

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université SAAD DAHLEB de Blida



Département de chimie

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention d'un diplôme de master
professionnelle en chimie pharmaceutique



Formulation d'une crème hydratant à base de
chitosane et l'étude de stabilité

Responsable de la spécialité :

Madame :HADJ ZIANE

Réalisée par :

➤ *M^{elle} Galizra Ibtisséme*

Encadrées par :

➤ *M^{EME} LARIBI.H*

Promotion : 2012/2013

الملخص :

الهدف في هذا العمل هو صياغة كريمة جديدة مرطبة فعالة ومستقرة لمكافحة الفطريات. وقد تحقق هذا الهدف، وهذا بعد العديد من الاختبارات الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية. النتائج التي تم الحصول عليها في دراستنا أثبتت وبدلالة فعالية كيتوزان ضد البكتيريا والفطريات وقد قمنا بدراسة استقرارها لمدة 3 أشهر

Résumé :

Le but recherché dans ce travail consiste a développé une toute nouvelle formulation d'une crème hydratante anti fongique efficace et stable. Cet objectif à été réalisé et ce après plusieurs essais physico-chimiques et microbiologiques. Les résultats obtenus dans notre étude ont montré significativement l'effet anti bactérien et anti fongique du chitosane testé était achevé ainsi que la durée de la stabilité de cette crème était 3 mois.

Abstract:

The aim of this work is developing a whole new formulation at a moist wising cream antifungal effective and stable. The objective has been realized after Cheverly tests physical, chemical and microbiological. The resultants obtained in our study have showed significantly the effect anti bacterial and anti fungal chitosane tested was completed as well the duration of the stability of the cream was three months.

The aim in this work is has developed a new formulation of an effective and stable moisturizer anti fungal. This objective has been achieved and what after several physico-chemical and microbiological tests. The results obtained in our study showed significant anti bacterial and anti fungal chitosan tested effect was completed and the shelf life of this cream was 3 months

Sommaire :

| | |
|----------------------------|---|
| Introduction générale..... | 1 |
|----------------------------|---|

I. Synthèse bibliographique

Chapitre .1: la chitine et le chitosane

| | |
|---|----|
| Historique | 2 |
| I-1 Définition | 2 |
| I-2.L'obtention du chitosane | 3 |
| I.2.1 Les principales sources de la chitine..... | 3 |
| I.2.2 Préparation de la chitine et de ces dérivés..... | 3 |
| A) Préparation des carapaces..... | 3 |
| A.1 : Analyses physico-chimiques des carapaces :..... | 4 |
| A.1.1 : Le taux de cendre..... | 4 |
| A.1.2 : La teneur en chitine..... | 4 |
| A.1.3 : Teneur en protéines..... | 4 |
| A.1.4 : Détermination de la densité apparente..... | 4 |
| B) Déprotéinisation..... | 4 |
| C) Déminéralisation..... | 4 |
| D) Désacétylation | 5 |
| I.3.Propriétés antimicrobiennes du chitosane | 7 |
| I.3.1. Activité antibactérienne du chitosane | 7 |
| I.3.2. Activité antifongique du chitosane..... | 8 |
| I.4. Mode d'action du chitosane..... | 9 |
| I.5.Activité du chitosane en fonction des paramètres abiotiques | 10 |
| I.6 Caractéristiques physique chimiques de chitosane | 10 |
| A) Le Degré de Désacétylation (DD) ou le Degré d'Acétylation (DA)..... | 11 |
| B) La viscosité | 11 |
| C) La solubilité | 12 |
| I.7. Propriétés et applications du chitosane..... | 12 |

