

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université Saad Dahlab Blida 1

Faculté des Sciences

Département de Chimie



Mémoire de fin d'étude

Pour L'obtention du diplôme de Master en chimie

Option : Chimie appliquée

***THEME : Synthèse enzymatique des esters de sucre :
optimisation des conditions opératoires***

Réalisé par : *Amiri khadidja*

Soutenu le 03-07-2023 devant les jurys :

Mr. AIT YAHIA. A	MAA	USDB1	Président
Mme. BOUFROUA. N	MAB	USDB1	Examinatrice
Mr. BELAFRIEKH. A	MCB	USDB1	Promoteur

Promotion 2022-2023

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu le tout Puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

J'exprime mon gratitude et mes remerciements au **Dr. BELAFRIEKH Abderahmane** mon promoteur qui n'a jamais cessé de me prodiguer ses conseils et encouragements et aussi pour l'attention, la patience, la gentillesse et ses remarques pertinentes lors de la réalisation des essais et d'analyses au laboratoire, et surtout pour sa disponibilité, et la confiance dont il a fait tout au long de mon travail. Grand merci.

Je tiens à remercier également **Mr. AIT YAHIA. A** d'avoir honneur et présider ce jury.

Je tiens à remercier aussi **Mme. BOUFROUA. N** d'avoir accepté d'être examinatrice de ce travail.

Un tout grand merci à tous les professeurs de notre département de chimie. En particulier **Mme HAMZA. K, Mr HAMMANI. S** et **Mr BAL. Y** pour leurs conseils et pour tout le soutien scientifique.

Merci aussi à tous les ingénieurs des laboratoires de pavions 5 de l'Université Saad DAHLEB de Blida 1.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à ma famille et à mes amis, qui m'ont aidé et toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail

A toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

A mon très cher père et ma brave mère, que Dieu les protège, qui ont tellement sacrifié pour mon éducation et qui m'ont toujours encouragé pour aller devant et suivre mes ambitions.

A mes chers frères et leurs femmes et enfants, A mes chères sœurs et leurs maris et enfants qui m'ont toujours soutenu et conseillé dans tous mes choix, vous êtes les piliers sur lesquels je repose.

A mes chères amies qui m'ont donné une autre conception de l'amitié et de la fraternité.

Et à tous ceux que j'aurais oubliés bien involontairement.

Merci !

Khadidja

Résumé

Ce travail décrit le processus de la synthèse enzymatique de quelques esters de sucre par la CRL ou la LPP. L'objectif principal de cette étude est de trouver les conditions opératoires optimales pour ce genre de production enzymatique. Pour cela nous avons fait appel à la réaction d'estérification en présence des lipases. Sachant que sur le choix des paramètres opératoire tels que : le tamis moléculaire, le solvant, et la température...etc. est crucial pour l'activité enzymatique. Dans cette étude, l'influence de plusieurs paramètres affectant la synthèse enzymatique des esters de sucre dans la réaction d'estérification a été étudiée. Les résultats obtenus montrent, un solvant organique hydrophobe, un acide gras non ramifié et une température de 50°C donnent une meilleure conversion.

Mots clé : Tensioactif, Lipase, Enzyme, Ester de sucre, Conversion.

Abstract

This work describes the enzymatic process of synthesis of some sugar esters by CRL or LPP. The main objective of this study is to find the optimal operating conditions for this kind of enzyme production. For this, we used the esterification reaction in the presence of lipases. As, knowing that the choice of operating parameters such as: the molecular sieve, the solvent, and the temperature, etc. is crucial for enzyme activity. In this study, the influence of several parameters affecting the enzymatic synthesis of sugar esters in the esterification reaction was investigated. The results obtained show that a hydrophobic organic solvent, an unbranched fatty acid and a temperature of 50° C. give better conversion.

Keywords : Surfactant, Lipase, Enzyme, Sugar ester, Conversion.

ملخص

يصف هذا العمل عملية التخليق الأنزيمي لبعض استرات السكر بواسطة CRL أو LPP. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو إيجاد ظروف التشغيل المثلى لهذا النوع من إنتاج الإنزيم. لهذا استخدمنا تفاعل الأسترة في وجود الليباز. مع العلم أنه عند اختيار معاملات التشغيل مثل: المنخل الجزيئي، والمذيب، ودرجة الحرارة، إلخ. أمر حاسم لنشاط الإنزيم. في هذه الدراسة تم دراسة تأثير العديد من العوامل المؤثرة على التركيب الأنزيمي لإسترات السكر في تفاعل الأسترة. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن مذيب عضوي كاره للماء وحمض دهني غير متفرع ودرجة حرارة 50 درجة مئوية تعطي تحويلاً أفضل.

الكلمات الرئيسية: الفاعل بالسطح، الأنزيم، الليباز، إسترات السكر.

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Les Abréviations	
Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique.....	3
1 Les tensioactifs.....	4
1.1 Introduction	4
1.2 Définition des tensioactifs	4
1.3 Mode d'action des tensioactifs	5
1.4 Classification des tensioactifs.....	5
1.4.1 Classement selon la charge.....	5
1.4.2 Classement selon la balance HLB	8
1.5 Propriétés des tensioactifs	8
1.5.1 Propriétés fondamentales.	8
1.5.2 Propriétés pratiques et fonctions des tensioactifs.....	9
1.6 Tensioactifs synthétiques et naturels	10
1.6.1 Tensioactifs synthétiques.....	10
1.6.2 Tensioactifs naturels.	10
1.7 Domaines d'application des tensioactifs	11
1.7.1 Secteur de la détergence	11
1.7.2 Secteur de la cosmétique	11
1.7.3 Secteur industriel.....	11
1.8 Les bio-tensioactifs.....	11
1.8.1 Définition	11
1.8.2 Classification des bio-tensioactifs.....	12

1.8.3	Utilisation des bio-tensioactifs	12
2.	Les enzymes	13
2.1.	Introduction	13
2.2.	Définition	13
2.3.	Structure des enzymes	14
2.4.	Nomenclature et classifications des enzymes	15
2.5.	Caractéristiques des enzymes	16
2.6.	Les conditions opératoires influencent l'activité enzymatique	17
2.7.	Les lipases	17
2.7.1.	Origine des lipases	18
2.7.2.	Réactions catalysées par les lipases.....	19
2.7.3.	Domaines d'application des lipases	21
2.7.4.	Lipases dans la synthèse d'ester	21
3.	Les esters de sucre	23
3.1.	Introduction	23
3.2.	Définition	23
3.3.	Synthèse d'esters de sucres	23
3.4.	Influence du milieu réactionnel sur la synthèse enzymatique des esters de sucre	26
3.5.	Applications potentielles des esters de sucres	26
Chapitre 2 : Matériel et Méthode		28
Matériels.....		29
1	Les réactifs	29
1.1	Lipases	29
1.1.1	LPP	29
1.1.2	CRL	29
1.2	Les sucre	29
1.2.1	Le glucose	29

1.2.2	Le fructose.....	30
1.3	Les acides gras.....	31
1.3.1	L'acide laurique.....	31
1.3.2	L'acide linoléique.....	32
1.3.3	L'acide oléique.....	32
1.4	Les solvants.....	34
2	Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC).....	35
	Méthode.....	37
1	Réaction d'estérification.....	37
2	L'analyse par la chromatographie sur couche mince.....	38
3	L'analyse par chromatographie liquide haute performance.....	38
	Chapitre 3 : Résultats et discussion.....	39
1.	Introduction.....	40
2.	Effets de l'acide gras sur l'estérification de l'ester de sucre.....	40
3.	Effets de type de la lipase sur la conversion (C%).....	42
4.	Effets de solvant sur la conversion (C%).....	44
5.	Effets de température sur le rendement :.....	45
	Conclusion générale.....	46
	Références bibliographiques.....	47

Liste des figures

Figure 1. Structure simplifiée d'un tensioactif	4
Figure 2. Exemple de tensioactif anionique sulfoné : alkyl benzène sulfonate.	6
Figure 3. Exemple de tensioactif cationique : bromure de cetyltriméthyl ammonium CTAB.	6
Figure 4. Exemple de tensioactif amphotère carboxybétaine.	7
Figure 5. Exemple de tensioactif non ionique : poly glucosides d'alkyle (APG) et polyoxyéthylènes	7
Figure 6. Le mode d'action d'enzyme.	13
Figure 7. Les structures des enzymes.	15
Figure 8. Ensemble des différentes réactions catalysées par des lipases.	20
Figure 9. Domaines d'application des lipases.	21
Figure 10. Synthèse enzymatique d'ester du fructose et d'acide oléique.	24
Figure 11. Équation générale de la réaction d'estérification.	25
Figure 12. Structure chimique de glucose.	30
Figure13. Structure chimique de fructose.	30
Figure 14. Structure chimique d'acide laurique.	31
Figure 15. Structure chimique d'acide linoléique.	32
Figure 16. Structure chimique d'acide oléique.	33
Figure17. Montage de la chromatographie.	35
Figure 18. Appareil d'HPLC.	36
Figure 19. Estérification enzymatique de l'ester du sucre.	37
Figure 20. Réaction réalisée sous agitation magnétique.	37

Figure21. Analyse par CCM.	38
Figure22. Histogramme de comparaison de la conversion (C%) entre les acides gras le cas du glucose.	41
Figure23. Histogramme de comparaison de la conversion (C%) entre les acides gras le cas du fructose.	42
Figure 24. Histogramme de comparaison de la conversion (C%) entre LPP et CRL.	43
Figure 25. Histogramme de comparaison de la conversion(C%) entre LPP et CRL.	43
Figure 26. Histogramme de comparaison de la conversion entre les solvants utilisés avec la CRL.	44
Figure 27. Effet de température sur la Conversion (C%) enzymatique.	45

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification conventionnelle des tensioactifs.	5
Tableau 2. Rôle des tensioactifs en fonction de leur HLB	8
Tableau 3. Les différents types d'enzymes.	16
Tableau 4. Comparaison entre la synthèse chimique et la synthèse enzymatique	25
Tableau 5. Les propriétés physique et chimique de glucose.	30
Tableau 6. Les propriétés physique et chimique de fructose.	31
Tableau 7. Les propriétés physiques et chimiques d'acide laurique.	31
Tableau 8. Les propriétés physique et chimique d'acide linoléique.	32
Tableau 9. Les propriétés physique et chimique d'acétate d'éthyle	33
Tableau 10. Différents solvant utilisé	34
Tableau 11. Comparaison de la conversion (C%) entre les acides gras le cas du glucose.	40
Tableau 12. Comparaison de la conversion (C%) entre les acides gras le cas du fructose.	41
Tableau 13. Comparaison de la conversion (C%) entre LPP et CRL.	42
Tableau 14. Comparaison de la conversion (C%) entre les solvants en présence de la CRL.	44
Tableau 15. Comparaison de conversion (C%) enzymatique glucose avec l'acide laurique en présence de la CRL à différentes températures.	45

Les Abréviations

C % : Conversion

CCM : Chromatographie sur couche mince

CRL : Lipase de *Candida rugosa*

HLB : Hydrophile-Lipophile Balance

HPLC : chromatographie liquide haute performance

Log P : Le coefficient de partage

LPP : Lipase pancréatique de porc

T : Température

UV : Ultraviolet-visible

Introduction générale

Les molécules amphiphiles, appelées tensioactifs, possèdent à la fois un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe. Cette structure moléculaire leur permet d'être absorbés aux interfaces entre des substances telles que l'eau/ huile ou le gaz/liquide, provoquant une diminution de la tension superficielle ou interfaciale. Ces molécules polyvalentes sont utilisées dans une multitude d'industries, notamment la production alimentaire, les détergents, les produits pharmaceutiques et les cosmétiques [1].

Les esters de sucre sont un type de tensioactifs non ioniques qui peuvent être adaptés à une pose spécifique. Ces composés sont synthétiques et ne se trouvent pas couramment dans la nature sous leur forme actuelle [2]. Ce qui les rend attrayants, c'est leur capacité à émulsifier, mousser, nettoyer et solubiliser, de certains sucres pourraient également avoir des applications en immunothérapie et comme agents anticancéreux. De plus, ils sont non toxiques, biodégradables et non irritants pour la peau et les yeux. Les propriétés uniques des esters de sucre ont attiré l'attention des chercheurs et des professionnels de l'industrie [3].

Il existe plusieurs méthodes pour acquérir des esters de sucre et d'acides gras, soit par des procédés chimiques ou enzymatiques. Les méthodes chimiques sont en développement depuis la seconde moitié du siècle précédent. Cependant, il est toujours en proie à des problèmes de spécificité lors des réactions, entraînant souvent un mélange de produits avec des degrés d'estérification variables et des propriétés mal définies. De plus, les conditions de synthèse chimique sont assez extrêmes, notamment en termes de température de réaction, qui dépasse souvent 100 °C [1].

Depuis 1986, il est possible d'utiliser des enzymes telles que les lipases pour produire les esters de sucre. L'avantage est que ce type de réaction peut être conduit dans des conditions douces et des solvants moins nocifs que par la voie chimique et conduire généralement à des mono esters [4]. L'estérification des sucres avec des acides gras de longueur de chaîne variable confère hydrophobie et modifie leur fonctionnalité. Esters d'acides gras de sucres, avec leur large gamme d'équilibre hydrophile-lipophile réglable sont d'une grande importance en raison de l'acide gras longueur de la chaîne [5].

La synthèse enzymatique offre une faible énergie et une altération de la synthèse chimique bénigne pour l'environnement et a été largement signalée. Des conditions réactionnelles douces : une température inférieure à 100 ° C, une pression atmosphérique et un

pH presque neutre produisent des produits ultras purs, incolores et sans odeur. Ces conditions sont également fascinantes pour la synthèse de molécules fragiles. La voie enzymatique offre une le degré de chimio-, de régio-, d'énantio- et de diastéréo sélectivité [6].

