REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE Dr. YAHIA FARES MEDEA



Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement

MEMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

Pour l'obtention du diplôme de Master en Génie des Procédés Pharmaceutiques

Option : Génie des Procédés Pharmaceutiques

Thème:

Formulation d'une émulsion stabilisée par un tensioactif non ionique de type sucroester pour une application en cosmétique

Présenté par :

- BENMERIEM Ramla
- MOUMENE Iteb

Proposé et dirigé par :

Dr. SEFHA Farida

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions ‹‹Allah ››, pour nous avoir donné la force, la patience et le courage pour mener ce travail à son terme.

C'est l'occasion pour nous de remercier toutes les personnes qui ont contribué physiquement et moralement à l'élaboration de ce mémoire.

Nos sentiments de profonde s'adresse à la personne qui nous a proposé ce sujet et qui nous a encadré tout au long de ce travail, Mme **SEFHA Farida.** Au travers de nos discussions elle nous apporté une compréhension plus approfondie des divers aspects du sujet, ne nous saurions trop la remercier pour l'intérêt qu'elle a accordé à ce travail

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui ont bien voulu juger ce travail.

Nous remercions très chaleureusement aussi Mr **MALOUDJ SOUFIANE** le directeur de hall technologique , pour nous aider à trouver l'un des principaux réactifs de ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à l'ensemble du personnel des laboratoires du Hall Technologique de l'Université Dr. Yahia Faress de Médéa et plus particulièrement Melle **BENHAOUA Meriem,** ingénieure de laboratoire d'analyses physico-chimique qui nous aide dans le côté pratique.

Ce mémoire n'aurait jamais vu le jour sans le soutien de nos extraordinaires ***PARENTS*** et nos familles. Il est impossible d'exprimer en quelques mots combien nous leurs sommes reconnaissants, aussi nous ne le tentons même pas, nous leurs disons : **MERCI!**

Enfin, que tous ceux qui ont contribués, de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de nous profonde gratitude. Et merci à tous ceux qui nous avons oubliés.

Merci à tous.

.

Dédicace

A l'âme de mon cher oncle

Qu'Allah vous accueille dans son paradis.

A ma mère

Fatima yahiaoui

Pour les heures pleines de bonheur et de tendresse. Pour l'ampleur de tes sacrifices.

Pour toi ma chère maman qui mis l'avenir de tes enfants en premier et les jouissances de la vie terrestre en dernier. Vous êtes ce que j'ai de plus cher au monde et vous jure qu'aucun mot. Merci de faire l'impossible pour moi.

A mon père

Benmeriem cherif

L'homme qui m'inclue le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Toutes les lettres et les mots ne sauraient montrer le degré d'amour d'affection que j'éprouve pour toi. Je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.

A mes très cher frères et sœur :

« Kenza, Aissa, Remzi et Bilal » merci pour votre encouragement, amour et soutient.

Qu'ALLAH vous garde.

A toutes ma famille et mes chères cousines

Merci pour votre présence, compréhension et votre bonne humeur de tous les jours.

A mes chères amies

« Souad, Fayrouz, Fatima , Ibtissam ,Ahlem,Zineb ». Sans oblier mes deux sœurs RIM & YOUSSRA, merci d'être dans ma vie, vous étiez la meilleure chose qui m'est arrivée dans ma vie universitaire.

A ma chère binôme Iteb

A tous mes collègues de promotion

A tous ceux que j'aime sans exception

Ramla

Dédicace

Je Dédié ce travail.

A mes parents.

A toute ma famille.

A mes amis proches.

A la fin, je dédie très chaleureusement à ma binôme Ramla

Iteb

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale **01**

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES EMULSIONS

I. ÉMULSIONS **02**

I.1. Définition **02**

I.2. Compositions des émulsions **02**

1.2.1. Phases lipophile et hydrophile **02**

1.2.2 Emulsifiants **02**

I.3 Description des émulsions **03**

I.3.1 Aspect **03**

I.3.1.2 Concentration **04**

I.3.1.3 Granulométrie **05**

I.3.1.4 Aire interfaciale **05**

I.3.1.5 Rhéologie **06**

I.4. Classification des émulsions **06**

I.4.1. Selon le type d'émulsion **07**

I.4.2. Selon la fraction volumique **07**

I.4.3 Selon la taille des gouttelettes **07**

I.5. Stabilité des émulsions **08**

I.5.1 Mûrissement d'Ostwald **09**

I.5.2 Floculation **09**

I. 5.3. Sédimentation et Crémage **09**

I.5.4 Coalescence **10**

I.6. Formulation des émulsions **11**

I.6.1. Diagramme ternaire **11**

I.6.2. Méthode HLB **11**

I.6.3. Méthode HLD **11**

I.6.4. Inversion de phase **12**

I.7. Applications des émulsions **12**

I.7.1. Les émulsions alimentaires **12**

I.7.2. La cosmétologie **12**

I.7.3.L'industrie pharmaceutique **12**
I.7.4. La peinture **13**
I.7.5. Les formules du lavage à sec **13**
CHAPITR II : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUE LES SUCROESTER
II. STABILITÉS DES ÉMULSIONS PAR TENSIOACTIFS NON-IONIQUE **14**
II.1. Tensioactifs non ioniques **14**
II.2. Sucroester **15**
II.3. Caractéristiques générales des sucroesters **15**
II.4. Synthèse des esters de sucre et d'acide gras **16**
- **Synthèse des esters de sucre et d'acide gras par voie chimique** **17**
- **Synthèse des esters de sucres et d'acide gras par voie enzymatique** **17**

II.5. Lipases **18**
II.5.1. Généralité **18**
II.5.2. Lipase de Ricinus communis L **19**
II.5.3. Immobilisation des lipases **20**
- **Immobilisation par inclusion** **20**
- **Immobilisation par adsorption** **21**
- **Immobilisation par liaison covalente** **22**

II.5. Objectifs de l'immobilisation des lipases **23**
CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODE
INTRODUCTION **24**
III. MATÉRIELS ET MÉTHODES **25**
III.1. Matériels **25**
III. 1.1. Appareillages **25**
III.2. Réactifs **25**
III.3. Méthodes **27**
III.3.1. Préparation de la lipase **27**
III.3.2. Préparation de la lipase immobilisée **29**
III.3.3. Synthèse d'ester de glucose **30**
III.4. Caractérisation structurale du palmitate de glucose synthétisé **32**
III.5. Formulation des émulsions simples stabilisée par le palmitate de glucose **32**
III.6. Caractérisations physicochimiques des formulations préparées **33**

III.6.1. Examine microscopique **33**
III.6.2. Détermination du pH **34**
III.6.3. Mesure de la conductivité **34**
III.6.4. Contrôle microbiologique **34**
III.1.6. Activité antioxydant par DPPH **35**
CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISSCUSION **37**
CONCLUSION GENERALE **42**
REFERENCE **45**

Liste des figures

Figure I.1.Représentation d'une émulsion	**03**
Figure I.2. Différents types d'émulsions	**07**
Figure I.3. Différentes phases d'instabilités d'une émulsion	**08**
Figure I.4. Mûrissement d'Ostwald	**09**
Figure I.5. Floculation	**09**
Figure I.6: Crémage et Sédimentation	**10**
Figure II. 1 : schéma simplifier d'un tensioactif	**14**
Figure II.2 : Ester de sucre	**15**
Figure II.3 : Estérification chimique du (2,3,4-tri-O-acétyl)-D-xylopyranose	**17**
Figure II.4 : Transésterification chimique du saccharose	**17**
Figure II.5 : Transésterification enzymatique du lactose	**18**
Figure II.6: Estérification enzymatique de l'acide D-glucoronique	**18**
Figure II.7: Rèaction d'hydrolyse catalysée par la lipase en milieux aqueux	**19**
Figure II.8 : graines de ricin (ricinus communis)	**19**
Figure II.9: Structure de l'alginate. G : acide guluronique M : acide Mannuronique	**20**
Figure II.10 : Formule chimique du chitosan	**21**
Figure III.1 : Protocol d'extraction de lipase brute	**28**
Figure III.2 : Technique de purification partielle de la lipase brute par précipitation à l'acétone.	**29**
Figure III.3: Étapes d'immobilisation de la lipase dans l'alginate de sodium	**30**
Figure III.4. Synthèse de sucroester	**31**
Figure III.5 : Etapes de séparation du sucroester.	**32**
Figure III.6 : Dispositif d'homogénéisateur par Ultra Turax	**33**
Figure III.7: schéma représente le mode opératoire de l'activité antimicrobien	**35**
Figure IV.1: Spectre IR de palmitate de glucose	**37**
Figure IV.2 : État des émulsions préparées après quelques jours	**38**
Figure IV.3: Vues microscopiques des émulsions préparées	**39**
Figure IV.4 : Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration	**41**

Figure IV.5 : halo d'inhibition d'émulsion sur Escherichia coli(-)	**41**
Figure IV.6 : halo d'inhibition d'émulsion sur staphylococcus (+)	**42**

Liste des tableaux

Tableau I .1 Taille des gouttes et aspect des émulsions	**04**
Tableau I.2 Types d'émulsions selon la concentration de la phase interne	**04**
Tableau III.1 : Appareillages utilisés	**25**
Tableau III.2 : Substances chimiques utilisées au cours de la synthèse de sucroester	**27**
Tableau III.3: Différents solvants utilisés au cours de cette étude	**27**
Tableau III.4 : Concentrations des différents constituants des émulsions formulées	**33**
Tableau IV.1 : Hauteurs d'émulsion mesurées (à 40°C)	**38**
Tableau IV.2 : Résultats des mesures du pH	**40**
Tableau IV.3 : Pourcentages d'inhibition (I%) de l'émulsion 2%	**40**

Abréviations

γ : Tension interfaciale (N/m)

ϕ : Taux de rétention

Π : Pression de Laplace

ρ : Densité de la gouttelette

ρ_o : Densité de la phase continue

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

***v* :** Taux de crémage

a: Représente l'indice d'acide

A : Aire interfaciale

d_{32} : Diamètre de Sauter

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EA : Extrait aromatique

E/H : Eau dans Huile

g : accélération locale due à la gravité (9,81 m.s-2)

GX : Gomme xanthane

HLB : Hydrophile-Lipophile-Balance

HLD : La différence hydrophile-lipophile

H/E : Huile dans l'Eau

LPP : Lipase partiellement purifiée

M_{KOH}: Masse molaire de KOH,

ni : Nombre de gouttes par classe

rpm: Rotation par minute

R : rayon de la gouttelette (m)

S: solvant

S_{tot} : surface total

T: Température

TA : Tensioactif

VC : Volume de phase continue

VD : le volume de la phase dispersée

VE : Vitamine E

V_{tot} : le volume total

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو صياغة مستحلب الزيت / الماء (O / W) من الفائدة الصيدلانية أو التجميلية المستقرة بواسطة مادة خافضة للتوتر السطحي غير أيونية من نوع إستر السكر ، بالميتات الجلوكوز ، تم الحصول عليها عن طريق أسترة تفاعل بين الجلوكوز وحمض البالمتيك. الليباز كمحفز إنزيم. ركزت التجارب أولاً على استخلاص إنزيم الليباز من بذور الخروع (*Ricinus Communis* L) لتثبيته في ألجينات الصوديوم. تمت دراسة تأثير تركيز المادة الخافضة للتوتر السطحي على ثبات المستحلبات المحضرة. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن ثبات المستحلبات يعتمد على تركيز المادة الخافضة للتوتر السطحي بحيث تعطي نسبة 2٪ ثباتاً جيداً في ظل ظروف مختلفة (40 درجة مئوية ، 4 درجات مئوية ، درجة حرارة الغرفة). تم إجراء دراسة ثبات المستحلب لمدة شهر واحد.

الكلمات المفتاحية: مستحلب ، خافض للتوتر السطحي غير أيوني ، إستر سكر ، بالميتات الجلوكوز ، ليباز ثابت.

Résumé

L'objectif de cette étude est la formulation d'une émulsion huile/eau (H/E) d'intérêt pharmaceutique ou cosmétiques stabilisées par un tensioactif non ionique de type ester de sucre, le palmitate de glucose, a été obtenu par une réaction d'estérification entre le glucose et l'acide palmitique en utilisant la lipase comme un catalyseur enzymatique. Les expériences ont porté d'abord sur l'extraction de l'enzyme lipase à partir des graines de Ricin (*Ricinus Communis* L) afin de l'immobiliser dans l'alginate de sodium. L'effet de la concentration de tensio-actif sur la stabilité des émulsions préparées a été étudié. Les résultats obtenus montrent que la stabilité des émulsions dépend de la concentration de tensioactif tel qu'une teneur de 2% donne une bonne stabilité dans différents conditions (40°C, 4°C, température ambiante). Cette étude de stabilité des émulsions a été menée pendant 1 mois.

Mots clés : Émulsion, tensioactif non-ionique, sucroester, palmitate de glucose, lipases immobilisé.

Abstract

The objective of this study is the formulation of oil / water (O / W) emulsion of pharmaceutical or cosmetic interest stabilized by a nonionic surfactant of the sugar ester type, glucose palmitate, was obtained by a reaction esterification between glucose and palmitic acid using lipase as an enzyme catalyst. The experiments focused first on the extraction of the enzyme lipase from the seeds of Castor (Ricinus Communis L) in order to immobilize it in sodium alginate. The effect of the surfactant concentration on the stability

of the prepared emulsions was studied. The results obtained show that the stability of the emulsions depends on the concentration of surfactant such that a content of 2% gives good stability under different conditions (40 °C, 4 °C and room temperature). This emulsion stability study was carried out for 1 month.

Key words : Emulsion, nonionic surfactant, sucroester, glucose palmitate, immobilized lipases, emulsionstabilization, optimal stability, cream.

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

De nos jours, les émulsions sont partout, utilisées à nombreuses reprises dans la vie quotidienne, pourtant méconnues du grand public. Elles sont très utiles dans l'industrie, notamment l'industrie pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire, les peintures, l'agrochimie et l'industrie pétrolière. Elles permettent d'associer des produits normalement incompatibles en leur donnant parfois des propriétés hors du commun (touché, odeur, goût, etc.).

L'étude des émulsions est ainsi complexe mais primordiale dans le domaine industriel pour assurer des produits stables possédant les propriétés attendues par le consommateur. Dans le contexte actuel, le désir des consommateurs d'acheter des produits de plus en plus naturels fait qu'il est nécessaire de rechercher et de formuler des émulsions sans ingrédients d'origine chimique.

L'objectif de notre projet s'inscrit ainsi dans la formulation d'une émulsion cosmétique stable et naturelle. En effet, la mise au point d'un protocole ainsi que d'une formulation permettant d'obtenir des émulsifiants naturels avait été réalisée. Notre but a été d'adapter ce mode opératoire à l'utilisation de produits naturels. Les protocoles que nous avons développés pourront être utilisés à des fins pédagogiques lors de travaux pratiques. La problématique de notre projet professionnel est donc de se demander comment formuler une émulsion directe huile dans eau, simple et stable à base d'émulsifiant d'origine synthétique ?