Chapitre 2 : la physiologie la peau

| | |
|--|----|
| II. 1. Introduction..... | 14 |
| II.2.Structure générale de la peau | 14 |
| II.2.1.Epiderme..... | 15 |
| II.2.1.1.Couche basale (germinative) | 15 |

| | |
|---|----|
| II.2.1.2.La couche spineuse (ou corps muqueux de Malpighi) | 15 |
| II.2.1.3.Couche granuleuse ou stratum granulosum | 15 |
| II.2.1.4.La couche cornée | 15 |
| II.2.2.Derme | 16 |
| II.2.3.Hypoderme | 17 |
| ➤ Les poils | 17 |
| ➤ Les glandes sébacées | 17 |
| ➤ Les glandes sudoripares | 17 |
| II.3.Type d'absorption des molécules | 18 |
| II.3 .1.Contact entre la surface de la peau et les molécules..... | 18 |
| II.3 .2Pénétration..... | 18 |
| II.3 .3Absorption | 18 |
| II.2.4.Conclusion | 19 |

Chapitre III : Les crèmes et les émulsions

| | |
|---|----|
| Introduction | 20 |
| III.1.Définition | 20 |
| III.1.1.L'hydratation, processus naturel..... | 20 |
| III.1.2.La crème hydratant | 20 |
| III.2.Les différents types des crèmes cosmétique..... | 20 |
| III.3.Les rôles des crèmes | 21 |
| III.4.Conseils d'utilisation | 21 |
| III.5.Comment formulé une crème cosmétique | 22 |
| ➤ Une émulsion « huile dans eau » | 22 |
| ➤ Une émulsion « eau dans huile » | 22 |
| III.6.L'émulsion | 22 |
| III.6.1.Phase aqueuse | 22 |
| ➤ Composition de la phase aqueuse | 22 |
| ➤ Fonctions | 23 |
| III.6.2.Phase grasse | 23 |
| ➤ Composition de la phase grasse | 23 |
| ➤ Fonctions : | 23 |
| III.6. 3. Rupture du l'émulsion | 24 |

| | |
|---|----|
| III.6.4.Les phénomènes d'instabilité des émulsions | 25 |
| III.7.Tensioactif | 25 |
| III.7.1.Propriétés des tensioactifs | 26 |
| III.7.2.Fonctions des tensioactifs | 26 |
| • Les détergents..... | 26 |
| • Les agents moussants..... | 26 |
| • Les agents mouillants..... | 26 |
| • Les agents dispersants..... | 26 |
| • Les émulsifiants..... | 26 |
| III.7.3.Types de tensioactifs | 27 |
| III.8.Production d'une crème à l'échelle industriel | 27 |
| III.10 structure générale des produits cosmétique | 28 |
| III.10 .1 Principes actifs | 28 |
| III.10.2 Excipient | 28 |
| III.10.3 Des additives | 29 |
| III.10.4 Adjuvants (pour parfumer, faire mousser, etc.) | 29 |
| III.10.5 Conservateur | 29 |
| III.10 5.1 Antibactériennes | 29 |
| III.10.5.2Antifongique | 30 |
| III.10.6 Un colorant..... | 30 |
| III.10 .7 Un antioxydant | 30 |
| III.10.8 Les émulsifiants | 30 |

Partie expérimentale

| | |
|---|-----------|
| Matériels et méthode..... | 31 |
| VI.1 Introduction | 31 |
| VI.2 Etude du pouvoir antimicrobien et antifongique de chitosane | 31 |
| II.2.1Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)..... | 31 |
| VI.2.2 Méthode de l'antibiogramme | 31 |
| ➤ Principe | 31 |
| ➤ Mode opératoire | 32 |
| ➤ Préparation de l'inoculum..... | 32 |
| ➤ Préparation des milieux de culture | 32 |
| ➤ Ensemencement | 32 |
| ➤ Dépôts des disques | 33 |