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui concerne l'étude de l'influence des conditions opératoires sur la production des esters à base de sucres. Ces derniers qui sont considéré comme précurseurs de tensioactifs. Pour ce faire, nous avons choisi la réaction d'estérification de trois acides gras (l'acide laurique, l'acide linoléique, et l'acide oléique) par le glucose ou le fructose en présence de la lipase de *Candida rugosa* (CRL) ou la lipase de pancréas du porc (LPP). Dans une première partie, nous consacrerons un premier chapitre à une synthèse bibliographique mettant en évidence la problématique de l'étude. La deuxième partie exposera les étapes de la partie expérimentale menée au cours de ce travail et dans la dernière nous présenterons les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Le plan de ce mémoire sera le suivant :

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Chapitre 1 :

Synthèse Bibliographique

1 Tensioactifs

1.1 Introduction

Le tensioactif le plus ancien est le savon. En 2500 av. J.-C., les Sumériens produisaient des pains à base de cendre d'os ou de bois ainsi que d'extraits de plantes odorantes. Le développement du savon dans sa forme actuelle aurait eu lieu dans la ville italienne de Savone. Savon a été utilisé comme onguent, cosmétique et médicament pendant des siècles. Le savon n'a été utilisé qu'au Moyen-Age pour laver les vêtements. Il ne sera disponible qu'au tournant du XXe siècle et restera un produit de luxe pendant longtemps [7]. En 1916, l'Allemagne a développé le premier détergent synthétique complet, nommé « Nekal a », qui était composé de naphthalène, de propan-2-ol et d'acide sulfurique. Le processus de fabrication des savons et des tensioactifs a beaucoup évolué entre temps. Les tensioactifs synthétiques se sont développés très rapidement grâce aux progrès de la chimie et aux processus de fabrication industriels [8]. Les tensioactifs peuvent être facilement synthétisés et ont des caractéristiques antibactériennes, ce qui explique leur utilisation comme antiseptiques, germicides et fongicides dans de nombreuses préparations pharmaceutiques et cosmétiques [9].

1.2 Définition des tensioactifs

Les composés tensioactifs, également appelés surfactants en anglais, sont des molécules amphiphiles à groupements hydrophiles et hydrophobes qui ont la capacité d'adsorber à l'interface entre différentes phases de polarités pour réduire la tension interfaciale [10]. Les molécules tensioactives ont deux composants de polarités distincts.

- Une partie apolaire, hydrophobe, lipophile, présentant une affinité pour les huiles (soluble dans l'huile).
- Une partie polaire, hydrophile, présentant une affinité pour l'eau (soluble dans l'eau) [9].

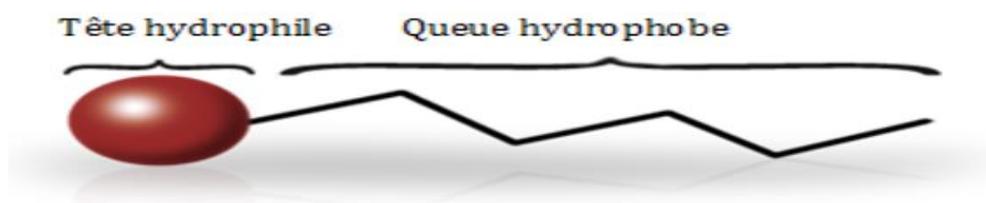


Figure 1. Structure simplifiée d'un tensioactif.

1.3 Mode d'action des tensioactifs

En milieu air-eau, les molécules tensio-actives s'organisent à la surface de telle sorte que la tête hydrophile est au contact de l'eau et que la chaîne hydrophobe est orientée vers l'air pour former un film mon moléculaire. Selon la loi de Gibbs, la tension superficielle du liquide diminue proportionnellement à la concentration en tensioactif à la suite de ce phénomène [11].

1.4 Classification des tensioactifs

1.4.1 Classement selon la charge

Les tensioactifs sont classés selon la nature de leur partie hydrophile en trois grandes familles : les tensioactifs ioniques (cationiques ou anioniques), les tensioactifs zwitterioniques (ou amphotères) et les tensioactifs neutres [11].

Tableau 1. Classification conventionnelle des tensioactifs.

Type de tensioactif	Charge de la partie lipophile	Schéma
Non ionique	Pas de charge	
Anionique	Négative	
Amphotère	Positive et négative	
Cationique	Positive	

a. Tensioactifs anioniques.

En raison de leur faible coût de fabrication et de leur compatibilité avec presque tous les types de détergents, ces tensioactifs sont les plus utilisés dans les applications industrielles [12]. En solution aqueuse, ils contiennent un groupement ionique chargé négativement, comme le carboxylate, le sulfate, le sulfonate ou le phosphate. Selon le type de tête hydrophile, les agents de surface anioniques peuvent avoir une formule générale [8]. L'HLB est élevée car ils ont une tendance plus hydrophile [13].

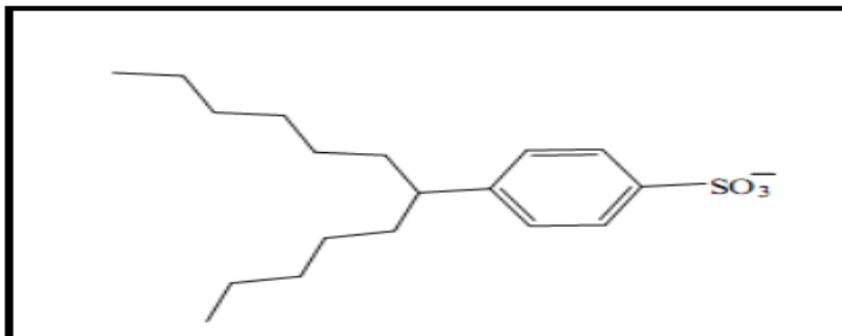


Figure 2. Exemple de tensioactif anionique sulfoné : alkyl benzène sulfonate.

b. Tensioactifs cationiques.

Ces composés ont un ou plusieurs groupes qui s'ionisent en solution aqueuse pour produire des ions tensioactifs chargés positivement. Les plus courants sont des dérivés d'amines quaternaires aliphatiques [14]. En raison de leur toxicité, ces tensioactifs ne sont utilisés que pour des applications spécifiques qui reposent sur leurs propriétés biocides ou leur capacité à s'adsorber facilement sur des substrats biologiques ou inertes [11].

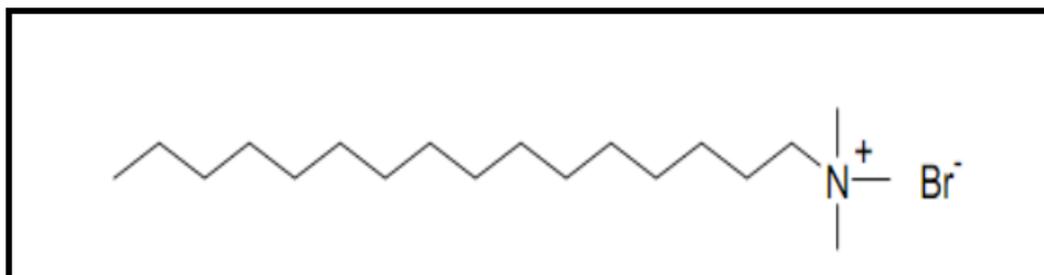


Figure 3. Exemple de tensioactif cationique : bromure de cétyltriméthyl ammonium CTAB.

c. Tensioactifs amphotères.

Un tensioactif appelé zwitterionique ou amphotère, comme les aminoacides, les bétaïnes ou les phospholipides, est créé par la combinaison des deux caractères anionique et cationique dans une même molécule. Dans la plupart des cas, le caractère dominant est déterminé par le pH, car il favorise l'une ou l'autre des dissociations possibles :

- Anionique à pH alcalin.
- Cationique à pH acide [12].

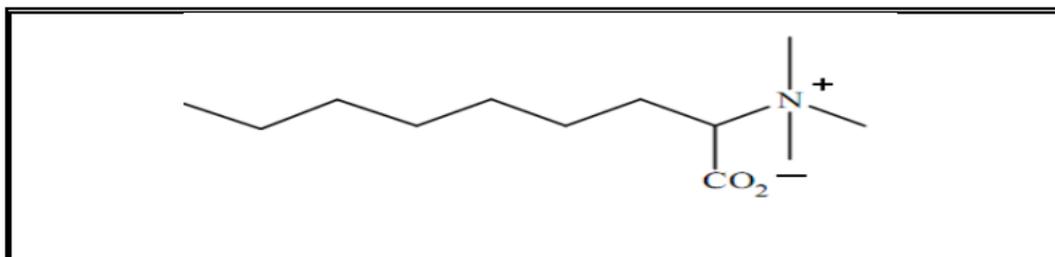


Figure 4. Exemple de tensioactif amphotère carboxybétaine.

d. Tensioactifs non ioniques.

Les groupements hydrophiles non chargés sont présents dans les tensioactifs non-ioniques. Les groupements hydrophiles les plus courants sont les groupements hydroxyle (ROH), éther (R-OR) et ester (R-CO-O-R) [16]. Si un seul groupe hydroxyle ou éther est présent, la longueur de la chaîne de l'hydrocarbure R ne sera que de 6 à 8 atomes de carbones avant que le produit ne devienne insoluble et présente de mauvaises propriétés tensioactives [17]. Les autres types de tensioactifs non ioniques comprennent principalement :

- Des esters de polyols : esters de sorbérane, de glycérol, de poly glycérol, de sucre...
- Des éthers de polyols : éthers de glucose
- Des Alcane aminés

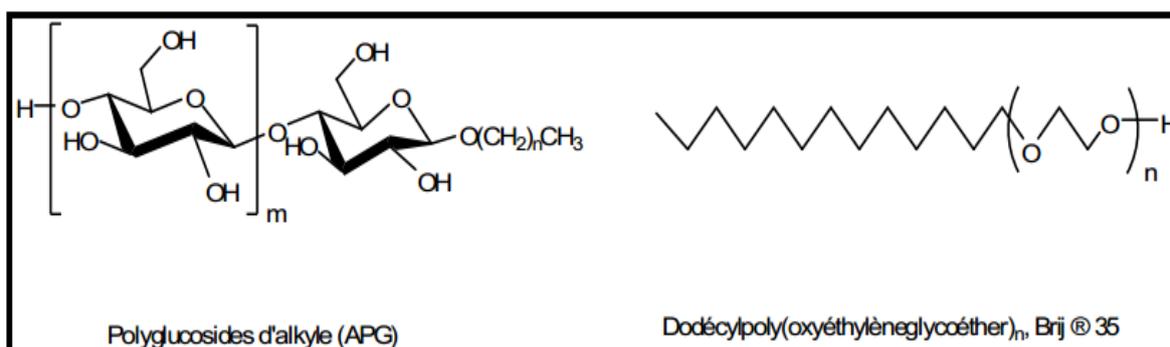


Figure 5. Exemple de tensioactif non ionique : poly glucosides d'alkyle (APG) et polyoxyéthylènes.

1.4.2 Classement selon la balance HLB

Les tensioactifs peuvent également être classés selon leurs propriétés physico-chimiques. Ces propriétés sont représentées par un nombre sans dimension : HLB (Hydrophile-Lipophile Balance). HLB représente le pourcentage de pôles hydrophiles par rapport à la masse de tensioactif. La première échelle développée par Griffin (Griffin, 1949) permettait de classer les tensioactifs sur une échelle comprise entre 0 et 20. Une autre échelle basée sur différentes contributions des pôles a ensuite été développée par Davies (Davies, 1957). Cette échelle s'étend aux tensioactifs ioniques et permet d'obtenir des valeurs HLB jusqu'à 50. La classification des tensioactifs selon HLB peut indiquer leur rôle [11].

Tableau 2. Rôle des tensioactifs en fonction de leur HLB

HLB	Rôle
3 – 6	Emulsifiant W/O
7-9	Mouillant
8-18	Emulsifiant O/W
13-15	Détergeant
15-18	Solubilisant

1.5 Propriétés des tensioactifs

1.5.1 Propriétés fondamentales.

Les propriétés essentielles des tensioactifs qui permettent de comprendre les différents phénomènes qui les régissent et qui déterminent leurs domaines d'application sont :

- **Adsorption aux interfaces** : Adsorption interfaciale Les molécules de tensioactifs ont tendance à s'orienter et à se concentrer à l'interface pour augmenter l'interaction attractive, conduisant à une diminution de la tension interfaciale entre les deux phases considérées. Cette diminution dépend de la concentration en tensioactif à l'interface et donc de la surface occupée par le tensioactif à l'interface. Lorsque l'interface est saturée, la tension interfaciale est minimale et constante ; l'adsorption des tensioactifs à

l'interface et la diminution consécutive de la tension interfaciale sont responsables de la dispersion et du mouillage [18].

- **Micellisation** : Une fois que l'interface "eau-air" est saturée de molécules de tensioactif, ces molécules de tensioactif restantes s'auto-associent en solution via des fractions hydrophiles ou hydrophobes, formant des agrégats appelés micelles. La présence de micelles entraîne une nette augmentation de la solubilité et de la solubilisation, et le type d'agrégats formés (micelles sphériques, cylindriques, bicouches) dépend de la nature du tensioactif et de sa concentration, mais aussi du rapport de taille. Partie hydrophobe et partie hydrophile.
- **Solubilité** : La solubilité des tensioactifs dans l'eau ou les hydrocarbures dépend de l'importance relative de leurs composants hydrophobes et hydrophiles. La formation de micelles permet de favoriser la dissolution des amphiphiles dans l'eau en réduisant l'espace de contact entre les chaînes hydrocarbonées et l'eau, ce qui induit des solubilités parfois extrêmement élevées. La compréhension de cela permet également de déterminer les conditions optimales de leur utilisation et de choisir les produits les plus appropriés pour des applications particulières [19].

1.5.2 Propriétés pratiques et fonctions des tensioactifs

En pratique, on trouve les tensioactifs dans les nettoyeurs ménagers, les lessives et les cosmétiques. En pharmacie galénique, ils sont employés comme émulsionnants, agents de suspension, solubilisant, mouillants, moussants ou détergents :

- **L'émulsification** : La présence d'un ou plusieurs composés tensioactifs est nécessaire pour la préparation et la stabilisation d'émulsions. Ces composés peuvent agir de deux manières : d'une part, ils réduisent la tension interfaciale entre les liquides non miscibles, et d'autre part, ils forment une pellicule interfaciale entre le liquide dispersé et le milieu continu, agissant comme une barrière protectrice qui retarde ou empêche la séparation des liquides.
- **L'humidification** : La capacité d'un liquide à s'étendre sur un substrat spécifique et sa capacité à pénétrer dans les pores sont les caractéristiques de l'action humidifiante. Dans les formes galéniques solides, cela est crucial car l'adsorption du tensioactif sur la surface des particules hydrophobes facilitera leur mobilité et augmentera la vitesse de désagrégation, libérant ainsi les principes actifs.
- **La dispersion** : Cette propriété est généralement utilisée pour préparer des suspensions. On pense que ce processus se déroule en plusieurs étapes : mouillage du solide par le

liquide grâce à l'action humectante, fragmentation des agrégats de particules solides et inhibition de leur agglomération par la formation d'une barrière énergétique.