Ce travail s'articule autour de 4 chapitres. Le premier chapitre est une revue générale sur les émulsions, et leurs applications dans l'industrie. Dans le second chapitre l'intérêt se dirige vers le sucroester et la stabilité des émulsions par un tensioactif non-ionique.

Le troisième chapitre a été dédié entièrement aux matériels et méthodes utilisés pour mener à bien ce travail.

Enfin, le quatrième chapitre, nous analyserons les résultats obtenus lors des différentes expériences réalisées afin de formuler une émulsion simple et stable à base d'un tensioactif d'origine naturelle.

Une conclusion générale avec des perspectives de développement clôtureront l'étude.

CHAPITRE I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES EMULSIONS

I. ÉMULSIONS

I.1. Définition

Les émulsions sont généralement des formulations liquides, qui sont destinées à être administrées telles quelles ou utilisées comme excipients. Ils consistent en une dispersion d'un liquide (appelée phase dispersée, phase discontinue ou phase interne) sous forme de gouttelettes dans un autre liquide non miscible (appelée phase dispersante, phase continue ou phase externe) [1].

I.2. Compositions des émulsions

1.2.1. Phases lipophile et hydrophile

La phase huileuse appelée également phase grasse, phase lipophile ou phase organique, est généralement composée d'un mélange d'ingrédients, elle peut contenir des huiles, des cires et des graisses d'origine végétale, animale ou minérale.

La phase aqueuse, ou phase hydrophile, contient l'eau et divers composants hydrosolubles ; les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverse : ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, etc. Les substances peuvent être ajoutées à l'une ou l'autre phase pour conférer au produit diverses propriétés (augmentation de la durée de conservation, modification du gout, de la texture, de l'aspect, maintien de l'humidité, etc.) [2].

Les additifs utilisés sont très variés. Ils se distribuent entre phase aqueuse et phase grasse suivant leur solubilité. Leur utilisation est soumise à une réglementation qui dépend du secteur industriel considéré. Les produits pharmaceutiques de soin comportent d'autre part au moins un principe actif dans l'une ou l'autre phase de l'émulsion [3].

1.2.2. Emulsifiants

Les émulsions conventionnelles sont des systèmes thermodynamiquement instables qui se séparent plus ou moins rapidement en deux phases. On parle de systèmes hors équilibre.

En raison de cette instabilité, les émulsions industrielles comportent toujours des émulsifiants, formant un film interfaciale, ou film mince, autour des globules de phase dispersée.

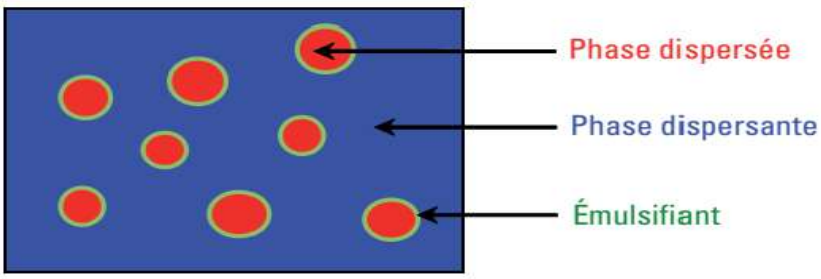


Figure I.1 : Représentation d'une émulsion [4]

Il s'agit le plus souvent de petites molécules amphiphiles appelées tensioactifs, surfactifs ou agents de surface. La schématisation classique des tensioactifs met en évidence un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe [4].

I.3. Description des émulsions

I.3.1. Aspect

L'aspect des émulsions est un caractère organoleptique dépendant de :

- La taille des gouttelettes de la phase dispersée ;

- La concentration de l'émulsion ;

- Le rapport d'indice de réfraction entre les phases.

L'aspect de l'émulsion dépend du rapport entre lumière transmise et lumière diffusée. Plus la taille des gouttelettes est grosse plus la diffusion est importante et plus l'émulsion présentera un aspect opalescent, blanc. Dans le cas des microémulsions, le système est translucide [5]. **Le tableau I.1** montre l'aspect des émulsions en fonction de la taille des globules [6].

Pour modifier l'aspect de l'émulsion sans changer la granulométrie ni la fraction volumique de la phase dispersée, il faut faire varier l'indice de réfraction de l'une des deux phases en augmentant sa concentration, par exemple en saccharose [7].

Tableau I .1 Taille des gouttes et aspect des émulsions [7]

Taille des gouttelettes	Aspect de l'émulsion
> 100 µm	Gouttes visibles
10 – 100 µm	Blanc laiteux
0,1 – 10 µm	Opalescent
< 0,1 µm	Translucide

I.3.1.2. Concentration

Le terme de « concentration de l'émulsion » se rapporte en fait à la concentration de la phase dispersée. Cette concentration est mesurée par la fraction volumique de la phase dispersée appelé également taux de rétention [8] :

$$\phi = \frac{VD}{VD+VC} \qquad \textbf{(I.1)}$$

Avec :

VD le volume de la phase dispersée.

VC le volume de phase continue.

Ce paramètre est déterminant pour la stabilité de l'émulsion, sa fabrication et ses propriétés macroscopiques. En effet, il est représentatif des interactions observées entre gouttelettes. Trois types d'émulsions sont définis par ce paramètre **(Tableau I.2)** [8]

Tableau I.2 Types d'émulsions selon la concentration de la phase interne [8]

ϕ	Type d'émulsion
< 0,02	Emulsion diluée
0,3 < ϕ < 0,74	Emulsion concentrée
> 0,74	Emulsion très concentrée

I.3.1.3. Granulométrie

La granulométrie définit la taille des gouttelettes de la phase dispersée. On définit une distribution des tailles et un diamètre moyen. La distribution peut être monomodale ou bimodale, mono dispersé ou poly dispersé (cas le plus courant).

La distribution des tailles est continue, cependant les données sont généralement exprimées en classes granulométriques. Les résultats peuvent être exprimés en nombre de gouttes par classe (ni) ou en fréquence (fi). Il est possible de modéliser les distributions granulométriques par une loi log-normale.

L'une des notions importantes pour définir la granulométrie de l'émulsion est le diamètre moyen. Nous pouvons définir ce diamètre moyen différemment en fonction de ce que nous voulons faire ressortir.

Le diamètre de Sauter, noté d32, correspond au diamètre moyen de la distribution en surface. Il est proportionnel au rapport entre le volume total (V_{tot}) des particules (considérées sphériques) et leur surface totale (Stot) [9] :

$$d_{32} = \frac{6\,V_{tot}}{S_{tot}} = \frac{\Sigma i\ ni.\ d^3_i}{\Sigma i\ ni.\ d^2_i} \qquad \textbf{(I.2)}$$

I.3.1.4 Aire interfaciale

L'aire interfaciale (A) correspond à l'aire des particules, calculée à partir du diamètre de Sauter :

$$A = \pi.\ d_{32}^2 \qquad \textbf{(I.3)}$$

Nous définissons également une aire interfaciale spécifique (a), qui correspond à l'aire interfaciale rapportée à une unité de volume :

$$a = \frac{6\emptyset}{d_{32}^2} \qquad \textbf{(I.4)}$$

Cette grandeur permet de déterminer la quantité d'émulsifiant et l'énergie à fournir pour l'émulsification. Plus l'aire interfaciale est grande, plus le procédé appliqué est efficace [10].

I.3.1.5 Rhéologie

La rhéologie est l'étude de l'écoulement soumis à des contraintes mécaniques. Les fluides viscoélastiques se situent entre les fluides newtoniens (la viscosité d'un fluide idéal ne dépend pas de la force de cisaillement) et les solides élastiques (déformés sous contrainte et reviendront à sa forme d'origine sans contrainte, mais ne couleront pas). L'émulsion est l'un des fluides à comportement intermédiaire: le fluide viscoélastique. La viscosité de la préparation détermine son conditionnement, son utilisation et certaines propriétés organoleptiques. La rhéologie est déterminée par la composition et la structure de l'émulsion.

La viscosité dynamique du système est étudiée en appliquant une contrainte de cisaillement. En modifiant la contrainte, on obtient une carte rhéologique, qui peut caractériser le fluide. Si la viscosité ne dépend pas de la contrainte, le fluide est un fluide newtonien; sinon, le fluide est un fluide newtonien. Si sa viscosité augmente avec la contrainte, c'est un épaississement par cisaillement; si sa viscosité diminue avec la contrainte, c'est un fluidifiant par cisaillement. Il existe d'autres situations plus compliquées, comme les fluides à seuil (étant un solide élastique en dessous du seuil de contrainte pouvant provoquer un écoulement) ou les fluides thixotropes (sa viscosité dépend de «l'historique» du fluide). La viscosité d'une émulsion dépend non seulement des paramètres spécifiques de sa composition (concentration, granulométrie, viscosité des phases continue et dispersée, et tension interfaciale), mais également de paramètres externes (température, historique de cisaillement, notamment dans le cas de fluides thixotropes) [11].

I.4. Classification des émulsions

I.4.1. Selon le type d’émulsion

les émulsions sont qualifiées de « directes » ou « inverses », selon la nature aqueuse ou huileuse de la phase continue. Si la phase externe est la phase huileuse, l’émulsion est dite « directe » de type eau dans huile (E/H), tandis que si la phase huileuse est la phase continue (ou phase externe) l’émulsion est « inverse » de type huile dans eau (H/E) **figure I.1.** [12].

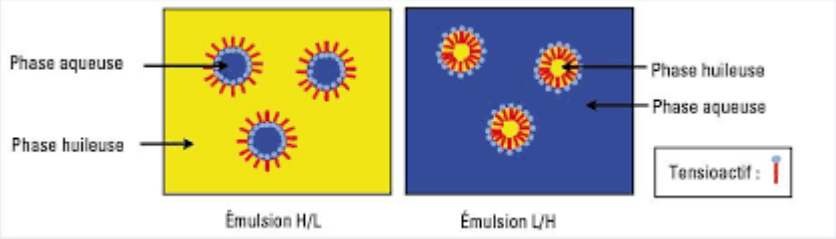


Figure I.2. Différents types d'émulsions. [12]

I.4.2. Selon la fraction volumique :

Les émulsions sont aussi classer selon la fraction volumique de phase dispersée (ϕ). En particulier, les émulsions sont considérées comme diluées si la fraction volumique (ϕ) est inférieur à 5% [13], et comme concentrées lorsque elle supérieure ou égale à 74%, cette valeur correspond à la fraction volumique de l'empilement compacte de sphères indéformables de même taille. Ces émulsions peuvent atteindre des valeurs de 99%, c'est pourquoi elles sont dénommées émulsions très concentrées. En plus, les gouttelettes dans la phase continue ne sont pas homogènes [14].

I.4.3 Selon la taille des gouttelettes

En fonction de la taille moyenne des gouttelettes on distingue des émulsions plutôt grossières (1 à 10 µm), appelées *émulsion* ou *macro émulsion* [14], et des émulsions plus fines, submicronique (0.1 à 1 µm), appelées *mini* ou *nano émulsions*. On distingue aussi *les microémulsions* ou *émulsoïdes* sont décrites comme des systèmes bi-phasiques composées des gouttelettes très fines (10-200 nm). Elles sont très étudiées en raison de leurs propriétés originales : à compositions équivalente elles sont moins visqueuses que les émulsions conventionnelles et elles sont d'aspect transparent [15].

I.5. Stabilité des émulsions

Une émulsion est un système métastable : ce sont des systèmes thermodynamiquement instables mais potentiellement cinétiquement stables sur une échelle de temps modérée. Ainsi, afin de tendre vers le minimum d'énergie libre du système, des phénomènes de déstabilisation de phases apparaissent, de nature réversible ou irréversible **Figure I.2**. Ce minimum d'énergie est atteint lorsque l'aire minimale de contact entre les deux phases (H/E) est observée, ce qui conduit à une séparation de phases. [16]

On peut alors dénombrer plusieurs types de déstabilisation :

- Des phénomènes conduisant à une augmentation de taille des gouttelettes : coalescence et mûrissement d'Ostwald.

- Des phénomènes liés à la migration des gouttelettes : crémage et floculation.

-Inversion de phase.

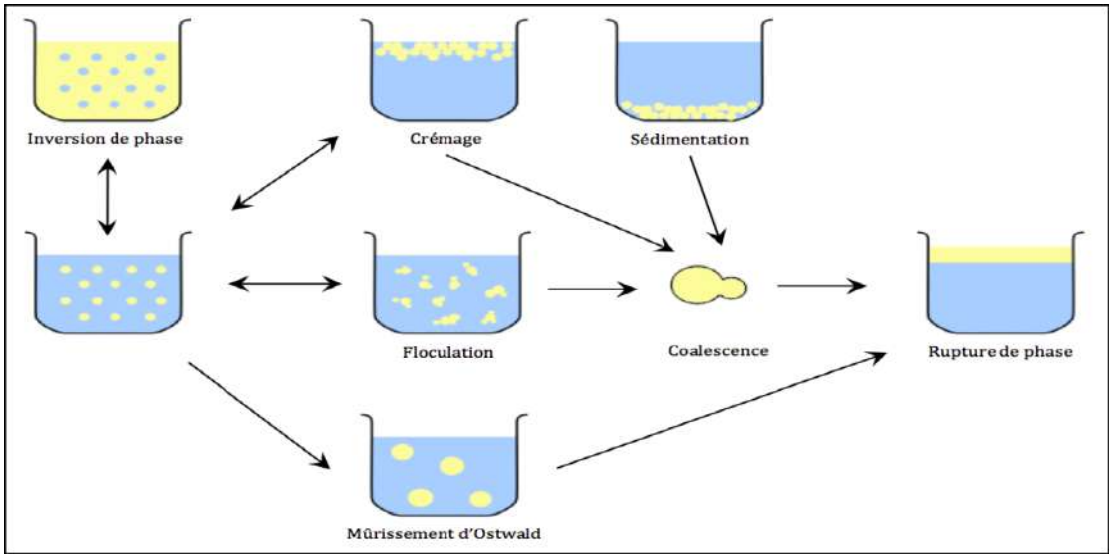


Figure I.3 : Différentes phases d'instabilités d'une émulsion [16]

I.5.1 Mûrissement d'Ostwald

Le mûrissement d'Ostwald est un phénomène irréversible pendant lequel les plus petites gouttelettes en solution dans la phase continue se dissolvent et se déposent sur des gouttelettes plus grosses afin d'atteindre un état thermodynamiquement plus stable dans lequel le rapport surface / surface est minimisé**. Figure I.2** La force motrice pour le mûrissement d'Ostwald est la différence de pression de Laplace entre petites et grandes gouttelettes. La pression plus élevée chez les plus petites gouttes les mène à migrer vers les gouttes de diamètre plus important**.** [17] Dans une gouttelette de rayon R, la pression de Laplace est donnée par la formule suivante :

$$\Pi = 2\gamma R \qquad \textbf{(I.5)}$$

Avec :

ɣ = la tension interfaciale à la limite de séparation (N/m)

R = rayon de la gouttelette (m)

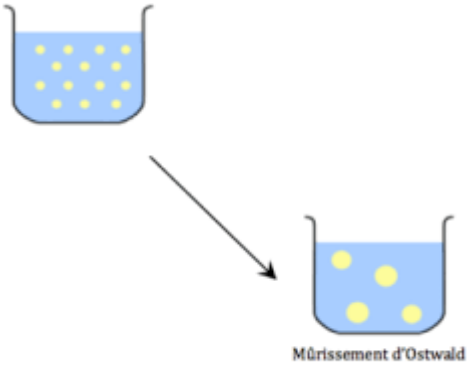


Figure I.4 : Mûrissement d'Ostwald

I.5.2 Floculation

La floculation résulte de l'agrégation des gouttelettes dispersées dans la phase continue sous l'action d'interactions attractives (comme les forces de Van Der Waals ou la déplétion). Des agrégats ainsi formés sont appelés flocs dans lesquels les gouttelettes conservent leur intégrité et forment des entités séparées. Ce phénomène, tout comme le crémage et la sédimentation est non destructif et donc réversible **Figure I.4**.