| | | |
|------------------------|--|----|
| VI.2.3 | Caractéristique des souches testées | 33 |
| VI.3 | Les composés de la formulation d'une crème hydratante..... | 33 |
| VI.3 .1 | Le principe active (le chitosane) | 33 |
| VI.3 .1.1 | Solubilité du chitosane | 33 |
| VI.3 .2 | Les ingrédients entrant dans la phase aqueuse | 33 |
| VI.3 .3 | Les ingrédients entrant dans la phase huileuse | 34 |
| VI.4 | Choix du Type d'émulsion..... | 35 |
| VI .5 | Contrôle de la qualité microbienne de la crème | 35 |
| V I.5.1 | Equipement et matériel | 35 |
| VI.5 .2 | Milieux de cultures | 35 |
| VI.5.3 | Procédure de détermination..... | 35 |
| VI.6 | Les paramètre physique | 36 |
| VI.6.1 | Détermination du pH | 36 |
| VI.6 .2 | Mesure de la densité | 36 |
| ➤ | Définition..... | 36 |
| ➤ | Principe..... | 36 |
| VI.6 .3 | Mesure de la viscosité | 37 |
| ➤ | Définition | 37 |
| ➤ | Principe | 37 |
| | Résultats et discussions | 38 |
| V.1 | Résultats de l'antibiogramme | 38 |
| V.2 | Préparation de la crème | 38 |
| 1^{ère} | Expérience | 39 |
| 1) | L'objectif..... | 39 |
| 2) | La Formule | 39 |
| 2.1) | Préparation de la phase huileuse | 39 |
| 2.2) | Préparation de la phase aqueuse | 39 |
| V.2 .1 | Contrôles physico-chimiques et organoleptique de produit | 40 |
| A . | La viscosité ($5500 \leq \text{viscosité} \leq 6500$) centpoise) | 40 |
| B. | Détermination du pH | 40 |
| 2^{ème} | Expérience | 41 |
| 1) | L'objectif | 41 |
| 2) | La Formule | 41 |

| | |
|--|-----|
| 2.1) Préparation de la phase huileuse | 42 |
| 2.2) Préparation de la phase aqueuse | 42 |
| 3) Résultat | 42 |
| 3^{ème} Expérience | 42 |
| 1) L'objectif | 42 |
| 2) La Formule..... | 42 |
| 2.1) Préparation de la phase huileuse | 43 |
| 2.2) Préparation de la phase aqueuse | 43 |
| 3) Résultat | 43 |
| 4^{ème} Expérience | 44 |
| 1) L'objectif | 44 |
| 2) La Formule..... | 44 |
| 2.1) Préparation de la phase aqueuse | 45 |
| 3) Résultat | 45 |
| V.2 .2 Préparation de la crème au niveau des laboratoires VENUS ... | 45 |
| 1) La Formule | 45 |
| 2) Résultat de produit fini | 46 |
| 2.a) les paramètres organoleptiques | 47 |
| 2. b) les paramètres physico-chimiques | 47 |
| 2. c) les paramètres microbiologiques..... | 47 |
| V.2 .2.1Resultat de la qualité microbienne de la crème | 47. |
| V.3 L'étude de Stabilité au cours du temps | 48 |
| V 3.1 Objectif | 48 |
| V.3.2 Les contrôles réalisés | 48 |
| A) La centrifugation | 48 |
| B) Le choc thermique..... | 49 |
| C) L'étuve | 49 |
| D) La répétabilité..... | 50 |
| E) La reproductibilité | 50 |
| F) Répétabilité:..... | 50 |
| V.3.3 Les paramètres physico-chimiques | 51 |
| Conclusion générale..... | 52 |

Liste des figures :

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Structure chimique du chitosane..... | 2 |
| Figure 2 : Le processus d'obtention du chitosane à partir des carapaces de crustacées..... | 7 |
| Figure 3 : Les unités de répétitions structurales de la chitine et du chitosane..... | 11 |
| Figure 4 : Présentation de la peau..... | 14 |
| Figure5 : Image d'une section de la peau vue sous le microscope optique du derme vers l'épiderme supérieur (section demi-fines)..... | 15 |
| Figure 6 : adipocytes vu au microscope électronique à balayage..... | 17 |
| Figure 7 : Schéma d'absorption des molécules d'une crème..... | 19 |
| Figure 8 : processus industrielle d'une crème..... | 28 |
| Figure 9 : Illustration de la méthode d'antibiogramme sur boîte de pétrie | 32 |
| Figure 10 : Représentation d'un densimètre..... | 36 |
| Figure 11 : Représentation d'un Viscosimètre..... | 37 |
| Figure 12 : Préparation de la crème..... | 40 |
| Figure 13 : Viscosimètre type Customer | 40 |
| Figure 14 :PH-mètre..... | 40 |
| Figure 15 : présentation de la crème..... | 44 |
| Figure16 : turbo émulsionner type COMER..... | 46 |
| Figure 17 : L'obtention d'une crème hydratante brillante..... | 46 |
| Figure 18 :l'échantillon de teste microbiologique..... | 47 |
| Figure 19 : photo de centrifugeuse..... | 49 |
| Figure 20 : les flacons des échantillons de crème hydratant..... | 49 |
| Figure21 :photo de l'étuve..... | 50 |
| Liste des photos : | |
| Photo1 : <i>candidas albicans</i> | 38 |
| Photo2 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 38 |
| Photo3 : <i>S .aureus</i> | 38 |
| Photo4 : <i>Aspergillus Niger</i> | 38 |