- **La fonction moussante :** La réduction de la tension superficielle et la formation d'une pellicule de surfactifs adsorbés à la surface des bulles de gaz dispersé sont étroitement liées à la formation de mousse. Le nettoyage des savons et des shampoings est généralement associé à cette activité.

1.6 Tensioactifs synthétiques et naturels

1.6.1 Tensioactifs synthétiques.

Ils sont fabriqués à partir de produits de base tels que les paraffines, les benzènes, l'éthylène et le propylène. La chaîne carbonée lipophile peut être produite à partir d'éthylène à l'aide de méthodes bien spécifiques, ou elle peut être directement produite à partir d'oléfines linéaires extraites des paraffines à l'aide d'un autre processus. La plupart des alcools gras à chaîne moyenne sont produits de cette manière. Un groupement hydrophile, sulfate, sulfonate ou éthoxylat est ensuite greffé pour former le tensioactif. Les alkylbenzènes sulfonates sont les tensioactifs les plus fréquemment utilisés, représentant environ 50 % de la production totale. Les tensioactifs issus d'alcools gras représentent également une part importante (environ 40 %). Il est important de souligner que les alcools gras sont également un intermédiaire chimique fabriqué à partir d'huiles végétales.

1.6.2 Tensioactifs naturels.

Les molécules provenant directement de sources naturelles sont appelées « tensioactifs naturels » au sens strict. Ils peuvent provenir d'animaux, de végétaux ou de bactéries et sont obtenus par un processus d'extraction, de précipitation ou de distillation qui ne provoque pas de pollution. Ainsi, la synthèse organique n'est pas nécessaire pour leur obtention. En fait, peu de tensioactifs satisfont à ces exigences. De plus, de nombreux écrivains mentionnent l'utilisation de "composants naturels" lors de leur processus de synthèse qui implique principalement l'eau, Pour remplacer les solvants organiques courants ou pour les synthétiser à partir de matériaux naturels. Dans certains cas, ces tensioactifs constitués de molécules issues du vivant peuvent avoir une meilleure dégradabilité, ce qui permet de répondre aux exigences actuelles. Les principaux tensioactifs naturels commercialisés sont soit dérivés d'acides aminés, soit de polyols tels que les alkyl-polyglucosides (APG), les sucro-esters et les alkyl-glu amides. Contrairement aux tensioactifs dérivés d'acides aminés, les tensioactifs dérivés de polyol ne sont pas ioniques [13].

1.7 Domaines d'application des tensioactifs

Les tensioactifs jouent un rôle important dans des domaines, aussi divers que l'alimentaire, la métallurgie, la pharmacie, la médecine, les cosmétiques, l'industrie minière et bien d'autres encore utilisent les propriétés caractéristiques fournies par les tensioactifs [14].

1.7.1 Secteur de la détergence

Tous les détergents contiennent des tensioactifs, qui représentent généralement 20 % de leur composition. Il est important de différencier la détergence industrielle de la détergence ménagère, qui concerne principalement l'industrie agroalimentaire. En revanche, la détergence ménagère comprend plusieurs types de produits tels que les lessives, les adoucissants, les produits vaisselles et les produits d'entretien. Il convient de noter que, avec plus de 50 % du marché, le secteur des lessives est le plus gros consommateur de tensioactifs.

1.7.2 Secteur de la cosmétique

La cosmétique blanche (crèmes, laits, maquillages et autres produits de beauté) et la cosmétique rincée (produits d'hygiène lavant tels que les shampoings, gels douches et dentifrices) sont deux grands domaines. La cosmétique blanche se concentre sur le pouvoir adoucissant et émulsionnant, tandis que la cosmétique rincée utilise les tensioactifs pour leur propriété détergente.

1.7.3 Secteur industriel

Outre la détergence et la cosmétique, les tensioactifs peuvent être utilisés dans de nombreux domaines, tels que les additifs alimentaires, les céramiques, les matières plastiques, les peintures, le cuir, le papier, le pétrole, les phytosanitaires et les engrais, ainsi que la métallurgie et le textile [8]

1.8 Les bio-tensioactifs

1.8.1 Définition

Les bio-tensioactifs sont des molécules amphiphiles qui se composent d'une partie hydrophile polaire et d'une partie hydrophobe non polaire. En règle générale, le groupement hydrophile est composé d'acides aminés, de peptides ou de polysaccharides mono ou disaccharides, tandis que le groupement hydrophobe est composé d'acides gras saturés ou non saturés [8].

1.8.2 Classification des bio-tensioactifs

Les bio-tensioactifs sont classés suivant la nature biochimique du tensioactif produit par le micro-organisme. On distingue cinq grandes classes de bio-tensioactifs : les glycolipides, les lipopeptides, les phospholipides, les lipopolysaccharides et les lipides neutres[15].

- Les glycolipides sont composés d'hydrates de carbone et d'une longue chaîne d'acides aliphatiques ou hydroxy aliphatiques. Les rhamnolipides, les tréhalolipides et les sophorolipides sont les glycolipides les plus étudiés.
- Les lipopeptides sont constitués d'un lipide qui est relié à une chaîne polypeptide. Les lipides sont les plus connus.
- Les phospholipides sont constitués de groupements alcool et phosphate et sont constitués de chaînes lipidiques, ce qui suggère que bien que les phospholipides soient présents dans tous les micro-organismes, il n'y a que peu de cas de production extracellulaire.
- Les lipopolysaccharides, également appelés polymériques, sont composés d'un ou plusieurs saccharides et d'acides gras. Ce sont les bio tensioactifs avec la plus grande masse molaire.
- Les acides gras et les lipides qui ne sont pas gras.

1.8.3 Utilisation des bio-tensioactifs

Les bio-tensioactifs sont connus pour être non toxiques, biodégradables et adaptés aux conditions extrêmes. Par conséquent, ils peuvent être utilisés dans de nombreuses industries. Cependant, les bio-tensioactifs semblent être principalement utilisés dans l'industrie pétrochimique [8].

2. Enzymes

2.1. Introduction

Sans enzyme, la vie moderne ne serait pas possible car les réactions essentielles au fonctionnement d'un être vivant sont trop lentes. Au cours des 25 dernières années, la demande de produits thérapeutiques, agroalimentaires et cosmétiques a augmenté considérablement, tout comme l'exigence de procédés de synthèse respectueux de l'environnement. Les enzymes industrielles peuvent être utilisées comme additifs [17]. En outre, lorsqu'elles sont utilisées en biocatalyse, les lipases sont intéressantes pour catalyser non seulement l'hydrolyse, mais aussi de nombreuses réactions de synthèse, telles que l'estérification, la transestérification, l'aminolyse, etc... en milieu organique ou sans solvant et de manière sélective et spécifique [18].

2.2. Définition

Toutes les cellules vivantes ont besoin d'enzymes comme biocatalyseurs (d'origine animale, végétale ou microbienne) [19]. Les enzymes sont des biocatalyseurs qui ont la capacité d'accélérer les réactions biochimiques dans une cellule pour qu'elles se déroulent à une vitesse qui est compatible avec le fonctionnement normal d'une cellule. Pour que la cellule puisse fonctionner, survivre et se reproduire, il est nécessaire que toutes les réactions se produisent de manière coordonnée et régulée, ainsi qu'à une vitesse suffisante. Les enzymes sont des catalyseurs protéiques qui agissent dans des quantités très faibles pour catalyser la transformation d'un substrat et produire un produit. Bien que la majorité des enzymes soient des protéines, certaines sont constituées d'ARN, appelées ribozymes [16].

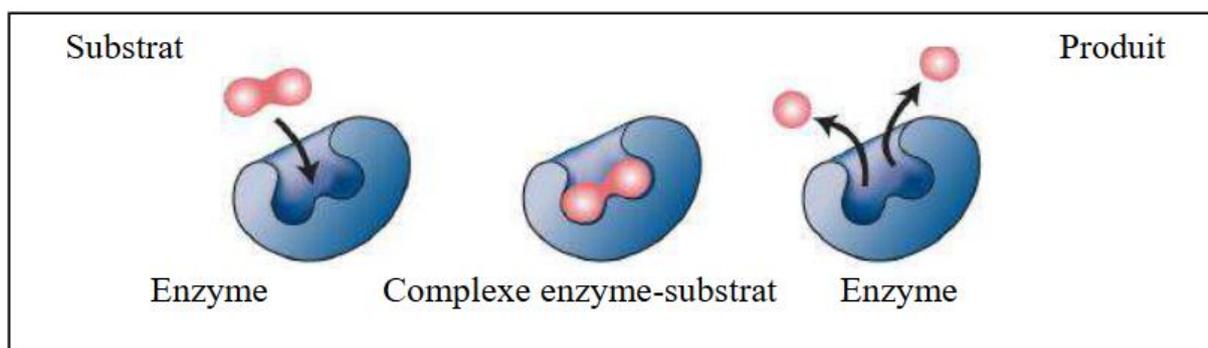
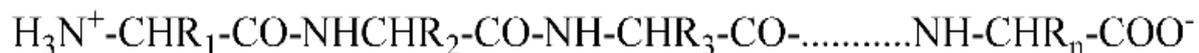


Figure 6. Mode d'action d'enzyme.

2.3. Structure des enzymes

Comme toute protéine l'enzyme est constituée d'enchaînement d'acides aminés, qui sont reliés les uns aux autres par des liaisons peptidiques qui se forment entre le groupement carboxylique du premier acide aminé et le groupement aminé suivant.



La structure principale de l'enzyme est déterminée par cette chaîne d'acides aminés. Le repliement de la chaîne polypeptidique en hélice ou en feuillet est la structure secondaire des protéines. Les relations entre les différentes structures, hélices et feuilles dans l'espace sont appelées structure tertiaire. Les ponts disulfures, les liaisons hydrogène, les liaisons ioniques et les interactions hydrophobes sont quelques-unes des nombreuses liaisons et interactions qui sont responsables de la formation de cette structure. Les protéines avec plus d'une chaîne polypeptidique présentent un niveau d'organisation supplémentaire, appelé structure quaternaire. La figure 7 montre les quatre structures [20].

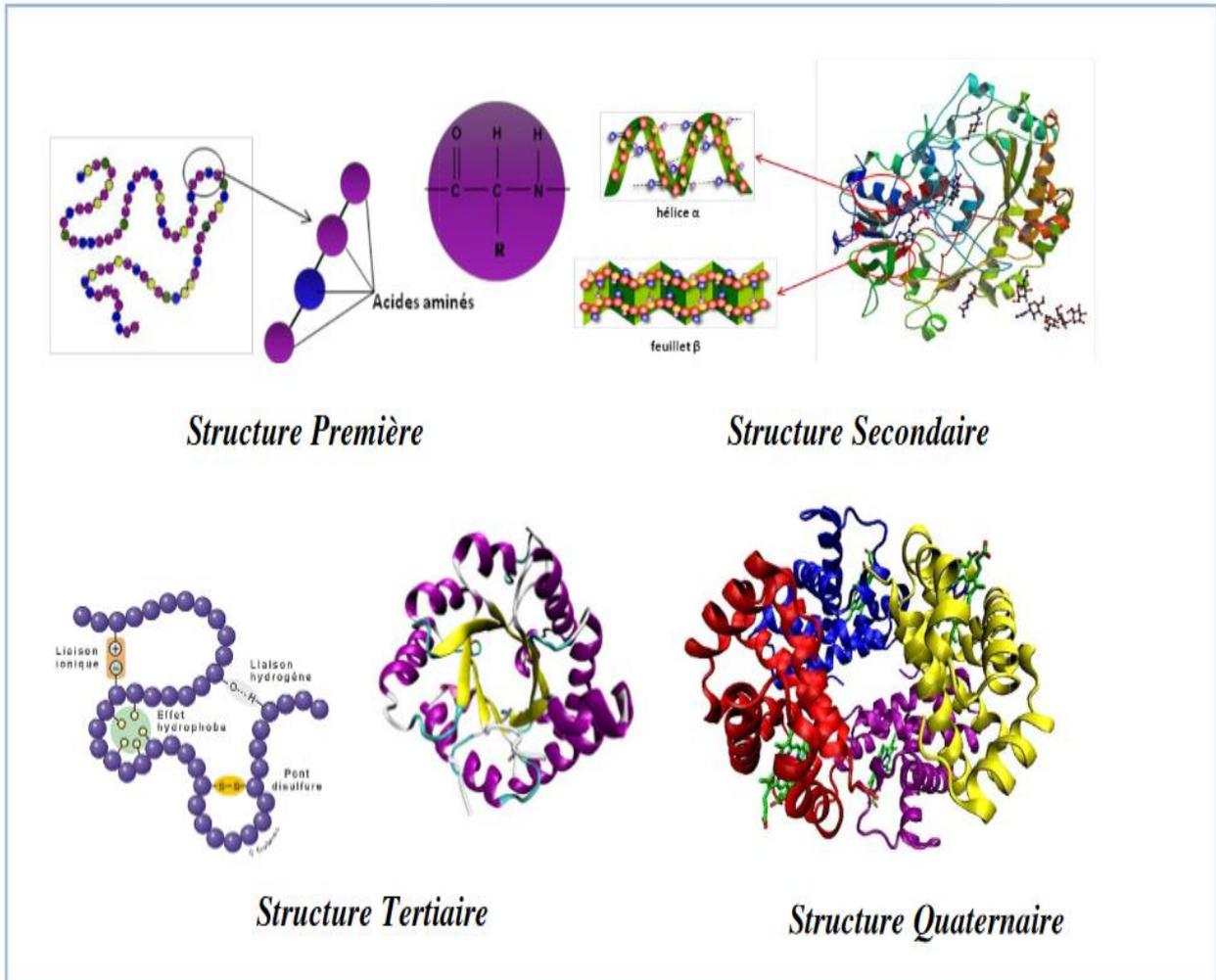


Figure 7. Les structures des enzymes.