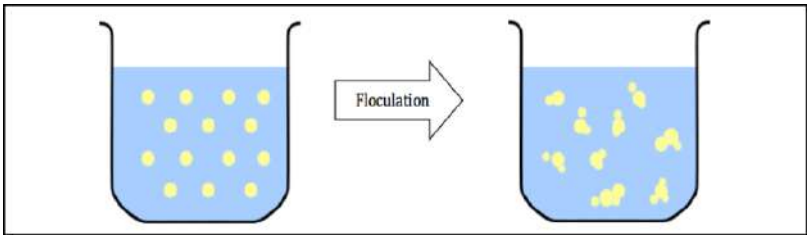


Figure I.5 : Floculation

I. 5.3. Sédimentation et Crémage

Pour des huiles à densité moindre par rapport à celle de l'eau, un phénomène de crémage est observé. On retrouve ainsi la phase dispersée, moins dense, en haut du système. L'inverse se passe pour le phénomène de sédimentation où la phase dispersée est plus dense (phase aqueuse). **Figure I.5**

Ce phénomène de crémage est contrecarré par une force, le Mouvement Brownien, qui résulte de l'agitation thermique des molécules. [17] Le taux de crémage peut être estimé à partir de l'équation de Stokes :

$$v = 2gr2\ (\rho - \rho o)\ 9\ \eta \qquad \textbf{(I.6)}$$

Avec :

r = rayon de la gouttelette (m)

ρ = densité de la gouttelette

ρo = densité de la phase continue

η = viscosité de la phase continue (Pa.s = Pl)

g = accélération locale due à la gravité (9,81 $m.s^{-2}$)

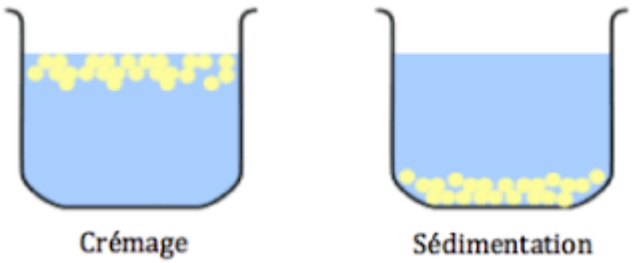


Figure I.6: Crémage et Sédimentation [17]

C'est un phénomène non destructif, donc réversible si soumis à une agitation du système. On peut ainsi jouer sur la viscosité (valeur plus grande de viscosité pour la phase continue), sur le rayon de la gouttelette et sur une petite différence de densité entre l'huile et la phase aqueuse afin de ralentir le phénomène.

I.5.4 Coalescence

La coalescence est un phénomène irréversible qui résulte de la rupture du film interfacial entre les gouttelettes de la phase dispersée. Elle engendre une réduction de la surface interfaciale, ainsi les forces qui s'exercent sur la gouttelette sont moindres, aboutissant à un état plus stable.

Ces interactions entre gouttelettes sont à contrôler : il s'agira de stabiliser l'interface, jouant avec les forces répulsives pour contrecarrer les forces attractives, de nature

électrostatiques (tensioactifs ioniques chargés au niveau de la surface des gouttelettes) ou stériques [17].

I.6. Formulation des émulsions

I.6.1. Diagramme ternaire

Pour la formulation des émulsions on peut faire appel aux diagrammes ternaires. Ce sont des triangles équilatéraux, les sommets correspondant à l'huile, l'eau et au surfactif. On détermine par tâtonnement la zone des émulsions stables pour des valeurs de chaque constituant. D'un point vu pratique, lorsqu'il s'agit de formuler une émulsion, il n'est pas nécessaire d'étudier tout le diagramme mais de se limiter aux zones spécifiques des émulsions [18].

I.6.2. Méthode HLB

Pour formuler des émulsions stables, la méthode HLB (ou méthode de Griffin) est très Utilisée. Elle ne prend en compte que l'importance relative du pôle hydrophile et du pôle hydrophobe. La méthode HLB est basée sur la classification des tensioactifs par hydrophilie croissante et sur l'utilisation de règles simples de calcul des propriétés des mélanges de tensioactifs.

Le principal avantage du HLB est son additivité, très utile lorsque deux tensioactifs doivent être utilisés en mélange pour obtenir une formulation stable. En effet, il existe un HLB requis par la phase hydrophobe pour une stabilité optimale.

Une échelle de valeurs de HLB de 0 à 20 a ainsi été définie. Dans le cas d'émulsions de type eau dans l'huile, on utilise des tensioactifs de faible HLB (HLB < 7). Pour des émulsions de type huile dans l'eau, on choisit des tensioactifs de plus fort HLB (HLB ≥ 8).

La capacité du tensioactif à diminuer la tension interfaciale entre les deux phases à émulsionner constitue un critère de choix du tensioactif [19].

I.6.3. Méthode HLD

La différence hydrophile-lipophile (HLD), est un nombre sans dimension qui traduit l'écart d'une formulation donnée à la formulation optimale. Les termes qui augmentent la valeur du HLD accroissent l'affinité du surfactif pour l'huile, tandis que les termes qui la diminuent, augmentent l'affinité du surfactif pour l'eau.

Le HLD est un concept global qui prend en compte toutes les contributions physico-chimiques de la formulation, comme la nature des phases, la température du système ou le type de surfactif utilisé. De plus, le HLD est une expression numérique qui permet de faire des calculs et de prédire les compensations entre les effets des différentes variables. Les

valeurs numériques des paramètres nécessaires dans les équations sont données dans la littérature [20].

I.6.4. Inversion de phase

Une inversion de phase a lieu quand la phase continue d'une émulsion devient la phase dispersée, et inversement. Une inversion d'émulsion peut se faire lors d'un changement de formulation ou de composition qui provoque un changement du type de l'émulsion. Ce type d'inversion est appelé inversion dynamique car elle a lieu à cause de ce changement continu.

Une inversion peut être favorable ou défavorable, et sera exploitée ou évitée. L'intérêt principal du procédé d'émulsification par inversion de phase est la taille des gouttes, généralement plus faible qu'avec un procédé d'émulsification direct, en apportant moins d'énergie mécanique. Il existe deux méthodes : inversion par température (PIT) et inversion par agitation.

La détection de l'inversion de phase se fait soit par changement de la conductivité, soit par changement de la rhéologie (Il a été noté un maximum de viscosité au moment de l'inversion de phases) [19].

I.7. Applications des émulsions :

La présente étude a permis de bien cerner le sujet de l'émulsion, l'objectif est de bien comprendre les différentes contraintes de formulation, afin de se projeter vers des systèmes industriels dans lequel l'émulsion prend place.

Aujourd'hui l'utilisation des émulsions a pu atteindre différents domaines :

I.7.1. Les émulsions alimentaires

Plusieurs aliments d'origine naturelle ou industrielle se compose partiellement ou totalement d'émulsions ou au moins au cours de leurs cycles de production à savoir la mayonnaise, les sauces, le café, le beurre et les boissons de fruits [21].

I.7.2. La cosmétologie :

Tels que les crèmes à main, les lotions, les laques et les crèmes solaires [21]

I.7.3.L'industrie pharmaceutique :

Il s'agit du domaine qui nous intéresse le plus dans le cadre de cette étude, il consiste à augmenter l'absorption des huiles à travers la barrière intestinale, la peau et les tissus.

Les différentes voies d'administration sont:

- La voie orale : Elle permet d'améliorer l'appétence des huiles à voie orale
- La voie intramusculaire : Assure la libération prolongée du produit administré
- La voie intraveineuse : possibilité d'utilisation par voie parentérale dans le double rôle de fournir à l'organisme une source de calories et d'acides gras.

La taille du globule (moins de 1µm) permet d'éviter les embolies.

- La voie rectale : le traitement chronique de la constipation.
- La voie locale :

✓ L'émulsion H/E : moins graisseuse, facile à laver et présente des caractères plus acceptables d'un point de vue cosmétique.

✓ L'émulsion E/H : Effet hydratant, utilisé pour le ramollissement de la peau sèche ainsi que la prévention des fissures de la peau [22].

I.7.4. La peinture

Les deux exemples d'utilisation d'émulsion dans le domaine de la peinture sont l'émulsion de résines d'alkyde et l'émulsion de latex [23]

I.7.5. Les formules du lavage à sec :

Il s'agit des gouttelettes d'eau dispersée dans une huile de lavage nécessaire pour nettoyer salissures et les argiles [24]

CHAPITRE II

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES SUCROESTER

II. STABILITES DES EMULSIONS PAR TENSIOACTIFS NON-IONIQUE

II.1. Tensioactifs non ioniques :

Les tensioactifs non ioniques sont constitués d'une tête polaire non ionisable en solution aqueuse. De ce fait, ils sont compatibles avec n'importe quel autre type, ce qui en fait d'excellents candidats pour les formulations complexes que l'on trouve si souvent dans les applications pratiques. Actuellement, ce type de tensioactif est produit à plus de 30% de la production mondiale en tensioactifs.

Le groupement hydrophile est généralement du type : alcool phénol, éther ou même amide, fréquemment relié à une chaine polyéther de type poly-oxyde d'éthylène. Le groupe hydrophobe, est souvent un radical alkyle ou alkylbenzène, et parfois une structure d'origine naturelle comme un acide gras (**figure II.1**) [25,26].

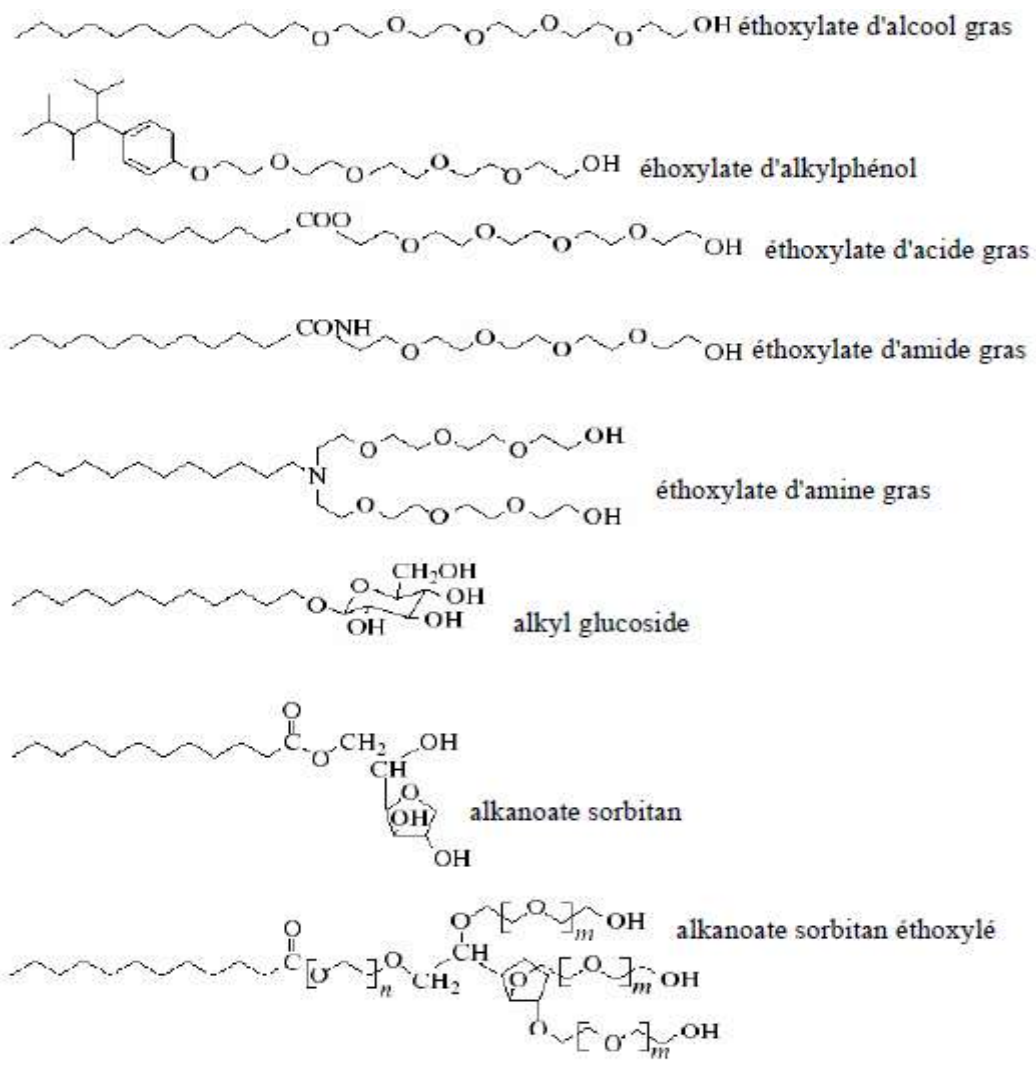


Figure II. 1 : Tensioactif non-ioniques [26]

II.2. Sucroester :

Les esters de sucres sont des tensioactifs non-ioniques présentant de nombreux avantages dont notamment la diversité des structures disponibles et le caractère inoffensif, tant pour la santé que pour l'environnement. Leurs applications potentielles touchent des domaines aussi variés que l'alimentation humaine (avec par exemple la mousse au chocolat), la formulation de médicaments et de produits phytosanitaires ou encore l'étude des protéines membranaires. Il faut également noter que d'intéressantes activités biologiques ont été mises en évidence dans certains groupes d'esters de sucres. Le nombre de publications relatives aux esters de sucres a considérablement augmenté depuis dix ans. Ces textes décrivent essentiellement les multiples modes de synthèse envisageables pour la production de telles molécules, le plus souvent à l'échelle du laboratoire. Une méthode de synthèse a été la plus étudiée au cours de cette dernière décennie : la voie biotechnologique exploitant les capacités de synthèse d'enzymes. Pour toutes ces raisons, il a semblé opportun de rassembler les connaissances disponibles au sujet de ces molécules [27].