Liste des tableaux :

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Les concentrations minimales d'inhibition de quelques bactéries par le Chitosane. | 8 |
| Tableau 2 : Taux d'inhibition de quelques souches fongiques en fonction de la concentration du chitosane..... | 8 |
| Tableau 3 : Les concentrations minimales d'inhibition de quelques moisissures par le Chitosane..... | 9 |
| Le tableau 4 : présente quelques applications de la chitine et du chitosane..... | 13 |
| Tableau 5 : Les causes de l'instabilité des émulsions | 25 |
| Tableau 6 : les souches testées..... | 33 |
| Tableau 7 : résume le nom des ingrédients et, leurs caractéristiques et usages, selon lesquelles ils ont été choisis pour former la phase aqueuse..... | 34 |
| Tableau 8 : résume le nom des ingrédients et, leurs caractéristiques et usages, selon lesquelles ils ont été choisis pour former la phase huileuse..... | 34 |
| Tableau 9 : Di a m è t r e d'inhibition de quelques souches fongiques..... | 38 |
| Tableau 10 : Résultats physico-chimiques et organoleptiques..... | 41 |
| Tableau 11 : les différents résultats et observation obtenu..... | 42 |
| Tableau 12 : Les caractéristiques organoleptique de produit fini | 47 |
| Tableau 13 : les résultats de contrôle microbiologique..... | 47 |
| Tableau 14 : Les résultats de contrôle physico-chimique pendant 90 jours..... | 51 |

Liste des annexes :

Annexe 1 : Carbopol

Annexe 2 : Emulgin B1

Annexe 3 : Lanette o

Annexe 4 : Allantoïne

Annexe 5 : E.D.T.A

Annexe 6 : Glycérine

Annexe 7 : L'huile d'Amandes douces

Annexe 8 : Turbo-émulseur

Conclusion générale:

- ↪ La crème préparé comporte des résultats très importants grâce à ses propriétés, hydratant et traitante.
- ↪ Les analyses physico-chimiques et bactériologiques sont satisfaites.
- ↪ Le stage effectué au niveau de la société Venus S.A.P.E.CO me permet d'améliorer les connaissances à la fois théorique et pratique, de plus d'acquérir une deuxième expérience sur le domaine industriel.
- ↪ Ce projet de fin d'étude il nous permettons la partie théorique que nous avons acquise aux cours de notre formation à la pratique. Et surtout, il nous permettons de découvrir le monde professionnel à la fin de nous permettons une adaptation rapide du passage estudiantin au milieu professionnel.
- ↪ Nous souhaitons ; si nous avons plus de temps d'améliorer cette étude , nous ajoutons dans notre application des études plus détailler sur la concentration exact pour inhiber l'activité des autres fongique sans oublier à construire une base forte de la microbiologie pour satisfaire a consommation locale .
- ↪ En fin, nous souhaitons que nos efforts puissent satisfaire les besoins des utilisateurs.

Introduction générale :

L'activité humaine, particulièrement industrielle, produit des quantités phénoménales de déchets de crevette. Certains de ces déchets ont une grande valeur que la biotechnologie permet de matérialiser.