2.4. Nomenclature et classifications des enzymes

Le nom de la plupart des enzymes se compose du nom de la substance initiale (substrat) et de la réaction chimique accélérée suivi du suffixe "ase". on peut classer les enzymes en six catégories suivant la réaction biochimique qu'elles réalisent [21] :

Tableau 3. Les différents types d'enzymes.

n° attribué la classe	Enzymes	Fonction	Exemple
Classe 1	Oxydo-Réductase	Transfert de protons ou d'électrons	Peroxydase
Classe 2	Transférase	Transfert d'atome ou de groupement d'atomes	Méthyltrasférase
Classe 3	Hydrolase	Coupure de molécules en présence d'eau	Lipase
Classe 4	Lyase	Rompent des liaisons mais en produisent de nouvelles	Adénylate cyclase : ATP → AMPc
Classe 5	Isomérase	réarrangent intramoléculaire	Glucose 6-phosphate isomérase G6P ↔ F6P
Classe 6	Ligase ou synthétase	Formation de nouvelles liaisons (avec consommation d'énergie: ATP)	ADN polymérase

2.5. Caractéristiques des enzymes

Les caractéristiques principales liées à l'utilisation d'un biocatalyseur enzymatique en milieu organique sont les suivantes :

- ✓ Une solubilité accrue des substrats apolaires (acides gras).
- ✓ Dans de nombreux cas, une thermo stabilité accrue de l'enzyme.
- ✓ Ajustement de la spécificité des substrats.
- ✓ Une récupération simplifiée du produit en évaporant simplement le solvant.
- ✓ Une récupération facile de l'enzyme à l'aide d'une simple centrifugation ou d'une filtration.
- ✓ La possibilité de mettre en œuvre des réactions dans des milieux pauvres en eau pour réduire les réactions d'hydrolyse au profit des réactions de synthèse (déplacement des équilibres thermodynamiques).
- ✓ La possibilité de mener des réactions de synthèse avec d'autres nucléophiles (par exemple, des réactions de transestérification).
- ✓ Une intégration efficace des enzymes à des étapes de chimie traditionnelle.

- ✓ Eliminer la contamination bactérienne[22] .

2.6. Conditions opératoires influencent l'activité enzymatique

Il est connu que la température, le pH et la concentration du substrat sont les principaux facteurs qui influencent l'activité enzymatique en milieu aqueux tout comme en milieu non aqueux.

- **Température** Chaque enzyme a son propre niveau de stabilité thermique. Deux paramètres représentent cette stabilité thermodynamique : l'énergie libre (G) d'une protéine, qui représente la somme des interactions au sein de sa structure, et sa température de fusion, qui est la température où 50% de l'intégrité de la structure de la protéine est compromise. Le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) d'une protéine à une température donnée est un autre paramètre fréquemment utilisé pour déterminer sa stabilité. La quantité d'énergie à fournir pour outrepasser les barrières énergétiques qui régissent le maintien de la structure tertiaire de la protéine 13 détermine la stabilité thermodynamique. Plus ces barrières augmentent La résistance de la structure de la protéine à la chaleur est améliorée.
- **Le pH** La conformation et la structure tridimensionnelle de l'enzyme sont modifiées par le pH et la température en synergie, ce qui modifie son activité autour de la température et du pH idéaux. Avec la présence d'un optimum, le pH et la température ont un effet non monotone sur l'activité enzymatique.
- **Les cofacteurs** sont des molécules non protéiques qui sont souvent présentes dans le site actif (comme les ions fer, zinc et cuivre) et nécessaires à l'activité enzymatique [30].

2.7. Lipases

Les lipases (triacylglycérol hydrolases, EC 3.1.1.3) ont alors été définies comme une famille spécifique d'estérases, actives sur un substrat insoluble, les triglycérides, et possédant la propriété cinétique d'activation interfaciale. Cette définition a été modifiée car toutes les lipases ne sont pas obligées de posséder cette caractéristique [31]. L'immobilisation facilite la récupération des enzymes et permet l'utilisation continue dans l'industrie. Quant aux lipases, l'immobilisation permet également leur application dans des milieux hydrophobes. En plus de la récupération simple, l'immobilisation est également une stratégie efficace pour l'amélioration des caractéristiques enzymatiques. On a signalé

que les caractéristiques enzymatiques des lipases, notamment la stabilité, l'activité, la sélectivité, la spécificité et la résistance aux inhibiteurs et aux réactifs chimiques, étaient améliorées efficacement après l'immobilisation avec une conception appropriée. Les lipases (hydrolases de triacylglycérol ; EC 3.1.1.3) sont des enzymes spéciales basées sur l'activation interfaciale. En milieu aqueux, les centres actifs des molécules de lipase tendent à être couverts par une chaîne de polypeptide (appelée couvercle), et les centres actifs sont isolés du milieu de réaction. Les lipases sont fermées et inactives dans ce cas. Alors qu'en présence d'une surface hydrophobe, les lipases deviennent adsorbées à la surface et les centres actifs sont entièrement exposés, ils peuvent donc hydrolyser des gouttes d'huiles.

2.7.1. Origine des lipases

Les lipases sont fréquentes dans la nature et jouent un rôle important dans le métabolisme des graisses. Ils existent principalement sous forme de protéines extracellulaires chez les microorganismes, les végétaux, les invertébrés et les vertébrés.

a. Lipases de mammifères

De par leur faible densité, les lipides sont une source énergétique essentielle et avantageuse pour les mammifères. Les lipases contrôlent la digestion, l'absorption et la reconstitution des graisses chez l'homme et d'autres vertébrés. Les lipases jouent un rôle important dans la digestion chez les nouveau-nés dont l'alimentation est riche en lipides. Les lipases liées à la digestion et à l'absorption des graisses sont les lipases de mammifères les plus étudiées. La lipase gastrique, la lipase pancréatique, la lipase lipoprotéique et la lipase hépatique sont tous inclus.

b. Lipases microbiennes

Les lipases se trouvent dans de nombreuses bactéries, levures et champignons filamenteux. Elles sont produites à la fois par des bactéries à Gram positif et à Gram négatif : Gram +, comme *Bacillus* et *Staphylococcus*, et Gram –, comme *Pseudomonas*. De plus, ils sont courants chez les levures telles que *Candida* ou *Geotrichum* et les champignons filamenteux tels que *Rhizopus* ou *Thermomyces*. Malgré le fait que les premières lipases étudiées étaient d'origine animale, l'intérêt pour les lipases microbiennes a augmenté au cours des 25 dernières années, principalement en raison de leur large gamme d'applications dans un large éventail de domaines.

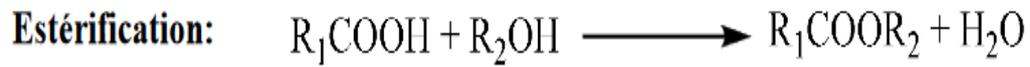
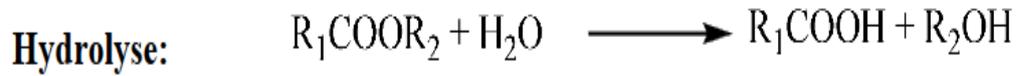
c. Lipases végétales

Bien que les lipases soient largement présentes dans toutes les plantes, elles sont principalement présentes dans les graines, où les triglycérides sont stockés dans des structures intracellulaires appelées oléo. Afin de fournir l'énergie nécessaire à la germination de la graine et au développement de la jeune plante, certains de ces triglycérides sont hydrolysés sous forme d'acides gras [33].

2.7.2. Réactions catalysées par les lipases

Les lipases ont la capacité de catalyser une variété de réactions, selon le mécanisme de catalyse décrit précédemment.

- Les lipases catalysent spécifiquement l'hydrolyse des liaisons esters en milieu aqueux.
- Les lipases catalysent la réaction inverse, c'est-à-dire la synthèse de liaisons esters, dans les milieux pauvres en eau. Dans des solvants organiques, trois types de réactions peuvent être utilisés pour synthétiser une liaison ester : estérification, transestérification et inter estérification [27].



Transestérification:

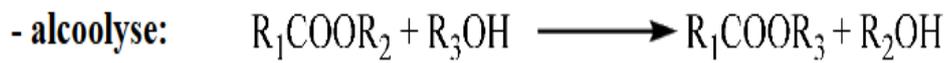


Figure 8. Ensemble des différentes réactions catalysées par des lipases.

2.7.3. Domaines d'application des lipases

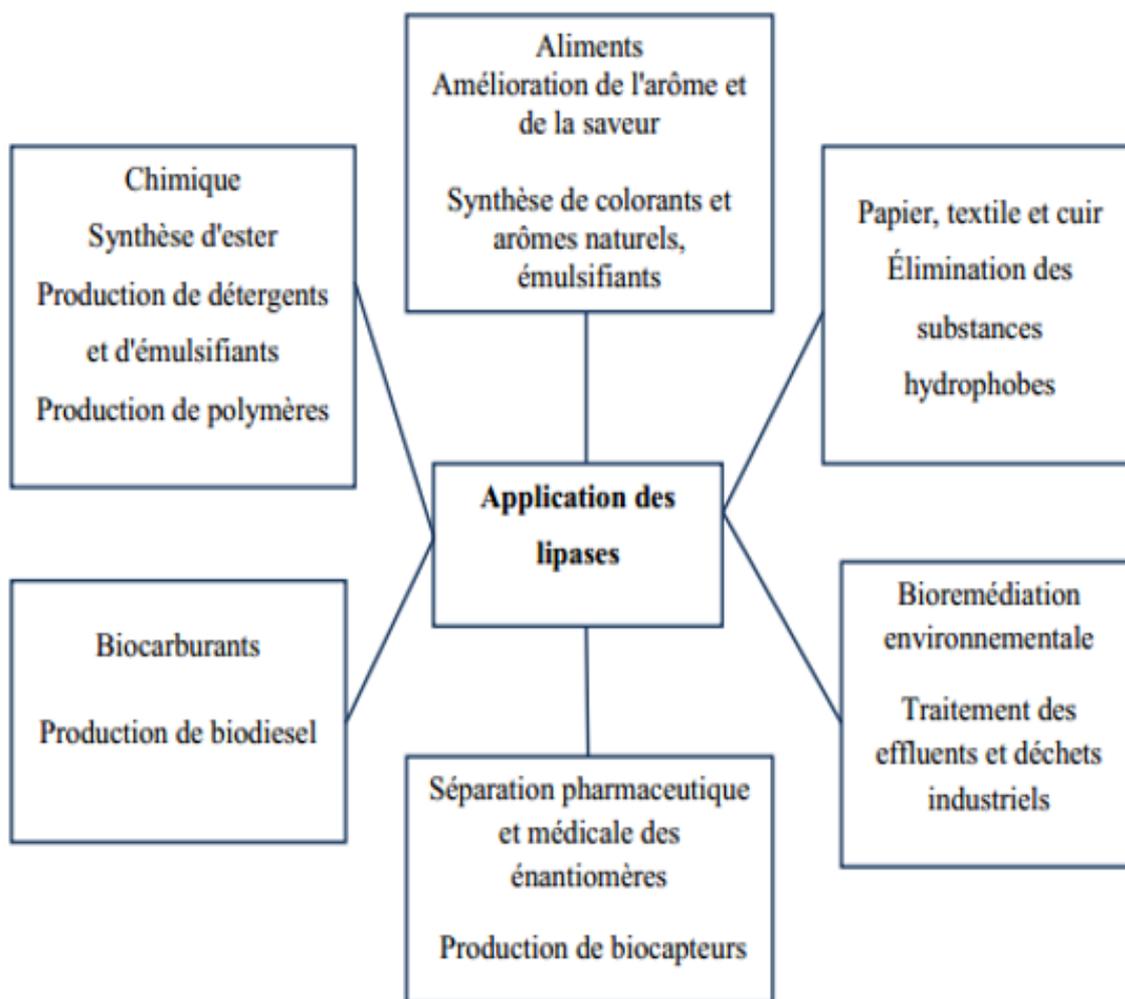


Figure 9. Domaines d'application des lipases.

2.7.4. Lipases dans la synthèse d'ester

Les lipases ont été utilisées avec succès en tant que catalyseur pour la synthèse d'esters. Les esters produits à partir d'acides gras à chaîne courte ont des applications que des agents aromatisants dans l'industrie des aliments. Esters méthyliques et éthyliques d'acides à longue chaîne ont été utilisés pour enrichir des carburants diesel. Du et *al* a étudié l'estérification de l'acide lactique acides et alcools à l'aide d'une lipase de *C. antarctica* dans l'hexane. Estérification de cinq isomères de position des acides gras acétyléniques (différentes longueurs de chaîne) avec du n-butanol a été étudié par Lie et *al*. A l'aide de huit différentes lipases. Arroyo et *al* a noté qu'une valeur optimale d'activité d'eau prééquilibré a été nécessaire pour obtenir un taux élevé d'estérification de (*R,S*)-ibuprofène. Un rapport sur l'estérification des acides gras

sulcatol et dans le toluène, catalysé par la lipase *C. rugosa*. en utilisant la lipase immobilisée sur silice et microémulsion à base de organogels, pour la synthèse d'esters[26].

a. La Lipase Pancréatique du Porcine

La principale enzyme responsable de la digestion des lipides alimentaires est la lipase pancréatique. La lipase gastrique libère principalement des diglycérides. Contrairement à la lipase gastrique, elle est sécrétée dans le duodénum et fonctionne à un pH légèrement alcalin [27]. Il existe deux types de lipase pancréatique porcine : A et B. La lipase A est active dans un milieu plus acide que la lipase B, mais à part cela, les deux enzymes sont pratiquement identiques [28]. La lipase pancréatique porcine (LPP) a trouvé une application supérieure en raison de sa stéréosélectivité, de sa grande stabilité et de son activité catalytique dans les milieux anhydres ; en effet, elle est considérée comme un bon substitut de l'enzyme pancréatique humaine. LPP joue un rôle de premier plan dans la digestion des lipides, qui fournit généralement la nutrition du corps humain. Il a été largement utilisé pour le traitement de remplacement du pancréaszyme chez les patients souffrant d'insuffisance exocrine pancréatique causée par la mucoviscidose, la pancréatite aiguë et chronique ou d'autres pathologies à l'aide d'un extrait brut conçu pour la « pancréatine » ou de grade purifié. La « pancréatine », selon la United State Pharmacopée, contient en plus de la lipase de nombreuses autres hydrolases (estérases, amylases et protéases), qui montrent l'importance pharmaceutique comme agents thérapeutiques dans la pancréatite aiguë et chronique[25].

b. Lipase *Candida rugosa*

La lipase de *Candida cylindracea* (anciennement *Candida rugosa*) a été purifiée à partir de poudre brute jusqu'à homogénéité. Les triacylglycérols sont hydrolysés par CRL sans spécificité de longueur de chaîne. Avec la trioléine ou la tributyrine comme substrat et un pH de 8, une activité spécifique d'environ 800U/mg a été mesurée. La CRL est une lipase authentique. Lorsque la tripropionine est utilisée comme substrat, cette enzyme produit le phénomène d'activation interfaciale [29].