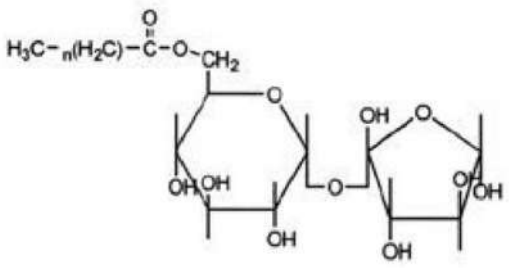


Figure II.2 : Ester de sucre [28]

II.3. Caractéristiques générales des sucroesters :

Les esters de sucre synthétisés à partir des sources renouvelables peu coûteuses et facilement disponibles telles que les acides gras et les sucres. Ils constituent un groupe intéressant de tensioactifs non ioniques. En contrôlant le degré d'estérification et la nature de l'acide gras et du sucre, il est possible de synthétiser une large gamme d'esters de sucres ayant des caractéristiques fonctionnelles, notamment les valeurs HLB, bien déterminées en vue d'une ou de plusieurs applications spécifiques. Ceci peut être réalisé en faisant varier:

- la longueur de chaîne alkyle des groupes acyle,
- le nombre de groupes ester par molécule,
- Le degré d'insaturation des chaînes acyle

Les esters de saccharose ont une valeur de HLB très élevée, d'excellentes propriétés physiques et une bonne activité de surface. Les sucroesters ont été étudiés pour posséder une activité de stabiliser des émulsions, comme le laurate de saccharose et le palmitate de saccharose ont la capacité de stabiliser les émulsions H/E. Selon les conditions opératoires, on obtient des mono-, di-, tri- ou polyesters de saccharose. Les mono- ou di- esters de saccharose sont utilisés pour la stabilisation d'émulsion H/E (produits lactés). Les polyesters de saccharose stabilisent des émulsions E/H (exemple : margarine). Les palmitates de saccharose sont utilisés pour élaborer des microcapsules.

Les sucroesters sont produits par transestérification d'un sucre avec des esters éthyliques d'acides gras ou par estérification entre un sucre et un acide gras. Outre leurs propriétés émulsifiantes, ils ont des propriétés stabilisantes, détergentes et moussantes. Ils sont complètement biodégradables, inoffensifs pour l'environnement, non toxiques, compatibles avec la peau, sans odeur et sans goût. Ils sont largement utilisés dans le domaine agro-alimentaire, cosmétique, pharmaceutiques et détergence et Industries biomédicales. Par exemple, le stéarate de glucose peut être utilisé comme agent adoucissant du pain, le sorbitol et les mono-esters de sucre des acides laurique et stéarique possèdent une activité anti-tumorale et inhibitrice de la croissance. Les vésicules contenant des tensioactifs non ioniques tels que les esters de sucre sont capables d'encapsuler les médicaments hydrophiles et lipophiles et les protègent contre la dégradation acide et enzymatique dans le tractus gastro-intestinal. Certains sucroesters présentent des propriétés antimicrobiennes et des propriétés bactériostatiques. Actuellement, la production annuelle mondiale en sucroesters a atteint environ 6 000 tonnes [29].

II.4. Synthèse des esters de sucre et d'acide gras :

Les esters de sucre et d'acide gras peuvent être synthétisés suivant deux voies : chimique et enzymatique. La voie chimique, tout en permettant d'atteindre des rendements de conversion élevés des substrats, présente plusieurs inconvénients notamment une faible sélectivité de synthèse. Par conséquent, la voie enzymatique a fait l'objet de plusieurs études ces deux dernières décennies afin de pallier les inconvénients rencontrés avec la synthèse par voie chimique.

Les deux voies de synthèse des esters de sucre et d'acide gras font intervenir trois grands types de réactions: l'estérification directe, l'interestérification ou estérification indirecte et la transestérification à partir de triglycérides ou d'esters méthyliques. Ces réactions diffé-

rentes selon la nature du donneur d'acyle employé et les produits formés plus ou moins difficiles à éliminer (eau, alcool ...) [30].

II.4.1. Synthèse des esters de sucre et d'acide gras par voie chimique :

Les sucroesters commercialisés actuellement sont, pour la plupart, des esters gras de sucre obtenus par transestérification d'esters d'acides gras et de saccharose en présence d'un catalyseur chimique. Les travaux réalisés sur la synthèse par voie chimique des sucroesters peuvent être classés selon le type de réaction utilisée pour leur obtention.

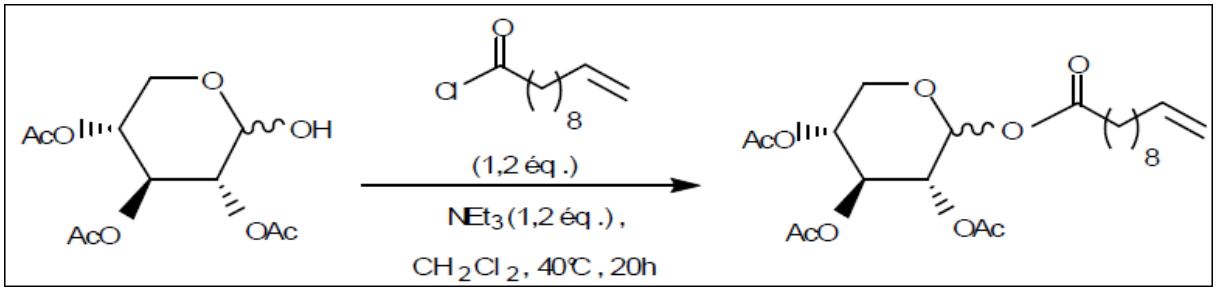


Figure II.3 : Estérification chimique du (2,3,4-tri-O-acétyl)-D-xylopyranose [31]

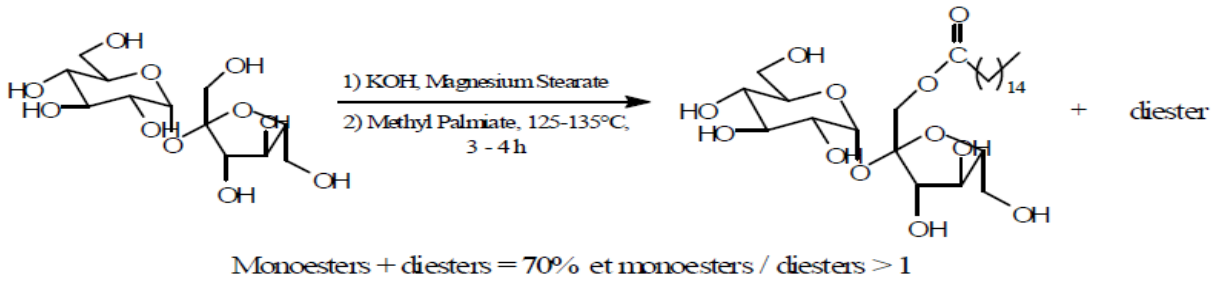


Figure II.4 : Transésterification chimique du saccharose [31]

II.4.2. Synthèse des esters de sucres et d'acide gras par voie enzymatique :

La synthèse des sucroesters par voie enzymatique utilise des lipases pouvant catalysées des synthèses en milieu organique dit milieu non conventionnel.

La propriété de régio- et stéréospécificité des lipases en a fait une très bonne solution de rechange pour remplacer les catalyseurs chimiques pour la synthèse des sucroesters. Les lipases permettent, en effet, de réaliser une acylation sélective d'un groupement hydroxyle de la molécule de sucre. Par conséquent, la stéréochimie du produit final se trouve complètement contrôlée par la spécificité de l'enzyme (Egloff et al. 1995). En plus, les lipases sont

utilisées dans des conditions très douces de température et de pH. En effet, la synthèse chimique est catalysée par des protons ou des ions hydroxyles en milieu fortement acide ou alcalin tandis que la synthèse enzymatique se fait à un pH proche de la neutralité. Quant à la température, elle est généralement assez faible afin d'éviter la dénaturation de l'enzyme [32].

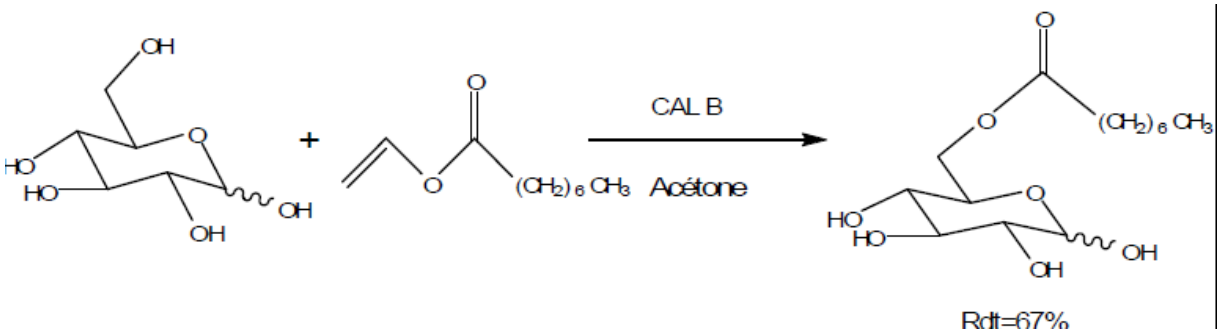


Figure II.5: Transésterification enzymatique du lactose [33]

Razafindralambo et coll. ont réalisé l'estérification enzymatique de l'acide D-glucoronique en présence de la CAL B [59] comme nous le montre la **Figure II.7** suivante:

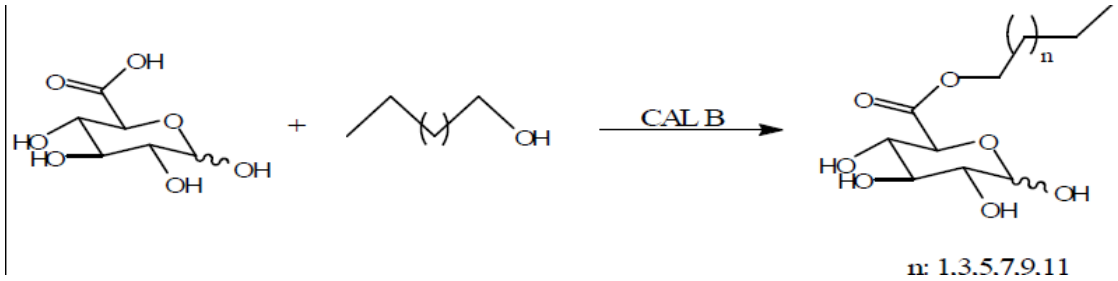


Figure II.6 : Estérification enzymatique de l'acide D-glucoronique [34]

II.5. Lipases :

II.5.1. Généralité :

Les triacylglycérol acyl-hydrolases, ou lipases, sont des enzymes atypiques de par leur mécanisme d'action et leur spécificité de substrats. En fonction du micro-environnement de l'enzyme, elles peuvent agir en tant qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique. En tant qu'hydrolases, elles sont responsables du catabolisme des triglycérides, leurs substrats préférentiels, en acide gras et en glycérol. Chez de nombreux êtres vivants, cette réaction est capitale de par son rôle physiologique majeur dans le méta-

bolisme des graisses et des lipides. De plus, certaines lipases sont capables d'hydrolyser des phospholipides, des esters de cholestérol et même parfois certains esters synthétiques. En milieu solvant, elles peuvent catalyser bon nombre de réactions allant de l'estérification à l'acidolyse ou l'alcoolyse tout en présentant une certaine énantio-, régio- et chimio-sélectivité. Les lipases forment une classe d'enzymes hétérogènes de par leur origine, qu'elles soient animales, végétales ou microbiennes, ce qui augmente encore leurs potentialités. Toutes ces propriétés ont conduit au développement de nombreuses applications aussi bien au point de vue industriel, notamment dans l'industrie agro-alimentaire et dans l'industrie chimique, qu'en médecine humaine [35].

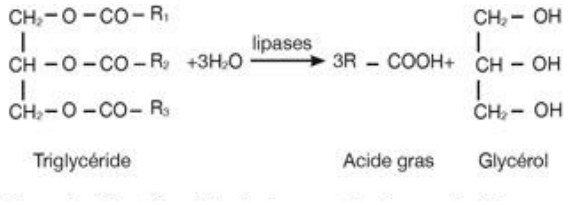


Figure II.7 : Rèaction d'hydrolyse catalysée par la lipase en milieux aqueux [36]

II.5.2. Lipase de *Ricinus communis* L :

L'activité de la lipase des graines de ricin est reconnue depuis plus d'un siècle. Elle présente une sélectivité particulière, souvent pour un substrat, et peut être utilisés de façon rentable pour l'enrichissement ou l'isolement spécifique d'un type ou d'une classe particulière de lipide.

Les lipases sont associées aux membranes lipidiques (petites organites intracellulaires qui stockent l'huile) et sont probablement ancrées par leur région hydrophobe proche de l'extrémité N-terminale [37].



Figure II.8 : graines de ricin (ricinus communis) [38]

II.5.3. Immobilisation des lipases :

L'application de la catalyse enzymatique aux processus chimiques diminue l'utilisation des produits nocifs dans l'environnement et réduit ainsi le coût de traitement. Les enzymes offrent un avantage distinct dû à leur spécificité, la biodégradabilité et la limitation de la formation de sous-produits. Quelques critères doivent être réunis pour qu'une enzyme soit un catalyseur industriel viable. L'enzyme doit être compatible et stable. Au niveau fonctionnel la stabilité d'une enzyme limite souvent son application pratique dans des processus médicinaux et biotechnologiques. Une approche possible pour stabiliser des enzymes est leur immobilisation sur une matrice appropriée. Du point de vue industriel, les biocatalyseurs immobilisés présentent une stabilité augmentée, des changements dans l'activité enzymatique, le pH optimum, et l'affinité pour le substrat ont été observés. Ces changements dépendent de la source de l'enzyme, du type de support et de la méthode d'immobilisation. Le paragraphe suivant passe en revue les différentes techniques d'immobilisation [31].

- **Immobilisation par inclusion :**

Le principe de l'inclusion est de retenir l'enzyme prisonnière dans la matrice d'un polymère ou dans une microcapsule. Plusieurs polymères, entre autre l'alginate, le chitosan, le gel de polyacrylamide et le gel d'amidon, sont utilisés dans l'immobilisation par inclusion.

L'alginate est un polysaccharide présent chez les algues brunes ou Phaeophyceae, sous forme d'un mélange de sel (sodium, potassium, calcium, magnésium) et d'acide alginique. L'acide alginique est un polymère constitué de résidus d'acides uroniques: acides α-L-guluronique et β-D-mannuronique.