Les déchets de la production commerciale piscicole et coquillière et de la transformation des produits de la mer sont, synonymes de problème, mais ils offrent également d'excellentes possibilités d'exploitation. L'élimination de ces déchets a toujours été dispendieuse et a souvent eu un impact nuisible sur l'environnement. En effet, pendant longtemps, les conserveries de crustacés produisaient de grande quantité de déchets qui n'étaient pas recyclés et étaient simplement rejetés à la mer, créant de sérieux problèmes de pollution au voisinage des sites de production.

D'après les données statistiques fournies par la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture), et à titre d'exemple, la production globale de crevettes, toutes espèces confondues, issues de la pêche et des élevages aquacoles, a augmenté de 4 millions de tonnes durant l'année 1999. Ce qui conduit, à une augmentation inévitable des déchets de l'industrie de la crevette, et avec elle l'augmentation des risques de pollution. Mais grâce aux progrès techniques et au développement des marchés, il est maintenant possible, de transformer ce flux de déchets en produits utiles et commercialisables [1].

Dans cette optique, nous nous sommes attelés, dans le cadre de ce travail, à valoriser Les déchets, constitués de carapaces de crevette. Nous avons utilisés ces polymères comme un principe actif, dans une crème cosmétique, notre choix a porté sur une crème hydratant.

Ce procédé utilise en général des ingrédients visqueux pour cela une crème VENUS a été utilisée comme référence on a utilisé des émulsifiants afin de stabiliser l'émulsion composé de deux phases l'une organique ou huileux ; l'autre aqueuse, et ce pour obtenir une crème qui repend aux normes en vigueur soit l'efficacité stabilité, stérilité...etc.

Plus que L'hydratation cette crème, sont destinés aussi pour traite la peau contre, les fongique et les bactéries

Ce mémoire est structuré en deux parties :

Une partie théorique organiser en trios chapitre :

Chapitre I: Etude sur la chitine et le chitosane : nature, obtention, propriétés et application

Chapitre II : l'anatomie et la physiologie de la peau,

Chapitre III : les crèmes et les émulsions.

Introduction générale

La deuxième partie, représente le travail expérimental réalisé, qui comporte les étapes suivantes :

La 1^{ère} étape base sur l'activité anti fongique de chitosane.

La 2^{ème} étape est une reproduction de la crème à l'échelle laboratoire de chimie industrielle de l'université de Blida.une tentative de développement de la formule type, **en remplaçant Allantoine Par le chitosane** .

La 3^{ème} étape est consacrée à la préparation de la crème hydratante, au niveau du laboratoire VENUS S.A.P.E.CO (la zone industrielle Ouled Yaich Blida) et on va terminer par l'étude de stabilité , et ses propriétés physico-chimiques et microbiologiques de notre crème .

Historique :

En 1811, le Professeur Henri Braconnot, Directeur du jardin biologique à Nancy (France) a isolé une substance fibreuse d'un certain type de champignon. De plus, il a observé que cette substance n'est pas soluble dans les solutions aqueuses d'acides. Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (coléoptère) et a été ensuite nommée chitine (provient du mot grec "kitos" qui signifie l'enveloppe). En 1859, le Pr. C. Rouget a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance, résultat du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides. Cependant, ce n'est qu'en 1894 que cette substance a été nommée chitosane par Hoppe-Seyler [1].

Entre 1930 et 1940, ces biopolymères (la chitine et le chitosane) ont suscité beaucoup d'intérêt dans le monde oriental, principalement pour l'application dans le domaine médical et la purification de l'eau. Et depuis 1970, La production industrielle et l'utilisation de ces deux biopolymères sont en constante augmentation puisque nous savons qu'ils se trouvent abondamment dans la nature et sont des ressources renouvelables [2].

Actuellement, la production de la chitine et du chitosane à partir des carapaces de crabes et de crevettes, est économiquement rentable [3].