3. Les esters de sucre

3.1. Introduction

Compte tenu de quasi innocuité des composés non ioniques et de la demande croissante en produits respectueux de l'environnement, les surfactants glucidiques constituent une voie émergente dans l'industrie des tensioactifs. Les sucres constituent sans aucun doute une matière première polaire de choix pour l'élaboration de bio-tensioactifs. Leur point commun est de posséder un nombre important de fonctions hydroxyles participant à la formation de réseaux de liaisons hydrogène en présence d'eau. Selon leur famille (hexose ou pentose) et/ou leurs poids moléculaires (mono-, di-, tri-, oligo- ou polysaccharides) [30].

3.2. Définition

Les esters d'acides gras et de sucres sont des tensioactifs non ioniques avec une chaîne grasse (apolaire) et un sucre (polaire). Ces composés ont des caractéristiques particulières (détergent, émulsifiant, dispersant, agent moussant et solubilisant) en raison de leur structure amphiphile. Ils peuvent être utilisés dans les secteurs agroalimentaire, cosmétique, détergente et pharmaceutique en conséquence. Les propriétés antibiotiques, antitumorales et insecticides ont récemment été soulignées, ce qui implique une production beaucoup plus importante [20].

3.3. Synthèse d'esters de sucres

Les structures simples et les esters de sucres amphiphiles ne sont pas présents dans la nature. Ils sont synthétisés par voie chimique ou enzymatique. Une estérification ou une transestérification entre un sucre et un acide gras ou un ester gras est la réaction envisagée.

a. Synthèse d'esters de sucres par voie enzymatique

En présence d'une enzyme, il est possible de créer des sucroesters en combinant un sucre et un acide gras (ou dérivé). Une teneur en eau dans le milieu réactionnel permet à l'activité enzymatique de survivre tout en orientant l'équilibre thermodynamique de la réaction vers la synthèse. Le recours aux biocatalyseurs en synthèse organique pour effectuer des réactions chimiques très sélectives a augmenté considérablement ces dernières années. Voici quelques-uns des principaux avantages de l'utilisation de cette méthode biocatalytique :

- ❖ Une mise en œuvre simple.

- ❖ Des conditions réactionnelles douces : des températures inférieures à 100°C, une pression atmosphérique et un pH presque neutre produisent des produits ultrapurs, incolores et sans odeur. Ces conditions sont également fascinantes pour la synthèse de molécules fragiles.
- ❖ Une grande spécificité catalytique : des sélectivités chimiques, régi-métriques et énantiomériques élevées. Il est rare que les réactions enzymatiques produisent des produits secondaires.
- ❖ Les réactions catalysées par des enzymes ont des vitesses multipliées par des facteurs allant de 10⁶ à 10¹² par rapport aux réactions correspondantes sans catalyseur.
- ❖ Protéger l'environnement.

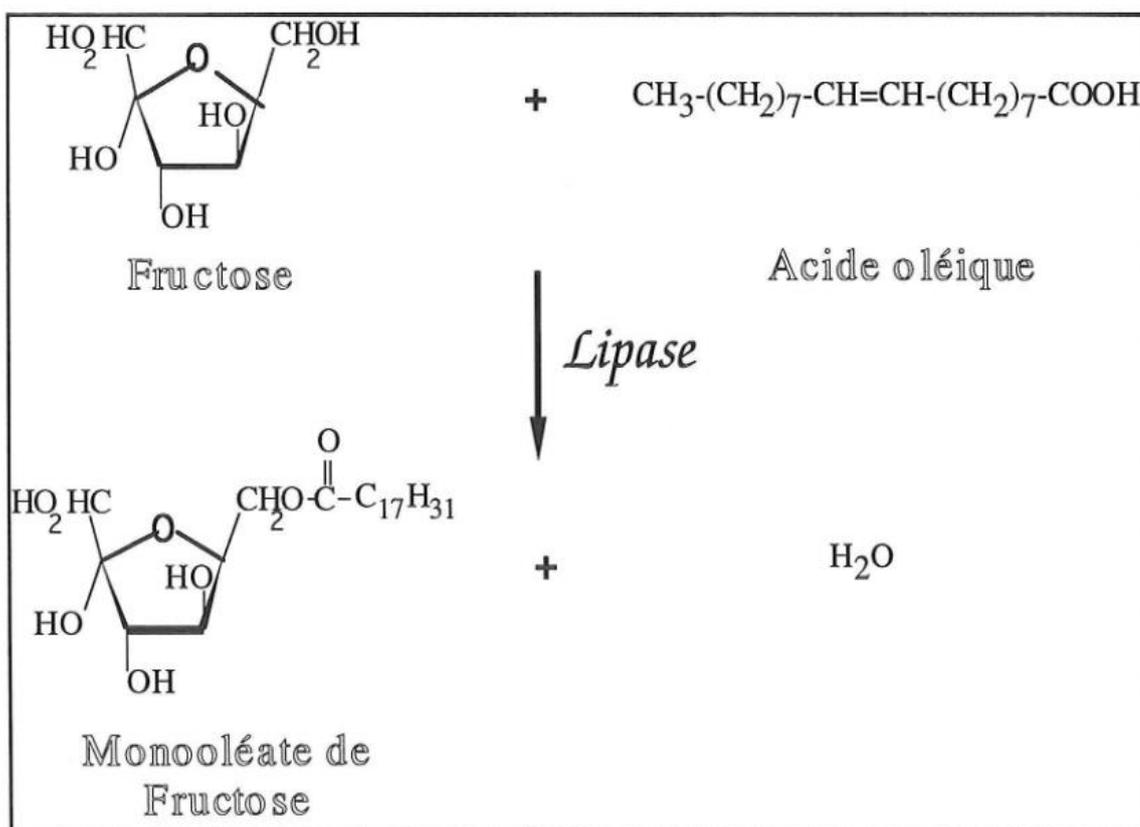


Figure 10. Synthèse enzymatique d'ester du fructose et d'acide oléique.

b. Synthèse chimique

La réaction envisagée est généralement une estérification à haute température en présence d'un catalyseur alcalin. La source de sucre et l'anhydride d'acide gras sont les substrats nécessaires.

Ce type de synthèse ne permet pas de réguler ni le site de la réaction ni le nombre de groupements hydroxyles estérifiés.

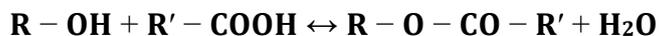


Figure 11. Équation générale de la réaction d'estérification.

De nombreux groupes de recherche ont récemment évoqué l'utilisation d'enzymes pour diriger les réactions de synthèse. De nombreux essais en laboratoire ont été menés pour synthétiser des esters de sucres par voie enzymatique, qui pourraient être une alternative à la production chimique traditionnelle. Il convient de souligner que malgré ses inconvénients, la méthode de synthèse chimique continue d'être considérée comme la seule option commerciale.

c. Comparaison entre la synthèse chimique et la synthèse enzymatique

Tableau 4. Comparaison entre la synthèse chimique et la synthèse enzymatique

Synthèse chimique	Synthèse enzymatique
Avantages	
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Économique. ✓ Rapide. ✓ Bons rendements. ✓ Réalisable avec de nombreuses molécules. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Sélectivité. ✓ Conditions de réaction douces. ✓ Label "naturel". ✓ Purification aisée. ✓ Conditions "solvent free" possibles. ✓ Composition du produit définie.
Inconvénients	
<ul style="list-style-type: none"> – Toxicité (solvant et catalyseur). – Faible sélectivité. – Température élevée (caramélisation, formation d'artéfacts, cyclisation, etc.). – Composition du produit non définie. 	<ul style="list-style-type: none"> – Coûteuse au niveau industriel. – Problèmes de solubilité des substrats. – Rendements fort variables. – Temps de réaction longs (> 24 h).

3.4. Influence du milieu réactionnel sur la synthèse enzymatique des esters de sucre

La synthèse enzymatique des esters de sucres doit être optimisée en tenant compte de nombreux facteurs qui peuvent affecter la réactivité du substrat et l'activité enzymatique. La nature de l'enzyme, la température, le solvant, la quantité d'eau, le rapport molaire entre les substrats et d'autres facteurs sont notamment inclus.

3.5. Applications potentielles des esters de sucres

a. Cosmétologie

Les sucroesters présentent un intérêt certain dans le domaine de la cosmétologie. En effet, ils sont non toxiques, n'irritent pas les yeux et la peau et cela même à des concentrations élevées (Desai, 1990 ;Seldner, 1978). De plus, ils ne modifient pas le pH de la peau. Enfin, ils présentent des aptitudes émoulliantes et hydratantes (Desai, 1990). Par ailleurs, les esters de saccharose préviennent les irritations causées par les autres tensioactifs généralement utilisés dans les préparations de type shampooing. Trois mécanismes d'actions ont été proposés pour expliquer ce phénomène (Goldemberg, 1977). Les sucroesters peuvent :

- ❖ Complexer l'agent irritant.
- ❖ Bloquer les sites actifs sur lesquels se fixent les agents irritants.
- ❖ Prévenir tout contact entre l'agent irritant et la peau. Les esters de saccharose et d'acide gras peuvent donc être employés dans la composition de shampooings, de savons, ainsi que dans des préparations cosmétiques telles que des laits hydratants.

b. Agroalimentaire

La variété de structures et de propriétés disponibles des esters de sucres est un avantage fonctionnel important. De plus, ces composés sont non ioniques et, par conséquent, peu sensibles au pH et à la force ionique de leur environnement. Les esters de sucres E473 et E474 ont été classés selon les normes EC et FDA. Les lois sur les aliments en Belgique décrivent les sucres comme suit :

- ❖ Les sucroesters d'acides gras E473 sont des monoesters et diesters de saccharose et d'acides gras. Ils peuvent être préparés par transestérification ou par extraction à partir de sucroglycérides (A.R. 25.10.1991 et 10.12.1992).

- ❖ Les sucroglycérides E474 sont produits par réaction de saccharose avec des huiles ou graisses alimentaires. Il en résulte un mélange de monoesters et diesters ainsi que des mono- et des triglycérides (A.R. 22.12.1983).

c. Biochimie

L'étude de la façon dont les esters de sucres interagissent avec les protéines semble être une voie d'avenir pour ces molécules. Plusieurs applications pour ce type d'interaction ont déjà été présentées. Basheer et al. (1996) ont utilisé leur capacité à englober les structures protéiques pour protéger l'activité synthétique de la lipase dans un milieu organique apolaire. Naoe et al. (1999) extraient le cytochrome C de la membrane interne des mitochondries en utilisant des micelles inverses formées par des sucroesters dans l'hexane. Les esters de sucres sont idéaux pour la bio-extraction des protéines en raison de leurs deux caractéristiques distinctives.

d. Pharmacie et médecine

L'innocuité des esters de sucres envers la peau et les muqueuses favorise leur utilisation en tant qu'agents émulsifiants dans l'industrie pharmaceutique. À la différence des émulsifiants polyéthoxylés, ces molécules ne diminuent pas l'activité des composés phénoliques et antibiotiques. Ils sont particulièrement sollicités pour la stabilisation et la mise en solution de molécules liposolubles telles que les vitamines ou les antibiotiques. Il a été démontré que les microémulsions stabilisées par des sucroesters jouent un rôle important dans le transport transdermique. Bolzinger et al. (1998) ont expliqué comment les microémulsions stabilisées par des sucroesters peuvent transporter l'acide niflumique, un anti-inflammatoire. La synthèse d'esters de sucres a également un intérêt médical. Selon Battaglia et al. (2000), il existe un transporteur de glucose dans le sang. En ajoutant de l'acide kynurénique au glucose, la migration de ce dernier du sang vers le cerveau est améliorée. Cet acide a la capacité d'être anticonvulsant. Il a également été démontré que les esters de sucres et l'acide valproïque réduisent l'intensité des crises d'épilepsie.

Chapitre 2 :

Matériel et Méthode

Matériels

1 Les réactifs

1.1 Lipases

1.1.1 LPP

Lipase pancréatique (ou triacylglycérols lipase) catalyse l'hydrolyse des triglycérides aux positions 1 et 3 pour donner successivement des 1,2-diacylglycérols et des 2-acylglycérols. Chez de nombreux êtres vivants, cette réaction est capitale de par son rôle physiologique majeur dans le métabolisme des graisses et des lipides. La lipase pancréatique est la principale enzyme responsable de la digestion des lipides dans le système digestif. L'hydrolyse des triglycérides est essentielle pour l'absorption de lipides par les entérocytes. Lipase pancréatique porcine se présente sous deux formes : A et B. La lipase A est active en milieu plus acide que la lipase, mais à part cette différence, les deux enzymes sont pratiquement identiques. Leurs masses moléculaires se situent entre 45 et 50 kilos daltons (kDa) et leurs points isoélectriques sont de 4,9 pour la lipase A et 5,0 pour la lipase B. Le pH auquel la lipase montre son activité optimale (6,5 et 9,0) varie dépendamment du substrat utilisé mais demeure dans le domaine légèrement alcalin.