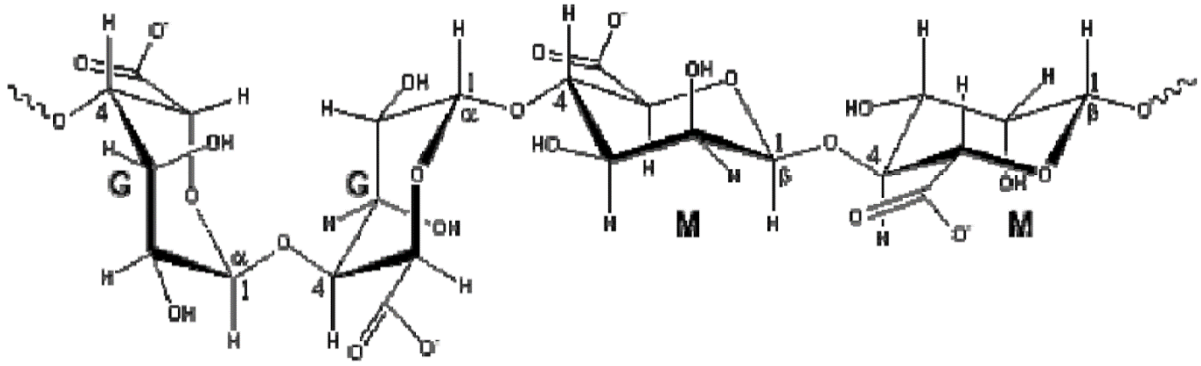


Figure II.9 : Structure de l'alginate. G : acide guluronique M : acide Mannuronique [39]

Les acides uroniques sont dérivés de monosaccharides simples dans lesquels le groupe hydroxyle primaire en C6 a été oxydé en acide carboxylique correspondant. Par exemple, l'acide D-mannuronique est dérivé du D-mannose. L'alginate est principalement extrait à partir de *Macrocystis pyrifera*. L'alginate est l'un des polymères le plus fréquemment utilisés pour l'immobilisation par inclusion non seulement grâce à ses propriétés de gélification mais aussi grâce à sa non-toxicité. La gélification qui est l'une des principales propriétés des alginates est due au fait qu'ils réagissent avec les cations divalents (sauf le magnésium) et précipitent lorsque ces cations sont en excès. Les lipases de *Candida rugosa* a été immobilisée par inclusion dans l'alginate [31].

Le chitosan est un polysaccharide composé de la distribution aléatoire de D-glucosamine liée par ß-(1-4) (unité désacétylée) et de N-acétyl-D-glucosamine (unité acétylée). Le chitosan est obtenu par désacétylation de la chitine, un composé particulièrement abondant dans les carapaces de crustacés.

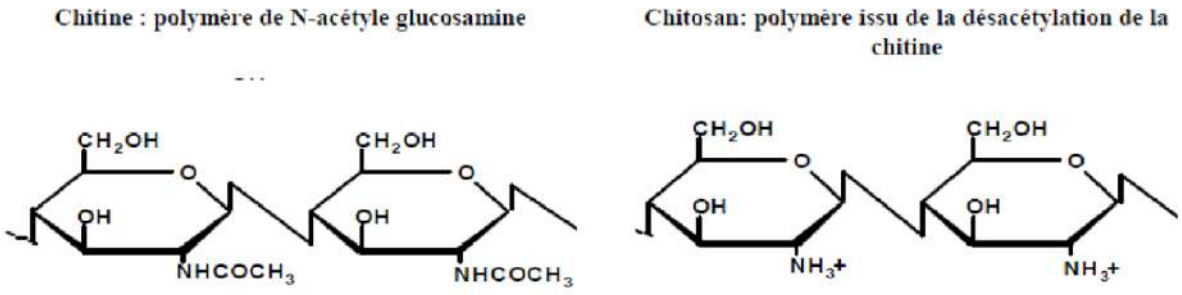


Figure II.10 : Formule chimique du chitosan. [40]

Pour permettre à la molécule d'être soluble dans la plupart des acides, la désacétylation libère les groupes amines (NH_2) et confère au chitosan une nature "cationique" en milieu acide, ce qui est particulièrement intéressant du fait que la plupart des polysaccharides du même type sont le plus souvent neutres ou négativement chargés.

- **Immobilisation par adsorption :**

Parmi les diverses techniques d'immobilisation, l'adsorption demeure la méthode la plus simple et la plus rentable. Différents supports, tels que la silice, les billes de verre poreux, l'alumine, la terre diatomée, la célite et le charbon actif ont déjà été exploités pour l'immobilisation d'enzymes. Différents types de liaisons interviennent dans les réactions d'adsorption à savoir l'échange d'ions, les interactions de Van Der Waals et la liaison

hydrogène. La concentration en enzyme, le temps de contact, le pH et la quantité du support sont des paramètres qui influencent l'adsorption.

La célite est utilisée comme support d'adsorption dans la plupart des applications industrielles des lipases et ce, en raison de son caractère poreux. Les lipases de *Rhizomucor japonicus* Mucor javanicus, *Pseudomonas fluorescens*, *Candida rugosa*, *Rhizopusdelemar*, *Rhizopus oryzae* et *Chromobacterium viscosum* ont été immobilisées par simple adsorption sur la célite.

Le gel de silice compte parmi les principales substances adsorbantes et se prête à de nombreuses applications. C'est une forme d'acide silicique composée de granulés irréguliers et poreux. Les produits de base pour sa fabrication sont essentiellement le silicate de sodium et l'acide sulfurique. Ces substances sont exposées à une réaction chimique et produisent un gel de silice très riche en SiO_2 ont immobilisé les lipases de pancréas de porc, de *Pseudomonas cepacia*, de *Candida antartica*, sur la silice par simple adsorption. Le gel de silice est compatible avec tous les matériaux à l'exception des substances fortement alcalines et l'acide fluorhydrique [32].

- **Immobilisation par liaison covalente :**

L'immobilisation par liaison covalente a été développée dans le souci d'obtenir des liaisons très solides entre enzymes et supports. Pour la réalisation de la liaison covalente il faut une activation préalable soit du support soit de l'enzyme car les groupes fonctionnels de l'enzyme ne sont généralement pas suffisamment réactifs. Mais c'est surtout l'activation des supports d'adsorption qui a fait l'objet de nombreuses études car l'activation des groupes fonctionnels de l'enzyme est délicate et peut conduire à la dénaturation de l'enzyme.

Un carbodiimide est un groupe fonctionnel de type N=C=N. En chimie organique synthétique, les composés contenant la fonctionnalité de carbodiimide sont des agents de déshydratation et sont souvent employés pour activer les acides carboxyliques vers la formation d'amide ou d'ester et ont l'avantage d'avoir une très faible toxicité pour l'enzyme.

La lipase de *Candida rugosa* a été immobilisée par liaison covalente sur les billes de chitosan dont les groupements hydroxyles ont été préalablement activés par le carbodiimide.

La lipase du pancréas de porc a été immobilisée sur polyacrylamide activé par le carbodiimide et a ainsi été appliquée à l'hydrolyse de l'huile d'olive.

Le glutaraldéhyde (dialdéhyde comportant cinq atomes de carbone) est également utilisé pour former des liaisons covalentes. C'est un liquide visqueux et incolore qui se présente normalement en une solution aqueuse limpide et incolore. Pour l'immobilisation par liaison covalente, le glutaraldéhyde ayant deux sites réactifs, va servir de pont entre les fonctions $-NH_2$ du support et de l'enzyme. Les films de chitosan activés par le glutaraldéhyde ont été utilisés pour l'immobilisation de la lipase de *Candida cylindracea* et de *Syncephalastrum racemosum* [41].

II.5. Objectifs de l'immobilisation des lipases :

Les lipases sont capables de catalyser l'hydrolyse d'esters glycériques en milieu aqueux et la synthèse d'esters en milieu non aqueux. Ils sont ainsi capables de catalyser de nombreuses réactions d'intérêt industriel. Que ce soit par inclusion, par adsorption ou par liaison covalente, l'immobilisation des lipases vise à leur conférer une bonne stabilité qui permet une réutilisation des enzymes après une réaction et le développement de procédés en continu. Les réactions d'hydrolyse des triglycérides constituent les principales applications des lipases immobilisées, mais leur utilisation dans différents types de réactions d'estérification a également vu le jour : il existe des procédés faisant intervenir des réactions de transestérification, d'interestérification ou de synthèse d'esters. La production de lipides structurés par interestérification en est un exemple. Bien que les conditions de réaction soient différentes de celles de l'hydrolyse, les mêmes lipases ont été utilisées dans les deux cas. Une lipase spécifiquement adaptée à l'estérification serait cependant un outil très performant : une série de stratégies est en cours pour atteindre cet objectif [42].

Chapitre III
MATÉRIELS ET MÉTHODES

INTRODUCTION

Ce travail a pour objectif d'étudier la formulation d'une émulsion stabilisée par un tensioactif non-ionique synthétisé par voie enzymatique. Dans notre étude nous avons utilisé comme biocatalyseur une enzyme végétale " la lipase de *Ricinus communis* L". Cette enzyme est utilisée pour réaliser la conversion d'un mélange d'un acide gras et un sucre en ester de sucre par une réaction d'estérification.

Pour cela il nous a apparu judicieux après avoir extrait et purifier la lipase de *Ricinus communis* L, de la conditionner en l'immobilisant dans un support afin de préserver son activité et faciliter la séparation du produit (ester de sucre) qui sera utiliser comme un émulsifiant dans la formulation des émulsions.

Afin d'évaluer de manière qualitative la morphologie de la dispersion des gouttelettes d'huile dans la phase aqueuse, une analyse microscopique des différentes formulations a été effectué.

III. MATÉRIELS ET MÉTHODES

III.1. Matériels

En plus de la verrerie de laboratoire de chimie, les différents matériels utilisés lors de cette étude sont présentés dans le **tableau III.1 :**

Tableau III.1 : Appareillages utilisés

Matériels	Marque
Agitateurs	Heidolph Mr Hei-Santard
Centrifugeuse	Remi Laboratory Instruments, Mumbai, Inde
Balance électronique	Sartorius
pH mètre	HANNA instrement
Microscope	Binoculaire Biologique
Spectromètre IR	FTIR 8400 SHIMADZU FOURIER transform infrared spectrophotometre
Conductimètre	HANNA instrement
Homogénéiseur	IKA modèle T18B 50/60 Hz
Spectrophotomètre UV-VIS	UV VIS spectrophotometre SHIMDZU

III.2. Réactifs

Les réactifs utilisés dans cette étude sont les suivants :

- ***Enzyme***

Dans le présent travail, la lipase (EC. 3.1.1.3) utilisée est de source végétale extraite à partir les graines de ricin (*Ricinus communis* L). La méthode d'extraction et de purification est décrite dans le paragraphe **III.2.1.**

- ***Substrats***

Deux types de manipulations ont été étudiés dans ce travail. Selon chaque manipulation, on cite les réactifs utilisés :

- **Formulation des émulsions :**
  - ***Huile d'amande :***

- Nom commun de l'huile végétale : Amande douce
- Arbre producteur : Amandier
- Nom botanique : *Prunus amygdalus vardulcis* ou *communis*.
- Famille botanique : Rosacées
- Partie de la plante extraite : Graines (amandes issues des fruits). Précision : les amandes vertes servent à réaliser le sirop d'orgeat.
- Potentiel oxydatif : Peu sensible

Principaux bienfaits

Sur le plan cosmétique (en usage cutané), l'huile d'amande est une :

- Émolliente
- Antioxydante
- Nourrissante
- Régénérante, réparatrice cutanée
- Adoucissante, apaisante cutanée
- Cicatrisante
- Protectrice cutanée

- ***Gomme xanthane :***

  Ce gélifiant d'origine naturelle permet de réaliser de beaux gels aqueux parfaitement transparents. Nous vous la proposons en grade « granulé » pour une dispersion optimale et une préparation très facile sans grumeau, même à froid. A faibles dosages (0.5- 1%) la gomme xanthane s'utilise pour augmenter la stabilité des émulsions. Elle apportera un glissant très agréable aux préparations tout en en augmentant légèrement la viscosité.

- **Conservateur :**

  Vitamine E est un actif cosmétique reconnu et un conservateur des phases huileuses pour vos préparations cosmétiques. Cet antioxydant surpuissant est primordial pour éviter l'oxydation puis le rancissement des huiles végétales et de toutes phases huileuses.

- ✓ **Réaction de synthèse:** C'est la réaction de synthèse de sucroester (palmitate de glucose):

Tableau III.2 : Substances chimiques utilisées au cours de la synthèse de sucroester.

Produit	Fournisseur	Masse Molaire
Glucose anhydre	Riedel-de Haën	180.15
Acide palmitique	Fluka	256.43

- ➢ ***Solvants***

Le tableau **III.3** présente les différents solvants utilisés

Tableau III.3: Différents solvants utilisés au cours de cette étude

Réactifs chimique	Fournisseur
Acétone	Sigma-Aldrich
Tert-butanol	Fluka

III.2. Méthodes

III.2.1. Préparation de la lipase

L'utilisation de lipase de ricin dans cette étude nécessite d'abord une préparation préalable, en commençant par l'extraction et la purification, et enfin la séparation.

A/ Extraction et purification de la lipase

Les graines de ricin sont décortiquées et écrasée avec un pilon et un mortier avec de l'eau distillée. Le mélange est ensuite filtré sur la gaze. L'extrait enzymatique obtenu est la lipase brute (**LB**) **(figure III.1).**

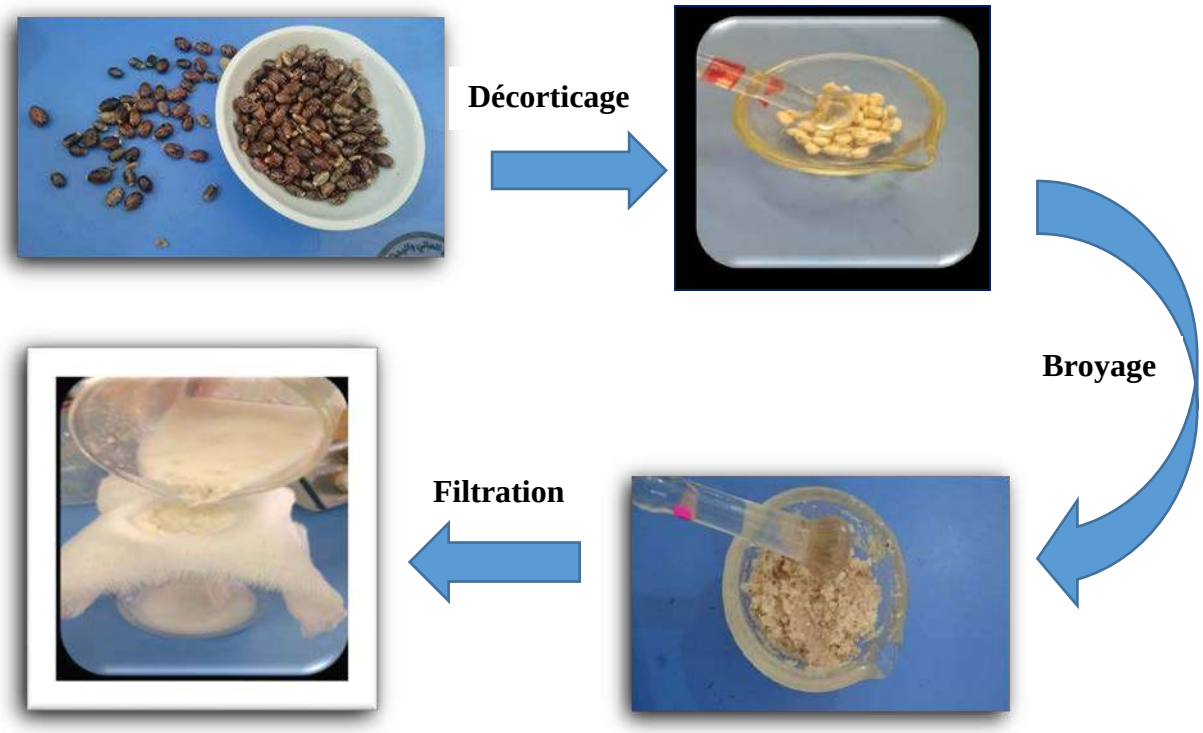


Figure III.1 : Protocol d'extraction de lipase brute

L'extrait brut de lipase a été partiellement purifié par précipitation à l'acétone à 4°C. Verser trois volumes de glace acétone goutte à goutte dans un volume de solution aqueuse de lipase brute et agiter dans un bain de glace. Une fois l'acétone complètement versé, le mélange (lipase brute-acétone) est placé au réfrigérateur pendant 2 heures, puis un précipité blanc se forme. Il est récupéré par centrifugation à 3000 rpm pendant 10 minutes dans une centrifugeuse.