I-1 Définition :

Le chitosane est un polysaccharide de structure linéaire. C'est un biopolymère cationique de glucosamine partiellement acétylé [4]. Le terme chitosane, loin de répondre à une seule et unique structure chimique bien définie, s'adresse à toute une famille de copolymères linéaires à arrangement aléatoire d'unités N – acétylé – D – glucosamine et de D – glucosamine en proportions variables (figure 1) [5], et liées entre elles par des liaisons (1-4) qui confèrent au chitosane de bonnes caractéristiques filmogènes [6]. Le terme chitosane est habituellement utilisé quand les polymères sont solubles dans une solution d'acide dilué [7]

Ce biopolymère, naturel et non toxique, est actuellement largement produit commercialement à partir des déchets des carapaces de crabes et des crevettes [8].

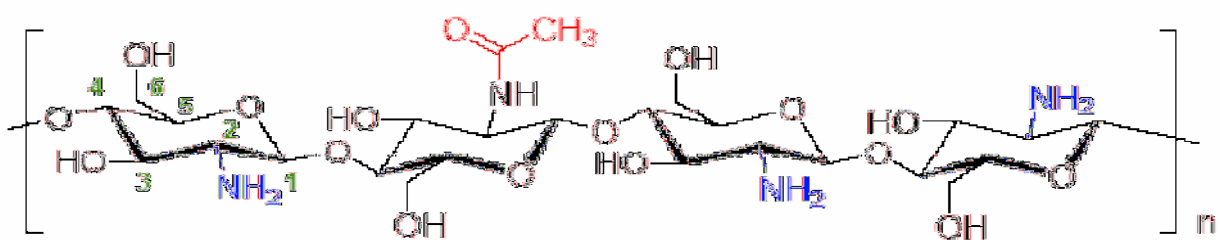


Figure 1 : Structure chimique du chitosane.

Généralement, le chitosane a trois types de groupes fonctionnels réactifs : les groupes amines sur le carbone C(2), les groupes hydroxyles primaires et secondaires sur le carbone C(3) et le carbone C(6). La nature chimique du chitosane fournit beaucoup de possibilités alternatives pour des modifications covalentes et ioniques qui permettent l'ajustement étendu des propriétés mécaniques et biologiques.

I-2.L'obtention du chitosane :

Il se trouve plus rarement dans la nature, il n'est présent que dans les parois d'une classe particulière de champignons, les zygomycètes et chez quelques insectes. La chitine est ainsi la source la plus intéressante du chitosane [9]. Le chitosane commercialisé provient essentiellement de la désacétylation alcaline de la chitine.

I.2.1 Les principales sources de la chitine :

La chitine est un copolymère de 2-acétamido-2-deoxy- β -D-glucose et 2-amino-2-deoxy-D-glucose reliée par des liaisons (1-4). Elle diffère des autres polysaccharides par la présence d'azote en plus du carbone, d'hydrogène et d'oxygène dans la chaîne macromoléculaire [10]. La chitine est le deuxième polymère naturel le plus abondant, facile à obtenir et renouvelable, après la cellulose. Universellement, des millions de tonnes de chitines sont récoltées annuellement [11, 12]. Elle se trouve dans les carapaces de crustacées, les exosquelettes des insectes et les parois cellulaires des champignons [13]. Elle est extraite principalement de la carapace de crustacés tels que les crabes, les crevettes ou les homards [6].

I.2.2 Préparation de la chitine et de ses dérivés :

Le chitosane est le plus souvent fabriqué à partir de carapaces de crevettes et de crabes. Les déchets de l'industrie des crustacés sont une source inépuisable de chitine et chitosane.

A) Préparation des carapaces

La matière première est constituée de carapaces de crevettes, la langouste ou le crabe peuvent être utilisés. Après leur récupération, les carapaces sont lavées et conservées sur la glace à 3°C. Elles sont ensuite séchées dans un flux d'air à 103°C pendant 20 heures puis pulvérisées de façon à obtenir des particules dont la taille est de l'ordre du millimètre. Plus les carapaces sont finement broyées, plus les réactions ultérieures seront complètes. C'est ainsi que la viscosité de la solution finale de chitosane à 1 % peut évoluer de 313 mPa.s à 2449 mPa.s pour des granulométries initiales respectivement de 6,4 mm et 1 mm. [14]

A.1 : Analyses physico-chimiques des carapaces :