1.1.2 CRL

La lipase de *Candida rugosa* a été purifiée jusqu'à homogénéité à partir d'une poudre brute. CRL hydrolyse les triacylglycérols sans spécificité de longueur de chaîne. Une activité spécifique d'environ 800 U/mg a été mesurée avec la trioléine ou la tributyrine comme substrat à 37°C et pH 8. La CRL est une vraie lipase. Cette enzyme présente le phénomène d'activation inter faciale lorsque la tripropionine a été utilisée comme substrat. Contrairement à de nombreuses lipases, le CRL est capable d'hydrolyser son substrat en présence de détergents naturels. Synthétique les détergents agissent comme de puissants inhibiteurs de l'activité des CRL.

1.2 Les sucre

1.2.1 Le glucose

Les glucoses sont des sucres de formule brute $C_6H_{12}O_6$. Le suffixe -ose est un classificateur chimique précisant qu'il s'agit d'un glucide. Comme il ne peut être hydrolysé en glucides plus simples, il s'agit d'un ose, ou monosaccharide.

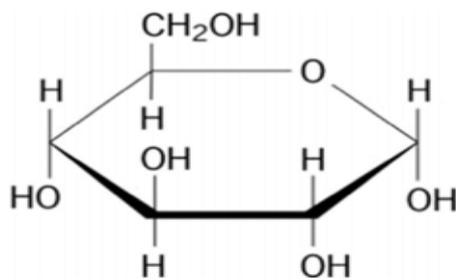


Figure 12. Structure chimique de glucose.

Tableau 5. Les propriétés physique et chimique de glucose.

La formule Brute	$C_6H_{12}O_6$
Etat physique	Poudre blanche au goût sucré
Masse molaire	180,155 9 g/mol
Point de fusion	146 °C (α , D), 150 °C (β , D)
Masse volumique	1,544 gml ⁻¹
Solubilité	Dans l'eau : 900 g l ⁻¹

1.2.2 Le fructose

C'est un ose (sucre simple non-hydrolysable) du groupe des cétooses, que l'on trouve en abondance dans les fruits et le miel. C'est un hexose (sucre à 6 atomes de carbone) qui présente la même formule brute, que ses isomères, en particulier le glucose : $C_6H_{12}O_6$.

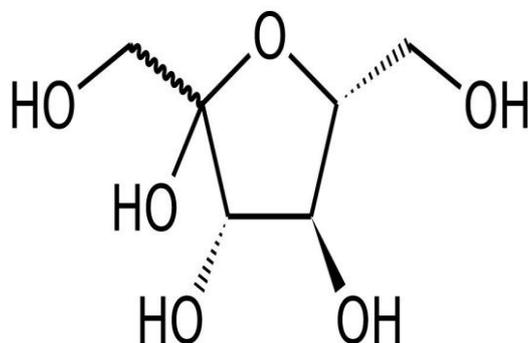


Figure13. Structure chimique du fructose

Tableau 6. Les propriétés physique et chimique de fructose.

La formule Brute	$C_6H_{12}O_6$
Etat physique	Solide blanc
Masse molaire	180,155 9 g/mol
Point de fusion	103 °C
Point d'ébullition	440 °C
Masse volumique	1.69 g/cm ³
Solubilité	Soluble dans l'eau

1.3 Les acides gras

1.3.1 L'acide laurique

L'acide laurique ou acide dodécanoïque (nom systématique) est un acide gras saturé à chaîne moyenne. On le trouve notamment dans l'huile de coco et dans l'huile de palmiste, deux huiles alimentaires particulièrement riches en acide laurique et en acide myristique, les deux acides gras saturés les plus hypercholestérolémiantes connus.

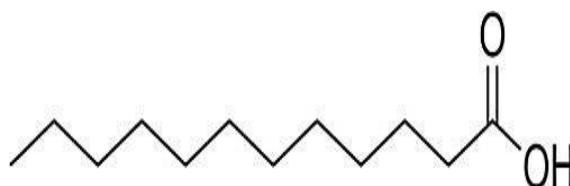


Figure 14. Structure chimique d'acide laurique

Tableau7. Les propriétés physiques et chimiques d'acide laurique.

La formule Brute	$C_{12}H_{24}O_2$
Etat physique	Solide blanc pulvérulent avec une faible odeur d'huile de laurier
Masse molaire	200,317 8 g/mol
Point de fusion	44 à 46 °C
Point d'ébullition	225 °C
Masse volumique	0,883 g/cm ³
Solubilité	Insoluble dans l'eau

1.3.2 L'acide linoléique

L'acide linoléique est un acide gras polyinsaturé, de type oméga-6, retrouvé dans des huiles végétales, en particulier dans l'huile de carthame. Acide essentiel, il doit être apporté à l'organisme par la nourriture. Sa chaîne carbonée est constituée de 18 atomes de carbone, et de deux doubles-liaisons, l'une impliquant le sixième carbone, et l'autre le neuvième.

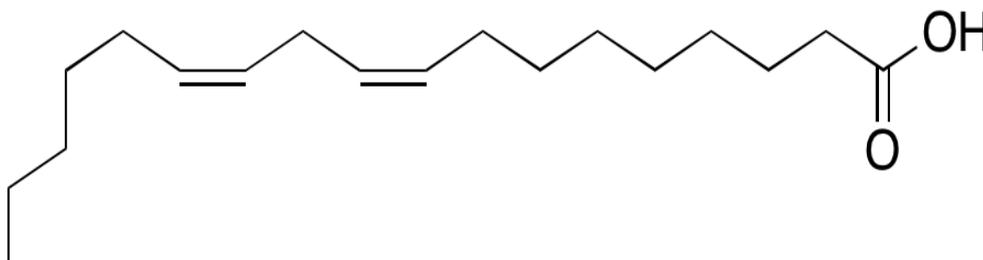


Figure 15. Structure chimique d'acide linoléique.

Tableau 8. Les propriétés physique et chimique d'acide linoléique.

La formule Brute	$C_{18}H_{30}O_2$
Etat physique	Huile incolore
Masse molaire	278,43 g/mol
Point de fusion	-5 °C ou -12 °C
Point d'ébullition	443,4 °C
Masse volumique	0,902 g·M ⁻¹
Solubilité	39 mg·L ⁻¹ eau à 20 °C; 1 ml dans 10 ml d'éther de pétrole; Sol dans l'alcool absolu, Miscible avec les huiles, les solvants gras, le diméthyl formamide

1.3.3 L'acide oléique

L'acide oléique est un acide gras mono-insaturé à 18 atomes de carbone, son nom vient du latin oléum qui signifie « huile ». C'est le plus abondant des acides gras dans la nature. Il est le plus abondant dans le tissu adipeux humain et le plasma.

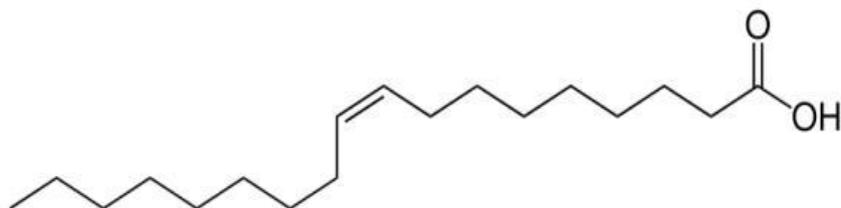


Figure 16. Structure chimique d'acide oléique.

Tableau 9. Les propriétés physique et chimique d'acide oléique.

La formule Brute	$C_{18}H_{34}O_2$
Etat physique	Liquide incolore, devient jaune à brun lors d'exposition à l'air
Masse molaire	0,898 g·cm
Point de fusion	13,4 °C
Point d'ébullition	360 °C
Masse volumique	0,898 g·cm ⁻¹
Solubilité	Dans l'eau : nulle. Soluble dans l'éthanol, le benzène, le chloroforme, l'éther

1.4 Les solvants

Tableau 10. Différents solvant utilisé

Solvant	Formule	Masse molaire	T° Fusion	T° ébullition	Densité
Hexane	C ₆ H ₁₄	86.18 g/mol	-95.3 °C	68,7 °C	661 kg/m ³
Chloroforme	CHCl ₃	119.38 g/mol	-63.5 °C	61.2 °C	1.49 g/cm ³
Dichlorométhane	CH ₂ Cl ₂	84.93 g/mol	-96.7 °C	39.6 °C	1.33 g/cm ³
Ethanol	C ₂ H ₆ O	46.07 g/mol	-114.1 °C	78.37 °C	789 kg/m ³
acetone	C ₃ H ₆ O	58,079 g/mol	-94,6 °C	56,05 °C	
Heptane	C ₇ H ₁₆	100,201 9g/mol	-91°C	98,42°C	0,683 8 g·cm ⁻³
Ether diéthylique	C ₄ H ₁₀ O	74.1216 g/mol	-116 °C	35°C	0.714g/ cm ³

1. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM, en anglais TLC pour Thin layer chromatography) est une technique de chromatographie planaire dont la phase mobile est liquide. Elle est couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (CCM préparative).

Présentation de matériel

- La cuve
- La plaque CCM (silice)
- Tube capillaire
- L'éluant

Au cours de cette séquence nous verrons le principe de cette technique sur deux exemples :

- La séparation de colorants visibles à l'œil nu
- La séparation de composés non colorés qu'il faudra révéler par un autre moyen

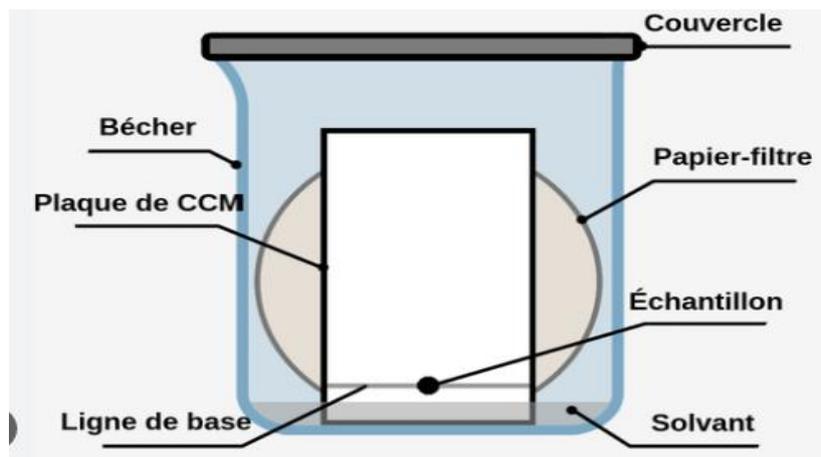


Figure17. Montage de la chromatographie.

2 Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification. La chromatographie en phase liquide a permis de réaliser des analyses qui n'étaient paravent pas possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse. A l'origine la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC). Très rapidement le P de pression est devenu le P de performance lorsque l'on a optimisé la technique (diminution de la taille de particules de la phase stationnaire, régularité de cette phase...).

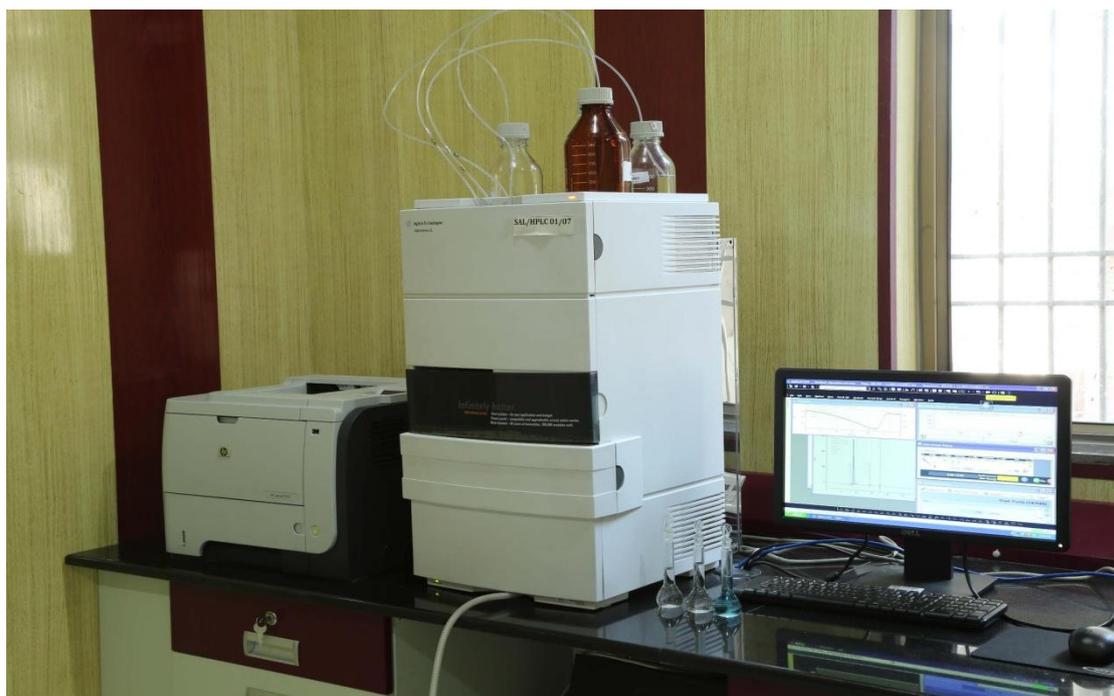


Figure 18. Appareil *d'HPLC*.

Méthode

1 Réaction d'estérification

Dans un tube hermétiquement fermé, 0.25g de sucre (glucose ou fructose) et 0.25g d'acide gras (acide laurique, acide oléique ou acide linoléique) sont solubilisés dans 10ml de solvant organique (Ether diéthylique, Hexane, pentane, Dichlorométhane). Après une heure d'agitation, La réaction est ensuite initiée par addition de 0.1g de lipase (lipase de *Candida rugosa* CRL ou lipase pancréatique de porc LPP) et 1g de tamis moléculaire mise sous agitateur magnétique pendant 48 heures à une température ambiante. Au bout de ce temps, le mélange réactionnel est filtré pour éliminer le tamis moléculaire et l'enzyme à l'aide de papier filtre. On prélève des échantillons pour analyser par CCM et HPLC.



Figure 19. Estérification enzymatique de l'ester du sucre.