Les particules récupérées sont séchées à température ambiante, et la poudre résultante est de la lipase partiellement purifiée (LPP).

Le LPP peut être conservée dans le réfrigérateur pendant plusieurs semaines. Les étapes de purification sont récapitulées dans (**figure III.2**).

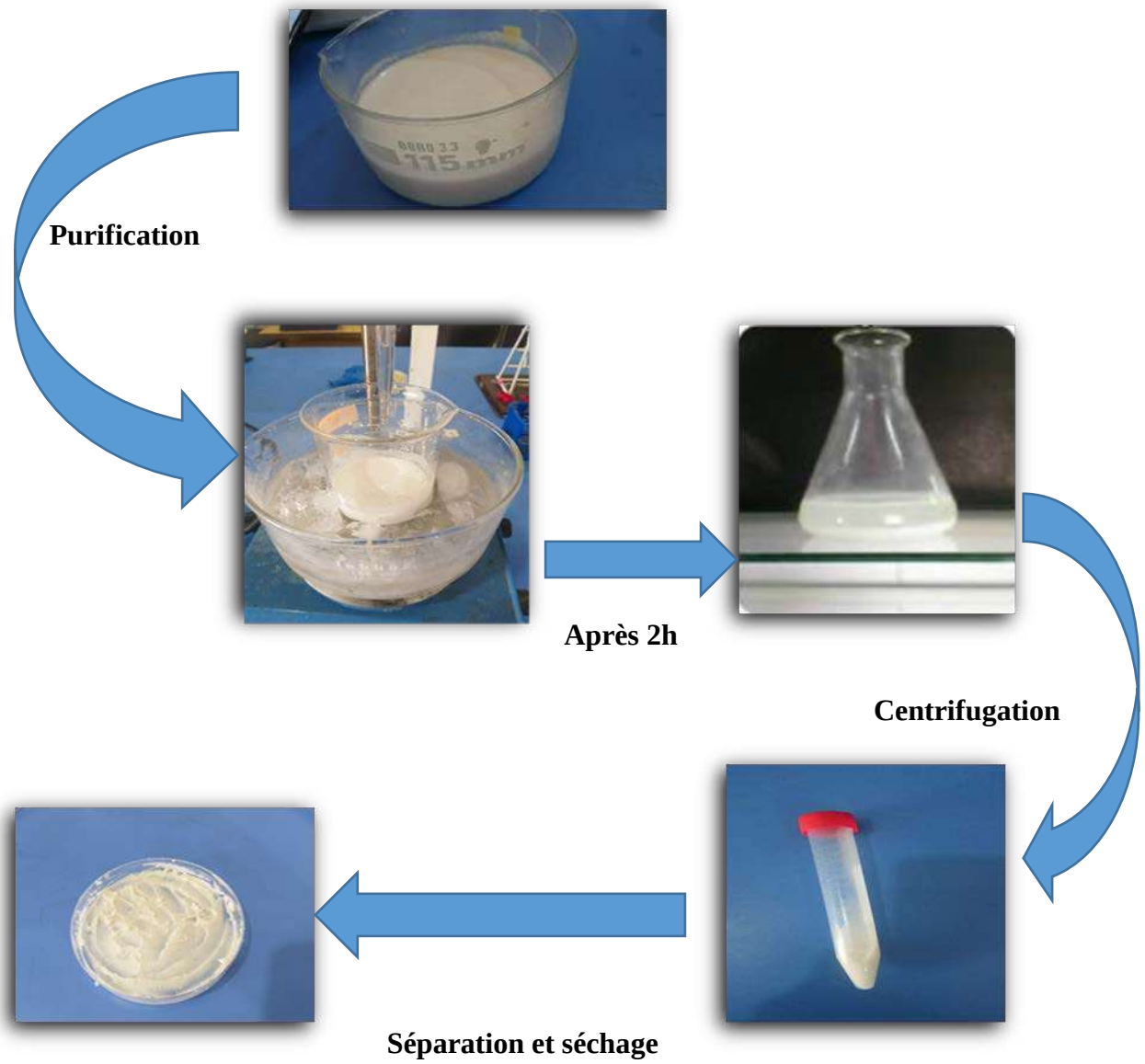


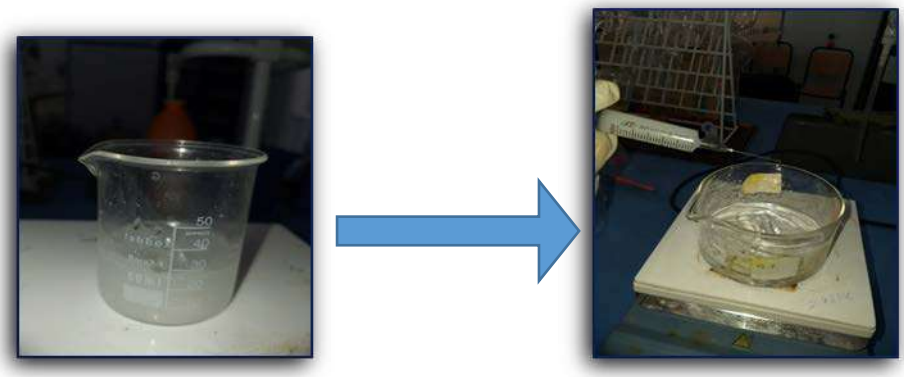
Figure III.2 : Technique de purification partielle de la lipase brute par précipitation à l'acétone.

III.2.2. Préparation de la lipase immobilisée :

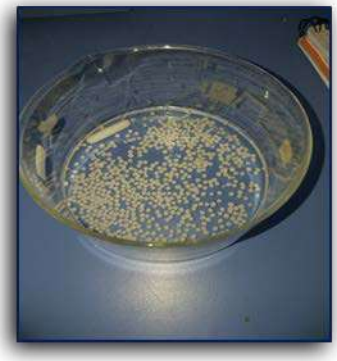
Dans un bécher, 3 g de lipase partiellement purifiée (**LPP**) a été dissous dans 10 ml eau distillée, l'opération se fait sous agitation à température ambiante. Une fois l'enzyme est complètement dissoute, 0,2 g d'alginate de sodium a été ensuite ajoutée à la solution d'enzyme. Le mélange obtenu est maintenue sous agitation magnétique pendant une heure jusqu'à l'obtention d'une solution homogène et visqueuse. Pour éviter les bulles d'air qui

peuvent causer la flottation des billes à la surface de la solution de $CaCl_2$, le mélange est laissé au repos pendant 30 minutes.

Les billes d'alginate de calcium sont préparées en versant le mélange lipase/alginate goutte à goutte, à l'aide d'une seringue 20G, dans 50 ml de solution de $CaCl_2$ (0,2 M) maintenue sous agitation magnétique. Une fois les billes récupérées et rincées, elles doivent être conservées dans une solution tampon pH = 7 à 4 °C est placé dans un récipient en verre fermé par un bouchon (**figure III.3**).



Dissolution de LPP + alginate de Na^+ **Préparation des billes dans $CaCl_2$**



Conservation des billes d'alginate de calcium dans une solution tampon pH=7

Figure III.3: Étapes d'immobilisation de la lipase dans l'alginate de sodium.

III.3. Synthèse de palmitate de glucose

Les esters de sucres sont des tensioactifs non-ioniques présentant de nombreux avantages dont notamment la diversité des structures disponibles et le caractère inoffensif, tant pour la santé que pour l'environnement. Leurs applications potentielles touchent des domaines aussi variés que l'alimentation humaine (avec par exemple la mousse au chocolat), la

formulation de médicaments et de produits phytosanitaires ou encore l'étude des protéines membranaires. Il faut également noter que d'intéressantes activités biologiques ont été mises en évidence dans certains groupes d'esters de sucres. Le nombre de publications relatives aux esters de sucres a considérablement augmenté depuis dix ans [43]

Les esters de sucre et d'acide gras peuvent être synthétisés suivant deux voies: chimique et enzymatique. La voie chimique, tout en permettant d'atteindre des rendements de conversion élevés des substrats, présente plusieurs inconvénients notamment une faible sélectivité de synthèse. Par conséquence, la voie enzymatique a fait l'objet de plusieurs études ces deux dernières afin de pallier les inconvénients rencontrés avec la synthèse par voie chimique [44].

• **Mode opératoire**

Dans un erlenmeyer fermé par un bouchon en verre, on a dissous un mélange de 8mmoles de glucose et 16mmoles d'acide palmitique dans 40 ml de tert-butanol avec l'activité de l'eau du mélange réactionnel est a_w = 0.3, on ajoute après la lipase immobilisée. Le mélange obtenu est maintenu sous agitation magnétique (600 rpm) pendant 24h à 40°C (**figure III.4**) [29].



Figure. III.4 : Montage de **s**ynthèse de palmitate de glucose.

Après 24h, le mélange a été dosé par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine (0.1M) pour éliminer la quantité d'acide gras restante. On laisse le mélange reposé afin de séparer la phase solide formé. Le palmitate de glucose est filtré par un papier filtre et rincé avec de l'eau distillée (**figure III.5**) [29].

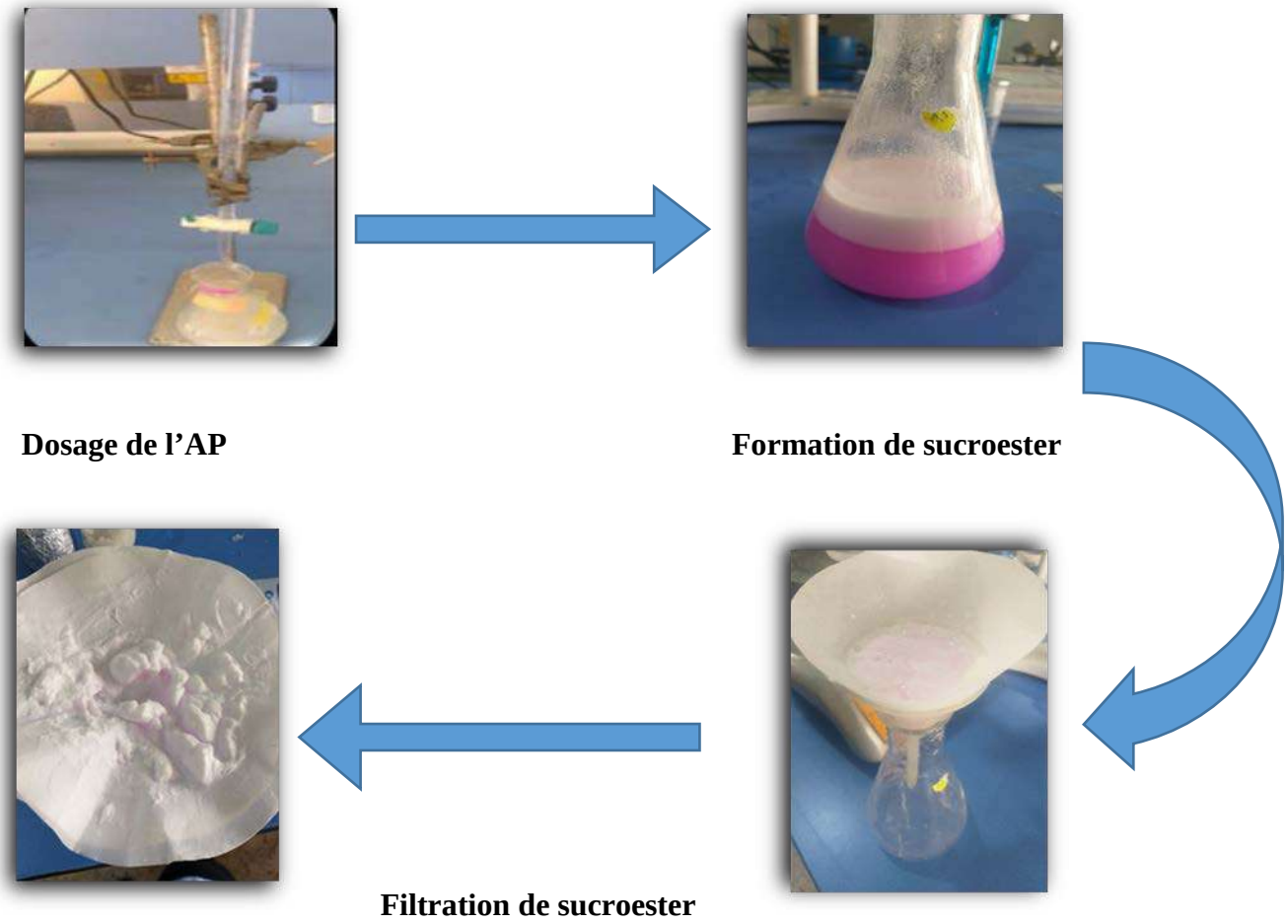


Figure. III.5 : Etapes de séparation du sucroester.

III.4. Caractérisation structurale du palmitate de glucose synthétisé

Pour identifier et confirmer le composé synthétisé, l'analyse FTIR (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier) a été réalisée.

III.5. Formulation des émulsions simples stabilisée par le palmitate de glucose :

Des émulsions de type H/E ont été préparées en additionnant la phase B dans la phase A petit à petit sans cesser d'agiter vigoureusement à l'aide d'un homogénéiseur pendant environ 10 minutes jusqu'à l'obtention d'une émulsion homogène (**figure III.6)**. Les deux phases **A** et **B** sont préalablement préparées comme suivant :

- **phase A** : dissolution de tensioactif « palmitate de glucose » dans la phase huileuse « huile d'amande » à température ambiante.

- **phase B** : sous agitation et à température ambiante, la gomme xanthane (GX) a été dissous dans la phase aqueuse « l'eau distillée » en la saupoudrant pour une meilleure solubilisation de celle-ci.
- La vitamine E (VE) et l'extrait aromatique (EA) sont ajoutés matière par matière, en mélangeant bien entre chaque ajout.



Figure III.6 : Dispositif d'homogénéisateur par Ultra Turax

- Les concentrations (en %) de chaque constituant sont présentées dans le tableau
- les émulsions préparées sont mis à différentes conditions (4C°, température ambiante, 40C° et à l'abri de la lumière).

Tableau III.4 : Concentrations des différents constituants des émulsions formulées.