A.1.1 : Le taux de cendre : Le taux de cendre est déterminé selon le protocole suivant. [15]

Placer 2g de carapaces broyées dans un creuset en verre, préalablement chauffé pendant 15 minutes dans le four à moufle, refroidi et pesé. Le poids de la cendre est exprimé en pourcentage par rapport au poids initial. [16]

A.1.2 : La teneur en chitine : La détermination de la teneur des carapaces en chitine est réalisée par dosage des résidus N-acétyl glucosamines libérés par hydrolyse acide de la chitine, réalisée avec de l'acide chlorhydrique 6N pendant 6heures. [17]

A.1.3 : Teneur en protéines : La détermination de la fraction protéique des carapaces a été réalisée par la méthode de Kjeldahl.

A.1.4 : Détermination de la densité apparente : La densité apparente est déterminée par le rapport du poids d'un échantillon à son volume apparent. On utilise pour cela un pycnomètre de volume connu. [16]

B) Déprotéinisation:

La procédure standard pour extraire les protéines consiste à faire bouillir les copeaux de carapaces dans une solution alcalin (NaOH à 3%) sous agitation pendant une heure .Cette Déprotéinisation peut également être accomplie par voie enzymatique au moyen d'une carbohydrase que l'on fait agir pendant 6heur à 60°C sous agitation et dans un milieu maintenu à pH =7.Les résultats obtenus en utilisant les deux méthodes ont révélé que la digestion protéique par voie alcaline permet d'obtenir un produit final à viscosité et masse moléculaire supérieures. Ainsi la digestion par voie enzymatique serait plus drastique pour le polymère .l'emploi de l'une ou l'autre méthode n'a aucune incidence sur le pourcentage de matières minérales du produit final. [16]

C) Déminéralisation :

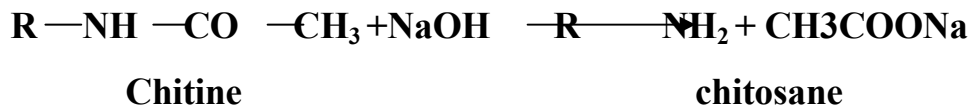
Les substances minérales, surtout composées de carbonate de calcium, sont extraites avec une solution acide. Les carapaces broyées et déprotéinisées sont traitées par une solution d'acide chlorhydrique 1N à température ambiante. La décalcification des carapaces se produit selon la réaction suivant : $\text{CaCO}_3 + 2\text{HCL} \longrightarrow \text{CaCl}_2 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$

Le résidu est collecté par filtration et rincé à l'eau déminéralisée. Une telle décalcification de la chitine permet d'obtenir un produit final avec un pourcentage de matières minérales compris entre 0,73%. Si cette déminéralisation était supprimée, le chitosane renfermerait entre 31et 34% de matières minérales. La présence de carbonate de calcium a pour effet de diminuer la viscosité tandis que la masse moléculaire moyenne du polymère n'est pas significativement modifiée. Il peut être effectué un traitement supplémentaire à l'éthanol afin d'éliminer les

composés lipidiques .il permet aussi de déshydrater la préparation qui est ensuit séchée a l'étuve a 65°C pendant 16 heures. [14]

D) Désacétylation :

Il est procdé a l'hydrolyse des groupements acétyle de la chitine. Le produit est introduit dans un réacteur avec une solution de NaOH a 50% et chauffé a 145°C -150°C pendant 5a10 minutes. La réaction est la suivant :



La réaction à lieu Sous atmosphère inerte(N₂) et sous agitation .la quantité de soude à 50 % doit être cinq fois supérieure en poids a la quantité de chitine déterminée en matière sèche. Le mélange bouillant est ensuite refroidi a l'eau fraiche. Le chitosane est collecté par filtration, lavé a l'eau distillée jusqu'à neutralité du mélange .Il est finalement séché dans un flux d'aire chaud a 65°C pendant 16 heures. [16]

Au regard des résultats obtenus il est remarqué que le produit désacétylé pendant 15 min a une viscosité significativement inférieure a celui désacétylé pendant 5 min. Cela est également vrai pour la masse moléculaire dans des proportions miondres.Ce phénomène est du a hydrolyse des liaisons glycosidiques du polymère en milieu basique.

