-water (W/W) emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2016**, *25*, 109-119.

5. Tea, L.; Nicolai, T.; Renou, F., Stabilization of Water-in-Water Emulsions by Linear Homo-Polyelectrolytes. *Langmuir* **2019**, *35*, 9029–9036.

6. Choi, S. J.; Schowalter, W., Rheological properties of nondilute suspensions of deformable particles. *The Physics of Fluids* **1975**, *18* (4), 420-427.

7. Frankel, N.; Acrivos, A., The constitutive equation for a dilute emulsion. *Journal of Fluid Mechanics* **1970**, *44* (1), 65-78.

8. Kroy, K.; Capron, I.; Djabourov, M., On the Viscosity of Emulsions. *arXiv preprint physics/9911078* **1999**.

9. Wolf, B.; Frith, W. J., String phase formation in biopolymer aqueous solution blends. *Journal of Rheology* **2003**, *47* (5), 1151-1170.

10. Gonzalez-Jordan, A.; Nicolai, T.; Benyahia, L., Influence of the protein particle morphology and partitioning on the behavior of particle-stabilized water-in-water emulsions. *Langmuir* **2016**, *32* (28), 7189-7197.

11. Tromp, R. H.; De Hoog, E. H., Band formation on shearing in phase-separated polymer solutions. *Physical Review E* **2008**, *77* (3), 031503.

12. Rayleigh, L., XVI. On the instability of a cylinder of viscous liquid under capillary force. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* **1892,** *34* (207), 145-154.

13. Nguyen, B. T.; Nicolai, T.; Benyahia, L., Stabilization of water-in-water emulsions by addition of protein particles. *Langmuir* **2013**, *29* (34), 10658-10664.

# Conclusion générale et perspectives

Ce manuscrit a montré pour la première fois que des émulsions eau dans eau peuvent être stabilisées par certains types de polymères linéaires. La stabilisation de l'interface des émulsions eau dans eau n'avait été auparavant observée qu'au moyen de particules.

Pour pouvoir stabiliser les émulsions, ces additifs polymères doivent, simultanément, porter des charges, des groupements hydrophobes et être de masse molaire suffisamment grande.

L'analyse des tailles de gouttelettes des émulsions stabilisées par ces polymères, montre une faible évolution de leur taille une semaine après homogénéisation. La présence de ces additifs polymères entraîne donc une résistance à la coalescence démontrée par leur comportement sous centrifugation et sous cisaillement.

L'effet sur la stabilisation peut être quantifiée par la technique de centrifuge analytique. Cette technique montre l'importance relative de la coalescence et de la sédimentation des gouttelettes.

Le mécanisme proposé est similaire à celui d'une émulsion stabilisée par des particules. Les additifs polymères se placent à l'interface et forment une couche interfaciale protectrice qui empêche la coalescence des gouttelettes.

Sous cisaillement les gouttelettes s'allongent et coalescent pour former de long cylindres fins, mais les particules additives restent à l'interface. Apres l'arrêt du cisaillement, les cylindres se coupent en de petites gouttelettes. La viscosité des émulsions montre une rhéofluidification due à la déformation des gouttelettes et la formation des cylindres.

La stabilisation des émulsions par des polyélectrolytes offre des opportunités pour de nouvelles applications. L'utilisation d'additifs polymères pour stabiliser d'autres systèmes d'émulsions eau dans eau doit encore être étudiée afin de généraliser ce procédé.

Un essai de stabilisation d'une émulsion amylopectine-xyloglucane a montré une augmentation de la stabilité en présence de 1 g/L de chitosan par rapport au système sans stabilisant. Ce résultat nécessite encore des études plus approfondies tout en étant très encourageant. Ce système a été choisi car il présente deux phases contenant des polymères neutres, la présence de polymère de signe opposé à l'additif polymère pouvant mener à de la complexation.

Des études de stabilisation d'autres émulsions composées de deux polymères neutres par des additifs polymères chargés (anionique ou cationique) pourront être menées. Il est également possible d'étudier la stabilisation d'émulsions possédant deux phases anioniques par un additif polymère anionique (ou la stabilisation d'émulsions possédant deux phases cationiques par un additif polymère cationique).

La modification chimique de polyélectrolytes pour leur conférer des groupements hydrophobes pourra également être explorée. Le  $\kappa$ -carraghénane pourra par exemple être acétylé à différents taux afin de confirmer l'hypothèse de la nécessité d'un groupement hydrophobe. L'acétylation du  $\kappa$ -carraghénane permettrait une comparaison avec le chitosan (qui porte également des groupement acétyle). De plus, dans le cas du  $\kappa$ -carraghénane, l'acétylation se produisant sur les groupements hydroxyle, les taux d'acétylation pourront alors être étudiés sans varier le nombre de charges. L'hydrophobie pourra également être variée, en modulant, par exemple, la longueur de la chaîne alkyle.