	TA%	P huileuse%	P aqueuse%	GX%	VE%	EA (%)
E1	0.5	20	78	0.5	0.5	0.5
E2	1	20	77.5	0.5	0.5	0.5
E3	2	20	77	0.5	0.5	0.5

III.6. Caractérisations physicochimiques des formulations préparées

III.6.1. Examen microscopique

C'est un contrôle physique et fondamental, il a pour objectifs :

- de déterminer la taille, la forme et l'homogénéité de la répartition.
- de vérifier l'absence de particules anormales en suspension ou la présence de bulles d'air.
- de vérifier la recristallisation des excipients et spécialement celle des conservateurs.
- Le phénomène de coalescence.

- Le changement de phase d'émulsion, consécutif à une évolution importante du diamètre des globules.

Mode opératoire

Cet examen s'effectue en plaçant une goutte d'émulsion entre lame et lamelle. La morphologie des formulations est visualisée à l'aide d'un microscope à contraste de phase (×40) connecté à une caméra digitale, l'ensemble étant contrôlé par un ordinateur, permettant de récupérer les images.

III.6.2. Détermination du pH

La valeur du pH est souvent importante pour la conservation, et pour les incompatibilités. Cette détermination se fait avec le pH-mètre directement sur l'émulsion.

III.6.3. Mesure de la conductivité

Les conductivités des émulsions préparées sont déterminées à l'aide d'un conductimètre électrique. La conductivité mesurée est celle de la phase continue, elle permet de déterminer le sens de l'émulsion.

III.6.4. Contrôle microbiologique

L'objectif du contrôle microbiologique est de vérifier l'innocuité de notre émulsion, et de s'assurer de sa conformité vis-à-vis des normes en vigueur.

Mode opératoire

- Collage de milieu de culture dans la boite pétrie.
- Prendre avec pipete de pasteur stérile des colonies de chaque souche.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- Imprégnation des disques blancs de diamètre 9 mm dans notre émulsion, puis les déposer à l'aide d'une pince stérile et les presser sur la surface du milieu et enfin les incuber à 37°C pendant 24 h (**figure III.7**).

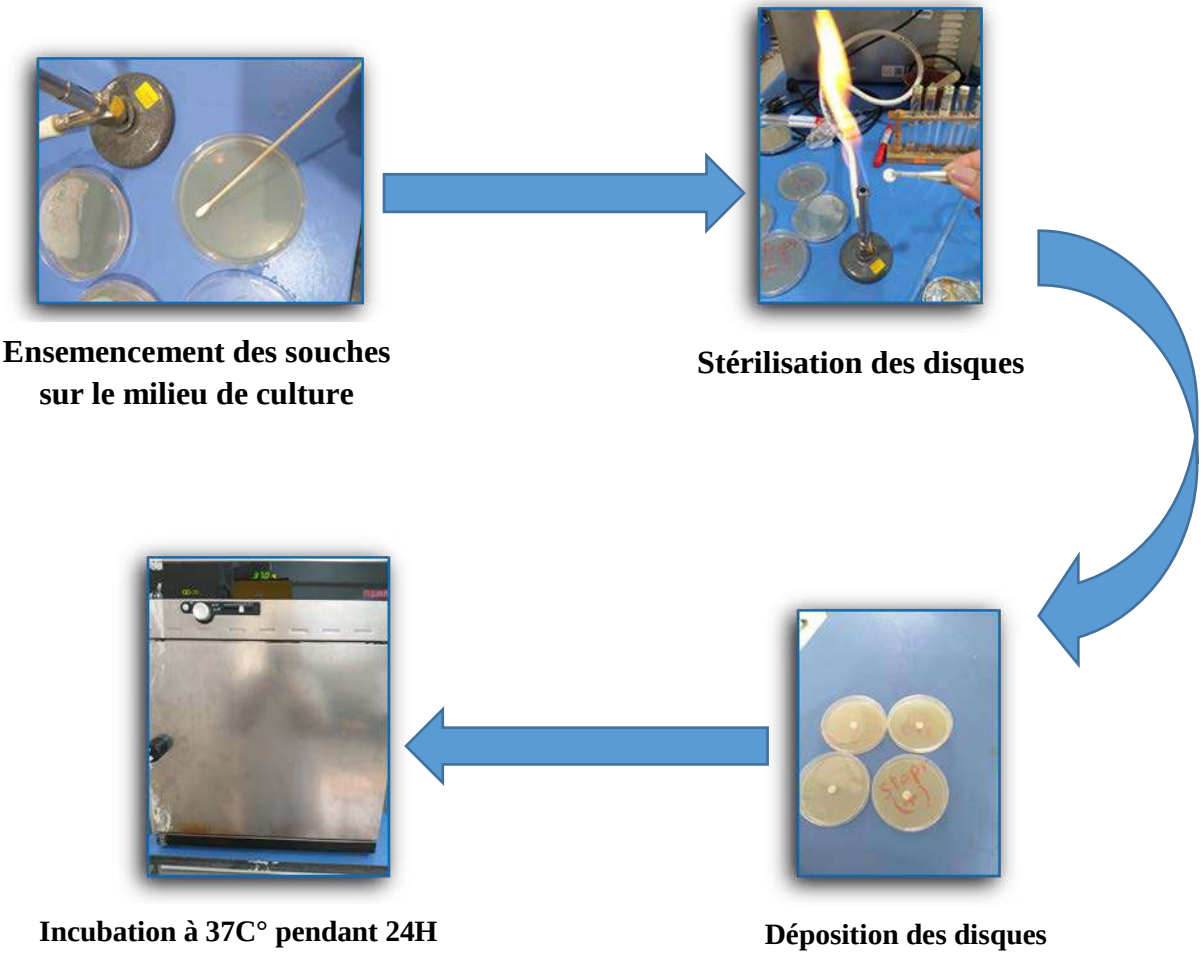


Figure III.7: schéma représente le mode opératoire de l'activité antimicrobien

III.6.5. Activité antioxydant par DPPH

Mode opératoire

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benhammou et al [45].

Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 0.002% de DPPH dans l'éthanol, différentes concentrations de solutions échantillons sont ajoutées à 1ml de la solution de DPPH, après incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurés à 517 nm contre le blanc correspondant. Le paramètre IC50 (concentration inhibitrice à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Le pouvoir antioxydant est déterminé de façon à ce qu'une quantité de l'extrait d'une concentration bien déterminée

neutralise 50% du radical. Les résultats exprimés en IC50 qui sont calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque échantillon. Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante : [46]

% d'activité antioxydante = [Abs contrôle – Abs échantillon / Abs contrôle] x 100 (III.1)

CHAPITRE IV

RESULTAT ET DESCUSION

IV. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

IV.1. Caractérisation structurale du palmitate de glucose par spectroscopie IR

Le spectre FT-IR de palmitate de glucose est présenté sur **la figure IV.1.**

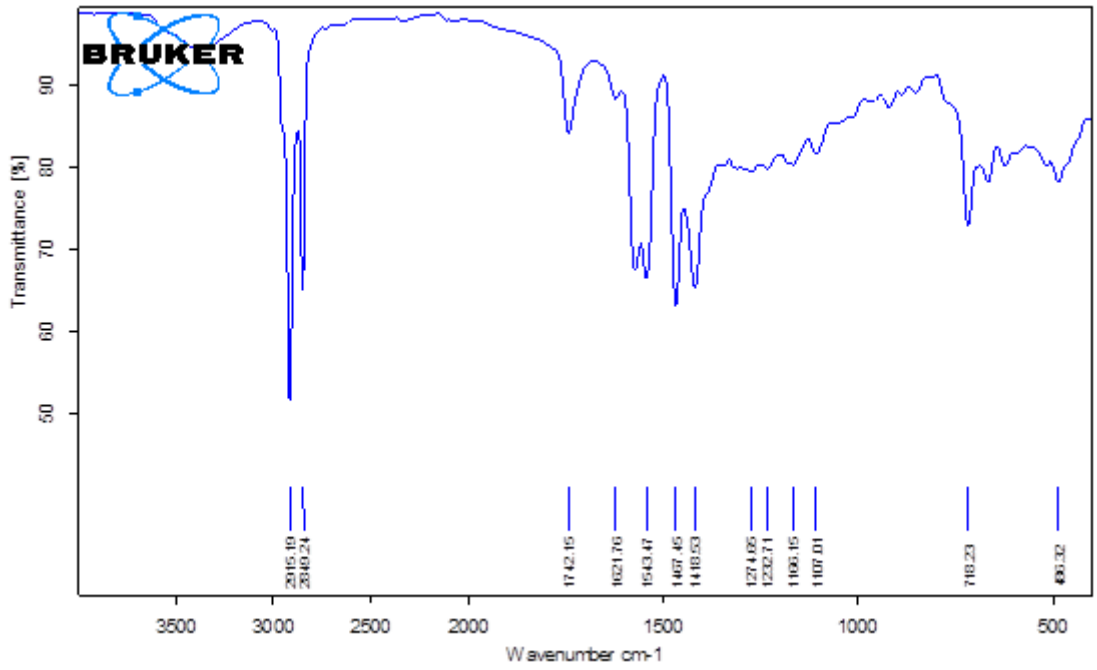


Figure IV.1: Spectre IR de palmitate de glucose

D'après le spectre d'infrarouge de palmitate de glucose, on constate : La bande entre 3000 cm^{-1} et 3500 cm^{-1} est due à la vibration d'étirement de l'hydroxyle, les bandes dans la région de 2915.19 cm^{-1} et 2849.24 cm^{-1} sont dues à des vibrations d'étirement C-H de groupes CH2. Alors que dans la région 1742.15 cm^{-1} suggère la présence de groupes carboxyle C = O de palmitate de glucose. L'absorption des groupes CH3 est détectée à 1467.45 cm^{-1}.

IV.2. Caractérisation physico-chimiques des émulsions stabilisées par le palmitate de glucose

IV.2.1. Examen macroscopique

La **figure IV.2** montre l'aspect des émulsions obtenues. Toutes les formulations préparées ont présentées un aspect laiteux avec une consistance variable selon la concentration en palmitate de glucose (tensioactif). Les formulations sont stockées à différentes température pendant 1mois.

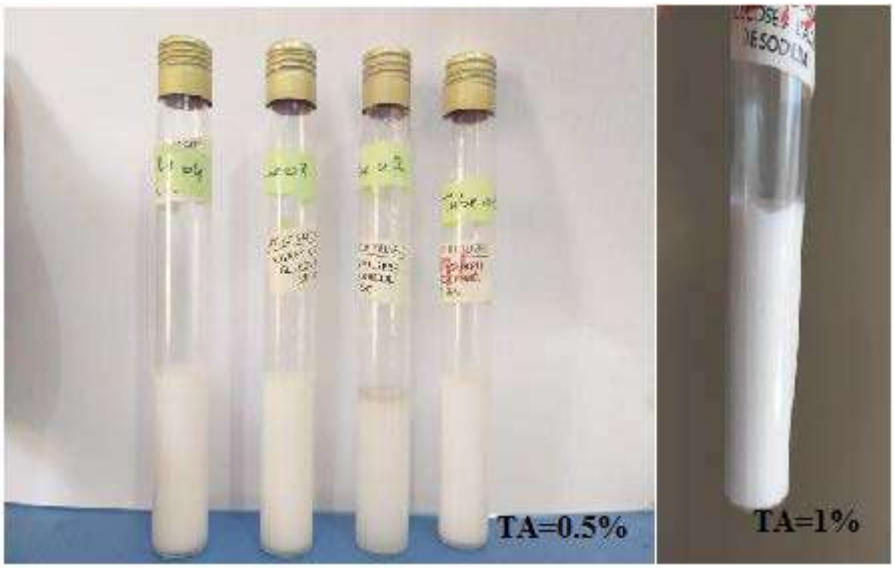


Figure IV.2 : État des émulsions préparées après quelques jours.

Les résultats obtenus montrent que la stabilité des émulsions est en fonction de la concentration de tensioactif et la température de stockage. Les formulations de 1% et 2% ont présentées une meilleure stabilité à 4°C et à température ambiante. Alors que, à température 40°C le phénomène d'instabilité est observé. Pour cale, les hauteurs des émulsions formulées sont mesurées en fonction de temps. D'après le **tableau IV.1**, on constate que la formulation de 0.5% en tensioactif a présenté une séparation de phase après une semaine. Tandis que, la concentration 2% en tensioactif donne une meilleure stabilité pendant 1 mois.

Tableau IV.1 : hauteurs d'émulsion mesurées (à 40°C)

	Hauteurs (cm)			
Concentrations (%	**1 jour**	**1 semaine**	**2 semaines**	**1 mois**
Tube 01 0,5%	4.3	3.8	3.5	3.4
Tube 02 1%	4.7	4.5	4.4	4.4
Tube 03 2%	4.4	4.4	4.4	4.4

IV.2.2. Examen microscopique

Les examens microscopiques des différentes émulsions préparées sont représentés dans la **figure IV.3 :**



0.5% **1%** **2%**

Figure IV.3 : Vues microscopiques des émulsions préparées.

L'examen microscopique de chaque formulation montre bien que les émulsions formulées sont de type H/E (dispersion des gouttelettes huileuse dans la phase aqueuse). Cette dispersion varie selon la concentration en tensioactif (palmitate de glucose). L'augmentation de la concentration de tensioactif provoque la bonne dispersion des gouttelettes d'huile, et par conséquent l'émulsion est plus stable.

IV.2.3. Sens de l'émulsion

Deux méthodes ont été utilisées pour connaitre le type des émulsions formulées : Par mesure de la conductivité électrique et par la méthode de dilution.

Les résultats de mesure de la conductivité électrique montrent que la conductivité de toutes les émulsions préparées est presque constante et de valeur de 361.5 µS. La conductivité d'une phase hydrophile (donc d'une émulsion H/E) est de l'ordre de 1mS alors que celle d'une phase lipophile est quasi nulle (<1µS). Donc les émulsions préparées sont de type H/E. la conductivité des émulsions formulée reste constante car notre tensioactif est de type sucroester non-ionique, l'augmentation de leur concentration n'a aucun effet sur la conductivité.

IV.2.4. Mesure du pH :

Les résultats de mesures du pH pour les différentes émulsions fraîchement préparées sont représentés dans le **tableau IV.2**.

Tableau IV.2 : Résultats des mesures du pH

	Tensioactif %	PH
E1	**0.5**	7.3
E2	**1**	7.7
E3	**2**	8.1

Il est clair que le pH des différentes formulations présente des valeurs neutres (pH =7.3-8.1). L'émulsion formulée est considérée comme une crème pour une application en cosmétique. Cette crème concentrée en huiles d'amande, nutritive et pénétrante s'applique sur l'ensemble du visage, sa texture légère et veloutée est idéale les peaux.

IV.2.5. Activité antioxydant d'émulsion

Les résultats du test DPPH de l'émulsion 2% et de vitamine E sont présentés dans le **tableau IV.2** et sur la **figure IV.3**.