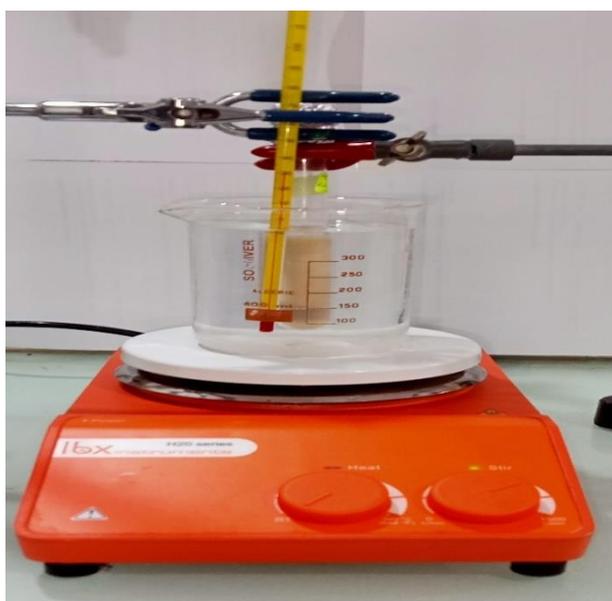


Figure 20. Réaction réalisée sous agitation magnétique.

On a fait le même processus en changeant la température (à 30°C , à 40°C et à 50°C).

2 L'analyse par la chromatographie sur couche mince

Les analyses par CCM ont été réalisées afin de permettre un suivi qualitatif rapide de la synthèse des esters de sucre. La phase stationnaire liquide est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant ou un mélange de solvants. Les analyses sont réalisées sur plaques de gel de silice.

Les échantillons sont incolores, donc il faut passer par le révélateur en utilisant une lampe à ultraviolet UV(Ultraviolet-visible)

Phase mobile :

Éluant A : chloroforme/éthanol : 80/20%

Éluant B : chloroforme/ acétone : 70/30%



Figure21. Analyse par CCM.

3 L'analyse par chromatographie liquide haute performance

L'analyse du milieu réactionnel a été réalisée par HPLC (Waters 2690 Chromatography System). L'analyse des acides gras a été effectuée sur une colonne Alltech Nucleosil 100 C18 (250 mm × 4,6 mm) avec un détecteur d'indice de réfraction. L'élution a été effectuée avec de l'acétone/méthanol/eau (65/15/20). Pour l'analyse des sucres ou des alcools de sucre, une colonne Aminex HPX-87H (Biorad) a été utilisée avec une phase mobile de solution aqueuse de H₂SO₄ 0,005M.

Chapitre 3 :

Résultats et discussion

1. Introduction

Les esters du sucre sont très intéressants pour les applications industrielles en raison de leurs propriétés actives sur la face et du fait qu'ils sont générés à partir de sources renouvelables [34]. l'effet de la température, le solvant organique, les effet de la structure des réactif et d'autre sont attribués sur la synthèse enzymatique d'ester de sucre [35].

Dans ce travail, on a étudié l'influence des conditions opératoires sur la production des esters à base de sucre. En utilisant la réaction d'estérification entre des différent acides gras (acide laurique, acide oléique et acide linoléique) et différents sucres (fructose et glucose) en présence de la lipase de *Candida Rugosa* (CRL) ou lipase pancréatique de porc (LPP) dans différents solvants organiques. Les réactions ont été effectuées sous agitation magnétique classique. Après, on a fait des prélèvements des réactions, pour faire des analyses par CCM et HPLC. Dans ce chapitre nous allons présenter nos résultats de l'effet des conditions opératoires sur la production des esters à base de sucre.

2. Effets de l'acide gras sur l'estérification de l'ester de sucre.

L'influence de la longueur de chaîne de l'acide gras dans la synthèse enzymatique a été étudiée par la réaction d'estérification du glucose avec les différents acides gras, en présence de CRL ou LPP, sous agitation magnétique. On a rassemblé l'ensemble des résultats obtenus dans le tableau et la figure suivant :

Tableau 11. Comparaison de la conversion (C%) entre les acides gras le cas du glucose.

Acide gras	Structure	Conversion (C%)	
		Glucose par CRL	Glucose par LPP
Acide oléique	$C_{18}H_{34}O_2$	44	34
Acide linoléique	$C_{18}H_{30}O_2$	39	31
Acide laurique	$C_{12}H_{24}O_2$	56	49

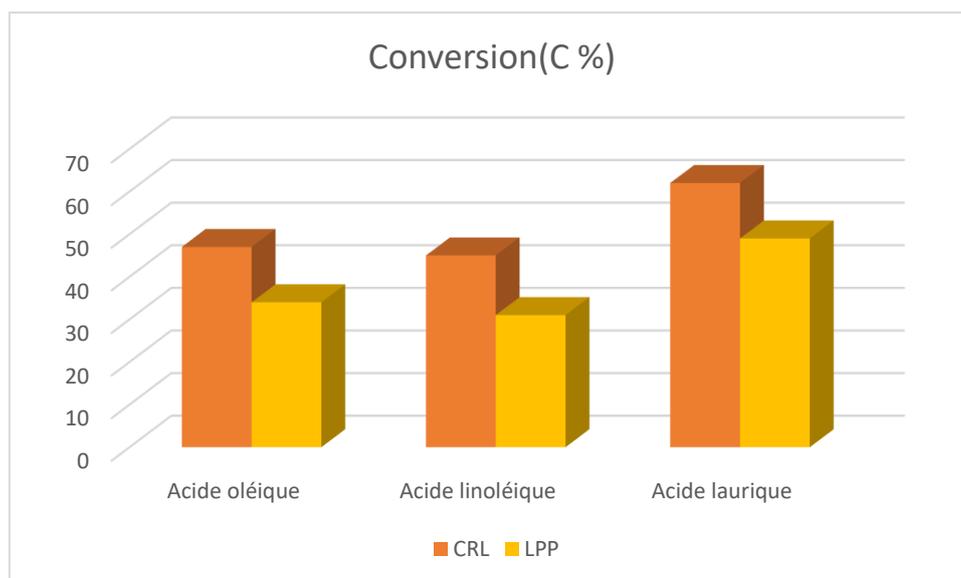


Figure22. Histogramme de comparaison de la conversion (C %) entre les acides gras le cas du glucose.

En analysant l’histogramme ci-dessus, les résultats montrent un avantage d’activité en termes de conversion dans le cas de la lipase candida rugosa par rapport à la lipase pancréatique de porc. Pour les acides gras étudié l’acide laurique est le meilleur pour les deux lipases.

D’autre part, on a fait la réaction d’estérification du fructose avec les différents acides gras, en présence de LPP et CRL sous agitation magnétique. On a rassemblé l’ensemble des résultats obtenus dans le tableau et la figure suivant :

Tableau 12. Comparaison de la conversion (C %) entre les acides gras le cas du fructose.

Acide gras	Structure	Conversion (C%)	
		Fructose par CRL	Fructose par LPP
Acide oléique	$C_{18}H_{34}O_2$	58	47
Acide linoléique	$C_{18}H_{30}O_2$	52	45
Acide laurique	$C_{12}H_{24}O_2$	71	62

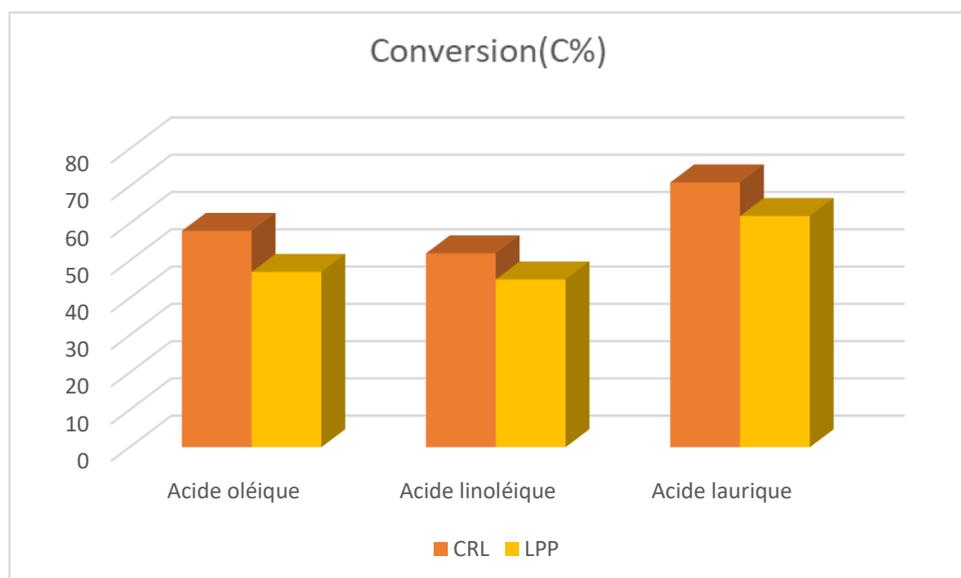


Figure23. Histogramme de comparaison de la conversion (C %) entre les acides gras le cas du fructose.

En analysant l’histogramme ci-dessus, les résultats montrent un avantage d’activité en termes de conversion dans le cas de la lipase candida rugosa par rapport à la lipase pancréatique de porc. Pour les acides gras étudié l’acide laurique est le meilleur pour les deux lipases

3. Effets de type de la lipase sur la conversion (C %).

Le type du biocatalyseur joue également un rôle capital dans l’efficacité en termes de conversions dans les réactions enzymatiques, dans notre étude, nous avons utilisé deux types de la lipase (LPP et CRL).

Tableau 13. Comparaison de la conversion (C %) entre LPP et CRL.

Lipase	Conversion (C %)	
	Fructose	Glucose
LPP	62	49
CRL	71	56

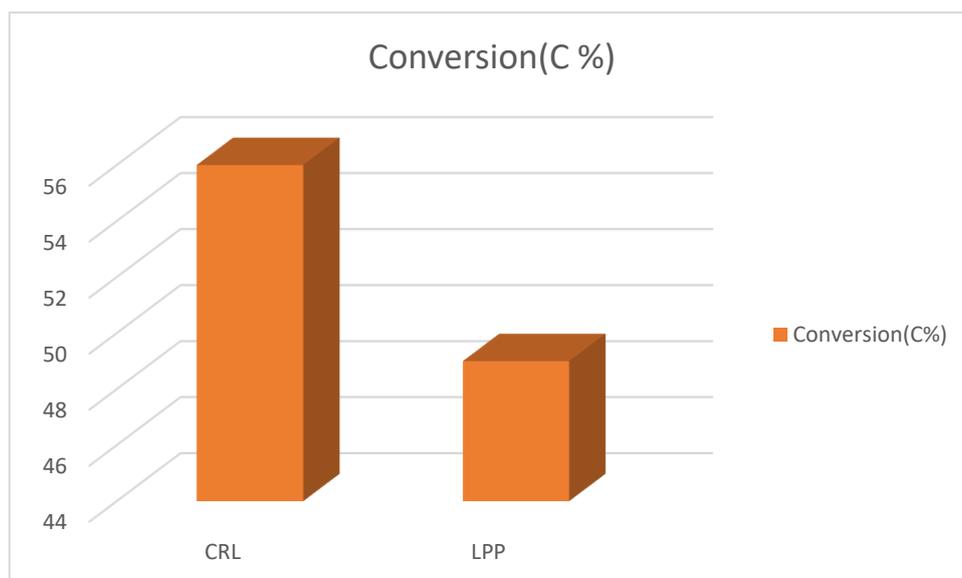


Figure 24. Histogramme de comparaison de la conversion (C %) entre LPP et CRL.

Les résultats indiquent que la conversion dans le cas de la CRL est meilleure (56 %) par rapport dans le cas de la LPP (49 %) pour la réaction du glucose avec l'acide laurique dans l'hexane.

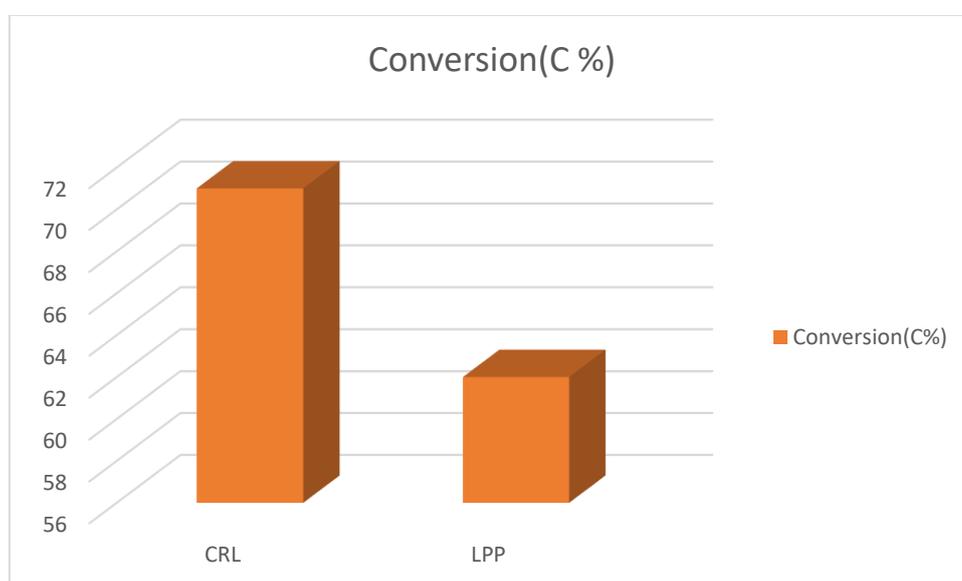


Figure 25. Histogramme de comparaison de la conversion (C %) entre LPP et CRL.

Les résultats indiquent que le rendement dans le cas de la CRL est meilleur (71 %) par rapport à celui de la LPP (62 %) pour la réaction du fructose avec l'acide laurique dans l'hexane.

4. Effets de solvant sur la conversion (C%).

Estérification est généralement favorisée par l'utilisation de solvants organiques. Un solvant non aqueux est essentiel pour la synthèse des esters de sucre catalysée par la lipase, un solvant approprié doit être capable de dissoudre les deux substrats (le sucre et l'acide gras), De plus, sa toxicité doit être la plus faible possible afin de permettre l'utilisation de processus dans des domaines industriels tels que la cosmétologie ou l'alimentaire. Enfin, il doit être compatible avec l'activité enzymatique. La réaction d'estérification du glucose avec l'acide laurique en présence de CRL a été réalisée sous agitation magnétique pendant 48h avec les différents solvants : Ether di éthylique, Hexane, Heptane et Dichlorométhane.

Tableau 14. Comparaison de la conversion (C%) entre les solvants en présence de la CRL.

Solvant	Log p	Conversion (C%)
Hexane	3.50	56
Heptane	4.66	49
Dichlorométhane	1.25	0
Ether di-éthylique	0.89	0

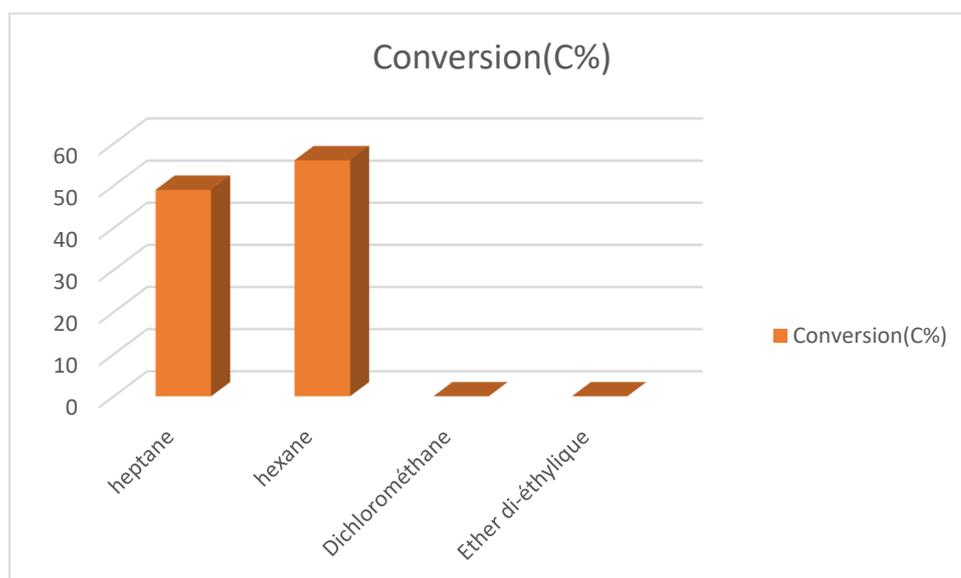


Figure 26. Histogramme de comparaison de la conversion entre les solvants utilisés avec la CRL.

Les résultats montrent que l'hexane est le meilleur solvant pour la réaction d'estérification.

5. Effets de température sur le rendement :

La température de la réaction d'estérification affecte la stabilité de l'enzyme, la solubilité des réactifs et celle du produit ; On a étudié l'effet de la température sur conversion d'estérification du glucose avec l'acide laurique dans l'hexane en présence de CRL.

Tableau 15. Comparaison de conversion (C %) enzymatique glucose avec l'acide laurique en présence de la CRL à différentes températures.

Temperature	Conversion (C%)
30°C	57
40°C	59
50°C	56

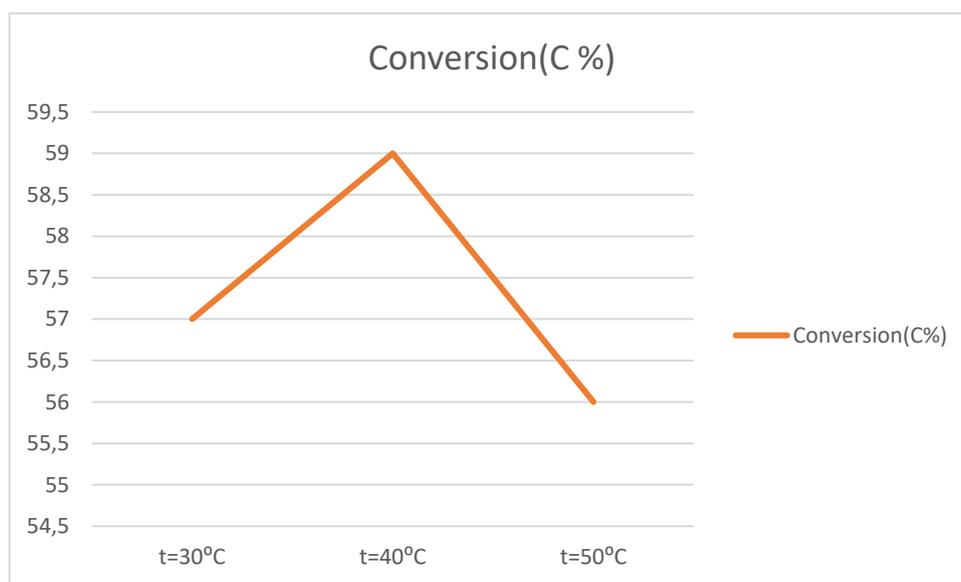


Figure 27. Effet de température sur la Conversion (C %) enzymatique.

D'après cette courbe, on peut confirmer que la température est un paramètre influant sur la réaction enzymatique ; l'influence de ce paramètre a été déterminée en réalisant cette synthèse à des températures comprises entre 30 et 50°C. Après 30 heures de réaction. La conversion maximale a été obtenus à 40°C (59 %) ; elle chute si la température augmente (50°C (56 %)), on peut conclure que la température optimale pour une meilleure activité de la CRL est 40°C, cela est en accord avec d'autre résultats reportés de la littérature.

Conclusion générale

Le travail dont nous avons rendu compte dans le présent mémoire porte sur l'étude de l'influence des conditions opératoires sur la synthèse des esters à base de sucres par deux lipases : la lipase *Candida rugosa* (CRL) et la lipase de pancréas du porc (LPP).

Le premier chapitre de ce mémoire a été consacré à synthèse bibliographique montrant l'intérêt des tensioactifs, ainsi que l'avantage d'utilisation des enzymes dans la synthèse organique. Dans ce chapitre nous avons aussi parlé sur les esters de sucre et leurs avantages.

Dans le deuxième et le troisième chapitre, nous avons présenté notre travail de recherche qui a consisté à déterminer l'influence des différents paramètres opératoires sur l'avancement des réactions et le rendement des réactions de synthèse.

On a étudié les effets de plusieurs paramètres affectant la synthèse enzymatique des esters de sucre dans la réaction d'estérification.

On a examiné l'effet de la longueur de chaîne de l'acide gras sur la synthèse enzymatique, Les résultats obtenus montrent l'influence de la longueur de chaîne d'acide gras sur la conversion d'ester de sucre, le meilleur acide gras était le moins ramifié.

Également, la CRL a montré plus d'efficacité en termes de conversion vis-à-vis les substrats étudiés par rapport à la LPP.

D'autre part, pour l'effet du solvant organique sur la conversion ($C\%$), on peut conclure que l'estérification a été meilleure dans les solvants organiques avec un $\log P$ élevé.

En outre, on a observé une température optimale de 50 C° pour une activité meilleure du biocatalyseur, ceci est en accord avec des résultats rapportés dans la littérature.

En conclusion, Au niveau industriel, pour développer un processus biocatalytique, généralement les conditions dans lesquelles les enzymes opèrent doivent être bien déterminé. Pour ce modeste travail, nous avons réussi à définir des conditions optimales pour obtenir un taux de conversion de 71%.

Références bibliographiques

- [1] D. Coulon, « Étude d'un procédé de synthèse enzymatique d'esters de sucre et d'acide gras », phdthesis, Institut National Polytechnique de Lorraine, 1997.
- [2] B. Pérez, S. Anankanbil, et Z. Guo, « Synthesis of Sugar Fatty Acid Esters and Their Industrial Utilizations », in *Fatty Acids*, Elsevier, p. 329-354 ,2017.
- [3] O. Montet, « Synthèse de mono-esters de sucre par biocatalyse », vol. 47, 1992.
- [4] G. Olive, G. A. P. Torezan, et C. Blecker, « Synthèse enzymatique d'esters de fructose », *Comptes Rendus Chim.*, vol. 15, n° 11-12, p. 1037-1047, nov. 2012.
- [5] S. J. Marathe, N. N. Shah, et R. S. Singhal, « Enzymatic synthesis of fatty acid esters of trehalose: Process optimization, characterization of the esters and evaluation of their bioactivities », *Bioorganic Chem.*, vol. 94, p. 103460, janv. 2020.
- [6] A. M. Gumel, M. S. M. Annuar, T. Heidelberg, et Y. Chisti, « Lipase mediated synthesis of sugar fatty acid esters », *Process Biochem.*, vol. 46, n° 11, p. 2079-2090, nov. 2011.
- [7] C. Amarouche et F.Iglouli « Synthèse d'un solide mésoporeux applications en adsorption »Université Boumerdes,2021.
- [8] H. Guessaimi, S. Achouri, S. Rahal, et M. Moulai, « Etude de la cinétique de sorption et de désorption des hydrocarbures dans les sols », 2015.
- [9] W. Benslimane, « Valorisation d'une bioressource pour la production d'un tensioactif », *Etude physico-chimique*, 2013.
- [10] B. Faucompre, M. Bouzerda, M. Lindheimer, J. M. Douillard, et S. Partyka, « Aspect énergétique de l'agregation des tensioactifs cationiques », *J. Therm. Anal.*, vol. 41, n° 6, p. 1325-1333, juin 1994.
- [11] B. Amara, M. Bensaha, et O. Benkortbi, « Formulation d'une émulsion à base d'une huile végétale » Université Médéa, 2021.
- [12] A. Kara et M. Beddek, « Mise au point d'un système dispersé stable à usage cosmétique », Thesis, UMMTO, 2017.
- [13] L. Hanis et I. Hedir, « Extraction et caractérisation d'un tensioactif naturel : les Saponines végétales », Thesis, UMMTO, 2014.
- [14] T. Ouaddar, « Etude des propriétés emulsifiantes de mélanges de tensioactifs vis-à-vis d'huiles utilisées en cosmétologie », Thesis, UMMTO, 2019.

- [15] H. Faiza et O. Meriem, « simulation d'une unité de distillation réactive à l'aide de simulateur de procédé Aspen plus » Université Médéa ,2021.
- [16] A. Benyahia, K. Zouak, et N. Boucherit, « Etude comparative et caractérisation de quelques peroxydases : standard et extraites de plantes » Université Médéa, 2016.
- [17] G. L. Campbell et M. R. Bedford, « Enzyme applications for monogastric feeds: A review », *Can. J. Anim. Sci.*, vol. 72, n° 3, p. 449-466, 1992.
- [18] W .Moussavou, C. Brunschvicg, P.Villeneuve et J.Blin « Screening de l'activité lipasique dans des extraits végétaux de la biomasse burkinabé pour la synthèse d'esters éthylique d'huile végétale (EEHV) », Bing,2011.
- [19] N. Benamara «Dédoublment enzymatique de quelques molécules monofonctionnelles :optimisation et valorisation. »Université Annaba,2016.
- [20] M. Bouzaouit et B. Nadia, « Optimisation de la synthèse enzymatique d'esters de sucres par la méthodologie des plans d'expériences. » Université Annaba, 2016.
- [21] W. Guelai et M. Kahia, « Etude de l'effet du solvant sur le comportement des lipases CRL et LPP dans des réactions de transesterification », Université Blida 1, 2021.
- [22] E. Husson, « Synthèse de dérivés fonctionnels de petits peptides par voie enzymatique », phdthesis, Institut National Polytechnique de Lorraine, 2008.
- [23] M. Aissou, S. Zahra, et A. P. Belafriekh, « Etude de l'effet d'immobilisation sur l'activité enzymatique de la lipase de *Candida rugosa* (CRL) », Thesis, Université Blida 1, 2022.
- [24] F. Carrière, « Soixante ans de recherche sur la lipolyse enzymatique des corps gras à Marseille », *Ol. Corps Gras Lipides*, vol. 15, n° 3, p. 196-207, mai 2008
- [25] O. Sarakhman, N. Wenninger, A. Rogala, L. Švorc, Kurt Kalcher, et A. Ortner, « Electrochemical flow injection approach for routine screening of lipase activity in pancreatic preparations », *Talanta*, vol. 260, p. 124,2023.
- [26] F. Chicouche, H. Djerar et K. Lebouazda « L'utilisation des lipases dans l'industrie alimentaire » Université M'sila ,2011.
- [27] P. Fickers, J. Destain, et P. Thonart, « Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications », *Biotechnol Agron Soc Env.*, 2008.

- [28] I. J. Bustos, « Formes pharmaceutiques à base d'enzymes sans excipients » université du Québec à Montréal, 2013.
- [29] C. Zeng et N. Zhong, « Encapsulation of lipases on coordination polymers and their catalytic performance in glycerolysis and esterification », *Grain Oil Sci. Technol.*, p. S25, 2022.
- [30] N. Djilali et H. Ouanas « Essai de synthèse d'esters de sucre à partir de la biomasse végétale » Université Bouira, 2017.
- [31] S. Soultani, « Synthèse enzymatique d'esters de fructose et d'acide gras: cinétique, purification et caractérisation des propriétés tensioactives » INPL, 2001.
- [32] L. De Lima, A. Mendes, R. Fernandez-Lafuente, P. Tardioli, et R. Giordano, « Performance of Different Immobilized Lipases in the Syntheses of Short- and Long-Chain Carboxylic Acid Esters by Esterification Reactions in Organic Media », *Molecules*, vol. 23, n° 4, p. 766, mars 2018.
- [33] W. Jiang, J. Zhu, Z. Yuan, J. Lu, et J. Ding, « Optimization of the esterification of oleic acid and ethanol in a fixed bed membrane reactor by response surface method », *Fuel*, vol. 342, p. 12, 2023.
- [34] V. M. Pappalardo, C. G. Boeriu, F. Zaccheria, et N. Ravasio, « Synthesis and characterization of arabinose-palmitic acid esters by enzymatic esterification », *Mol. Catal.*, vol. 433, p. 383-390, 2017.
- [35] Y. Teng, S. G. Stewart, Y.-W. Hai, X. Li, M. G. Banwell, et P. Lan, « Sucrose fatty acid esters: synthesis, emulsifying capacities, biological activities and structure-property profiles », *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 61, n° 19, p. 3297-3317, 2021.