Tableau IV.3 : Pourcentages d'inhibition (1%) de l'émulsion 2%

CONCENTRATION (10^3 mg/ml)	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**
Emulsion (2%)	52.85	53.92	54.91	57.67	59.37
Vitamine E (temoins)	52.23	52.94	54.19	55.71	63.83

L'analyse des résultats montres que l'émulsion formulée est présente une activité antioxydant presque égale à celle de témoins.

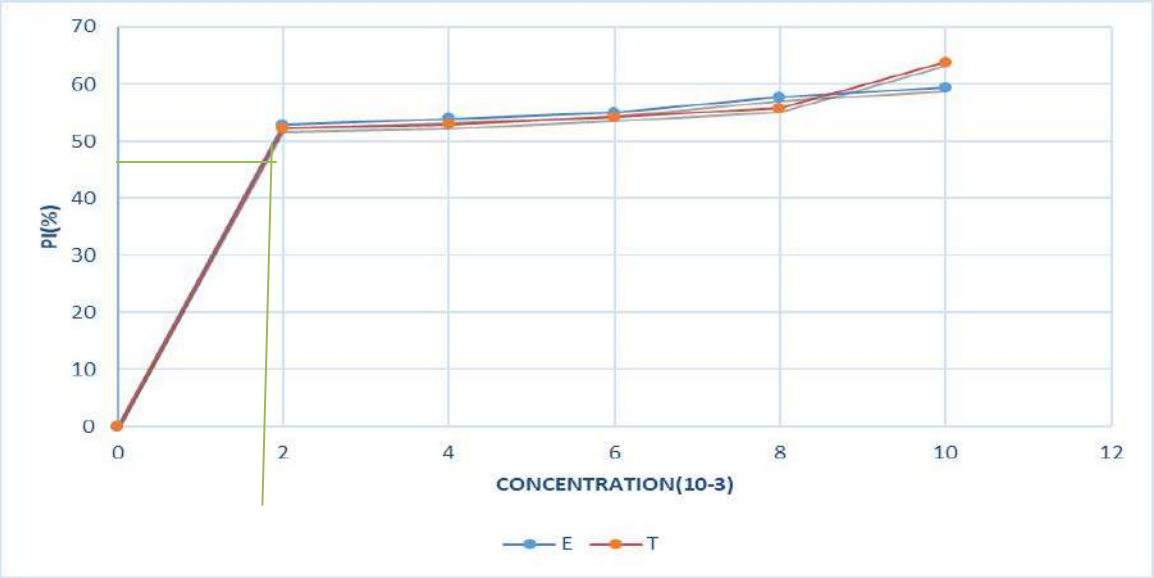


Figure IV.4 : Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration

IV.2.6. Aromatogramme d'émulsion

Les observations effectuées sur l'effet de l'émulsion sur la croissance des souches microbiennes : staphylococcus (+) et Escherichia coli(-)

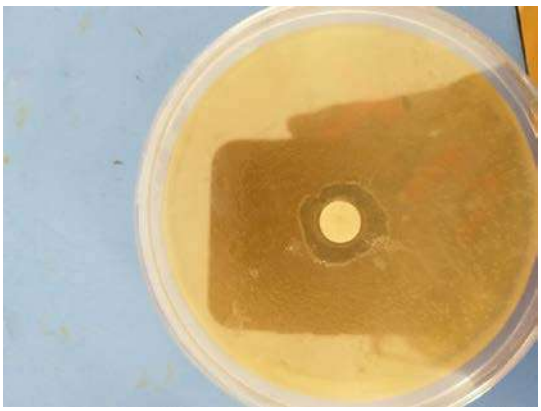


Figure IV.5 : halo d'inhibition d'émulsion sur Escherichia coli(-)

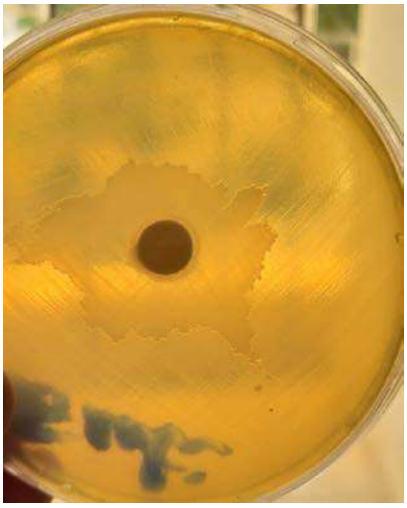


Figure IV.6 : halo d'inhibition d'émulsion sur staphylococcus (+)

Les résultats montre que l'émulsion préparé présente une activité antibactérienne contre *staphylococcus* (+) dont le diamètre est de l'ordre de 31mm. Tandis que, *Escherichia coli*(-) possède un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne des émulsions préparés.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Les émulsions sont largement produites et utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Suite à une demande de plus en plus importante de produits naturels par les consommateurs, les tensioactifs naturels représentent un nouvel enjeu pour les industriels. Cela se traduit majoritairement par le mélange de tensioactifs chimiques et naturels pour conserver la texture et la stabilité du produit.

L'objectif de ce travail est la formulation d'une émulsion stabilisée par un tensioactif de type sucroester « le palmitate de glucose », dans le souci d'une éventuelle application notamment en cosmétique.

Le palmitate de glucose a été synthétisé par voie enzymatique en utilisant une enzyme extraite à partir des graines de ricin. Pour faciliter la séparation et obtenir un tensioactif plus ou moins pur, l'enzyme préparée a été immobilisée sur l'alginate de sodium.

L'analyse microscopique et la mesure de la conductivité des émulsions préparées en utilisant l'huile d'amande douce comme phase huileuse ont montrés que, les formulations obtenues sont de type H/E. Le mélange (PG/GX) a permet d'amélioré la stabilité des émulsions (H/E) par leurs propriétés émulsifiantes/stabilisantes. Le palmitate de glucose par ses propriétés émulsifiantes peut donner de petites gouttelettes en formant un film interfaiale rigide au cours du processus d'émulsification ce qui permet de protéger les gouttelettes d'huile encapsulés à l'intérieur. L'augmentation de la concentration du tensioactif à 2% dans les formulations a permis de mieux stabiliser les émulsions formées à différente température de stockage.

Une perspective d'évolution de ce projet pourrait alors être l'application de notre émulsifiant « palmitate de glucose » à la formulation des émulsions multiples, des microémulsions et pourquoi pas des nano-émulsions.

D'un point de vue personnel, ce projet nous a permis de découvrir la vie en laboratoire. Tout en manipulant en contact avec des chercheurs, nous avons ainsi pu observer tous les aspects du travail dans un tel environnement. Dans le respect des règles de sécurité, il nous a été permis de partager des équipements et machines de laboratoire de pointe, peu utilisées au cours de notre cursus classique.

De plus, nous avons enrichi nos connaissances sur les émulsions et découvert le monde de la formulation et de la caractérisation en appréhendant les diverses problématiques de ce secteur qui nous intéresse tous.

CONCLUSION GENERALE

Enfin, ce projet, tournant dans notre cursus ingénieur, nous a permis de travailler en autonomie ainsi que d'évoluer au sein d'un groupe. La répartition des tâches, la communication et les compromis auxquels nous avons dû faire face ont été tout au long de l'année des points forts dans notre développement personnel.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

[1] Pharmacopée Européenne. 6e Edition, 2008

[2] O. Doumeix. Opérations unitaires en génie biologique. Tome 1 « émulsions ». Ed. Scéren

[3] Belhadj Amina, Belmiloud Zouheir « Les émulsions pharmaceutique », mémoire fin d'étude de licence professionnelle en pharmacie industrielle, juin 2014.

[4] E.A.PARUTA TURAZ : Émulsion inverse très concentrées, thèse de l'université de l'institut national polytechnique de loraine, 2010.

[5] Olivier Doumeix : Opération unitaires en génie biologique.1. Les émulsions

[6] Salager JL. Microémulsions. In : Broze G,ed. Handbook of Detergents-part A : Properties. New York : Marcel Dekker(1999) 235-302

[7] Salager JL. Microémulsions. In : Broze G,ed. Handbook of Detergents-part A : Properties. New York : Marcel Dekker(1999) 235-302

[8] F. Stauffer. Préparation d'émulsions doubles par un système microfluidique . Thèse de doctorat, Université de Lorraine, France, 2014

[9] PROTAT M, Formation d'émulsions multiples stimulables en une seule étape d'émulsification : Effet du sel et évolution vers des architectures biocompatibles, Thèse de Doctorat, l'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE, 2016.

[10] BELHADJ A., BELMILOUDE Z, Les Émulsions Pharmaceutiques, Mémoire de fin d'études de Licence, UNIVERSITÉ SAAD DALEB BLIDA, 2014

[11] DUPASQUIER M.L., NAZARI A., FONTAINE-VIVE F., FERNANDEZ X., GOLEBIOWSKI J., CDIEC, DE NICE SOPHIAANTIPOLIS, *Formulation cosmétique, Les émulsion*, 2017

[12] E.A.PARUTA TURAZ : Émulsion inverse très concentrées, thèse de l'université de l'institut national polytechnique de loraine, 2010.

[13] Olivier Doumeix : Opération unitaires en génie biologique. 1. Les émulsions

[14] Master 2 concept Fondamentaux de la physique : Chapitre 4 : Emulsions [archive]-Cours de Sylvie Hénon, 2010-2011[PDF]

15] Bourrel, M., Schechter RS., Microemulsion and Related Systems. Surfactant science Series, Vol.34. New Marcel Dekker(1988)

[16] DUPASQUIER M.-L., NAZARI A., FONTAINE-VIVE F.,FERNANDEZ X., GOLEBIOWSKI J., CDIEC, Université de Nice Sophia Antipolis, *Formulation cosmétique, Les émulsions.* Disponible sur http://ressources.unisciel.fr/formulation_cosmetique/co/1-3.html. [Consulté le 13 novembre 2017]

[17] RONDON VILLATE Céline, Étude des mécanismes de libération d'actifs nanodisperses : Application au traitement de puits, décembre 2010. Université de Bordeaux I Disponible sur : http://ori-oai.u-bordeaux1.fr/pdf/2010/RONDON_CELINE_2010.pdf [consulté le 13 novembre 2017]

[18] **R. Denine.** Cours de pharmacie Galénique. Ed. OPU

[19] **Nadine Pierat.** Préparations d'émulsions par inversion de phase induite par agitation. Thèse de doctorat, Université HENRI-POINCARE, Nancy I, France, 2010.

[20] **J. Allouche.** Développement de nouvelles méthodes pour l'élaboration d'émulsions multiples eau/huile/eau. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, France, 2003.

[21] Laurier L. Schramm. emulsions , foams , and suspensions. weinheim : s.n., 2005.

[22] Tadros, tharwat F. emulsion science a technology : A general introduction.

[23] Becher, P. Emulsions, theory and practice, 3r*d.* Oxford University Press: New York : s.n., 2001.

24] Pierat, Nadine. preparation d'émulsions par inversion de phase induite par agitation. nancy : s.n., 2010.

25] Structures chimiques et différentes classes de tensioactifs Tensioactifs, Chantal (LARPENT, 10 juin 1995.

[26]: Belhadj asmah, Procédés d'acylations catalytiques pour l'obtention de nouveaux tensioactifs, Mémoire de magister, Université d'Oran Es-senia, 2007

[27] Salvator Piccicuto, Christophe Blecker, Jean-Christophe Brohée, Aimée Mbampara, Georges Lognay, Claude Deroanne, Michel Paquot & Michel Marlier, Les esters de sucres : voies de synthèse et potentialités d'utilisation,Volume 5,(2001) Numéro 4.

[28] Les esters de sucres : Voies de synthèse et potentialités d'utilisation, January 2001Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 5(4), Project : Lipid Chemistry Physico-chemistry and biochemistry, S. Piccicuto, Christophe Blecker, University of Liège, C. Deroanne, Jean-Christophe Brohee, Catalent Cell & Gene Therapy.

[29] SEFHA Farida, SYNTHÈSE ENZYMATIQUE D'UN TENSIOACTIF NON IONIQUE DE TYPE SUCROESTEPAR LA LIPASE DE *Ricinus Communis* L, thèse de doctorat, Université Yahia Farès de Médéa, 2017-UYFM-LBMPT-0017.

[30] SOULTANI Samia, Synthèse enzymatique d'esters de fructose et d'acide gras : Cinétique, purification et caractérisation des propriétés tensioactives, thèse de doctorat, INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, 2001.

[31] JULIETTE F., QUENEAU Y., Jean-Paul Maitre and Alain Bouchu., Tetrahedron letters Co-melting of solid sucrose and multivalent cation soaps for solvent- free synthesis of sucrose Esters, 48 (23), 4111-4114, 2007.

[32] Patrick Fickers, Jacqueline Destain & Philippe Thonart ,Les lipases sont des hydrolases atypiques :
principales caractéristiques et applications ,volume 12 (2008)numéro 2.

[33] GHNAWA A., YASUHIRO K., KEN I., Synthesis of d-allose fatty acid esters via lipase-catalyzed regioselective transesterifiaction Biotechnol. Biochem, 69 (4), 833-835, 2005.

[34] RAZAFINDRALAMBO H. and al., Counterion- Induced changes to the micellization, Of surfactin C16 aqueous solution, Journal of Physical Chemistry, 113, 8872-8877, 2009.

[35] CAVALCANTI ELISA D. C., FABIO M., PIÈRRE V., REGINA C. A., OLGA L. T. et DENISE M. G., Acetone Powder From Dormant Seeds of Ricinus communis L, Applied Biochemistry and Biotechnology,136–140, 57-65, 2007

[36]: D Pirozzi, G Greco Jr – Enzyme and microbial technology, 2004 – Elsevier

[37] KERROUCHE Siham, BRIK Ibtissem Yousra, Étude des propriétés émulsifiantes des tensioactifs non-ioniques. Application pharmaceutique, mémoire de fin d'étude, universite Dr. YAHIA FARES MEDEA, 2019-2020.

[38]Books of Dante, Grain de ricin, 2017

[39] ERTESYAG H., Valla S., Biosynthesis and applications of alginates. Polym. Degrad. Stab., 59, 85–91, 1998.

[40] ALLOUE W.A.M, Formulation et immobilisation de la lipase de Yarrowia lipolytica.).Thèse de Doctorat, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux,Belgique., 165p, 22fig, 2008.

[41] Pharmacopée Européenne. 6e Edition, 2008

[42] Wazé Aimée Mireille Alloue, Jacqueline Destain, Hakim Ghalfi, Philippe Thonart, Mario Aguedo, Jean-Paul Wathelet & Christophe Blecker, Les lipases immobilisées et leurs applications, volume 12 (2008).

[43] Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2001 5(4), 209–219

[44] SOULTANI S., Synthèse enzymatique d'esters de fructose et d'acide gras: Cinétique, purification et caractérisation des propriétés tensioactives, Thèse de doctorat, INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE, **2001.**

[45] Boubekri,C.,.Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanummelongena par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat, Université de Biskra, Alger 2014

[46] Benhammou, N., AtikBekkara, F.,;Kadifkova, P.,. Antiradical capacity of the phenolic compounds of Pistacialentiscus L. and PistaciaatlanticaDesf .Advances in Food Sciences.pp 29(3) .155-161 .2007