Il est aussi démontres que purger l'air du réacteur en insufflant de l'azote en flux continu permet d'obtenir un chitosane de viscosité supérieure. L'oxygène de l'aire hydrolyse par oxydation le polymère lors de l'élimination de ses groupements acétyle.

La désacétylation qui est une étape primordiale dans la synthèse du chitosane, demande des conditions drastiques et doit être menée avec précaution. Elle met en jeu des paramètres qu'il convient de régler précisément.la concentration basique ,la température et l'atmosphère du milieu réactionnel ainsi que la durée de réaction sont les plus important .Ils permettent de définir les propriétés physico-chimies du chitosane parmi lesquelles le degré d'acétylation, la masse moléculaire, la viscosité et la pureté. [16]

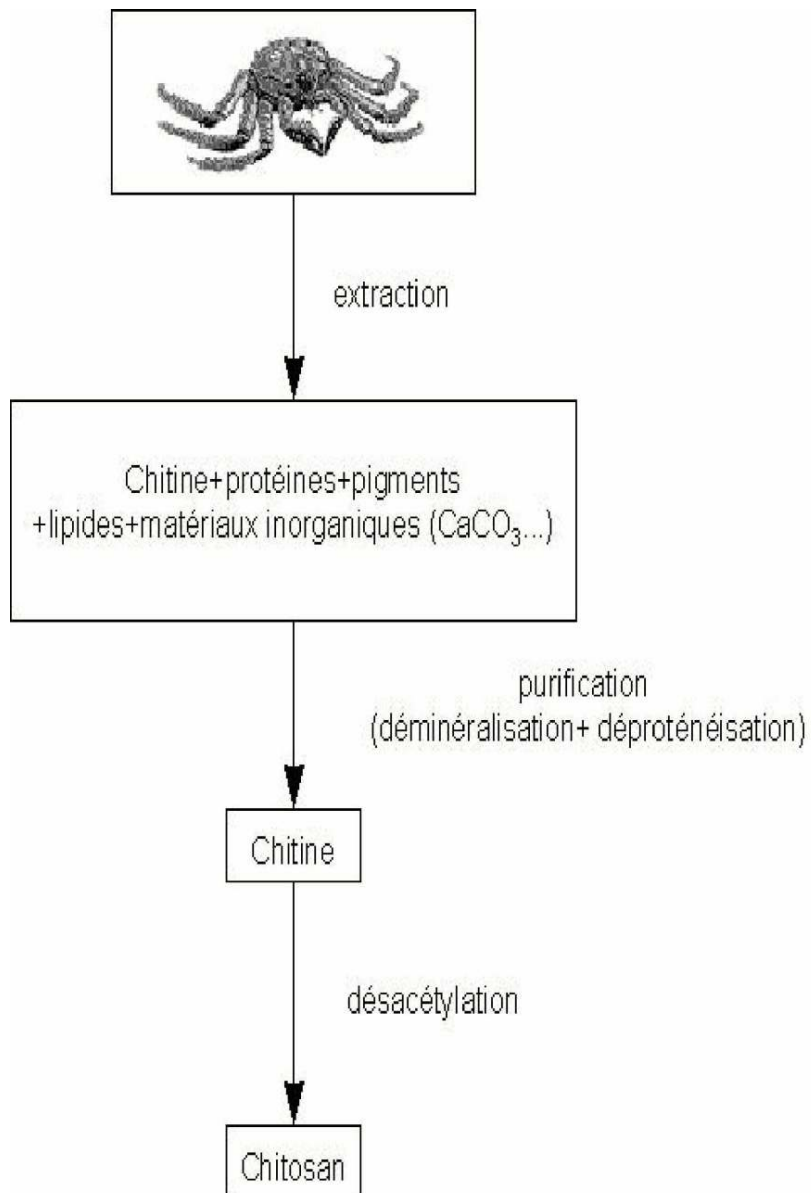
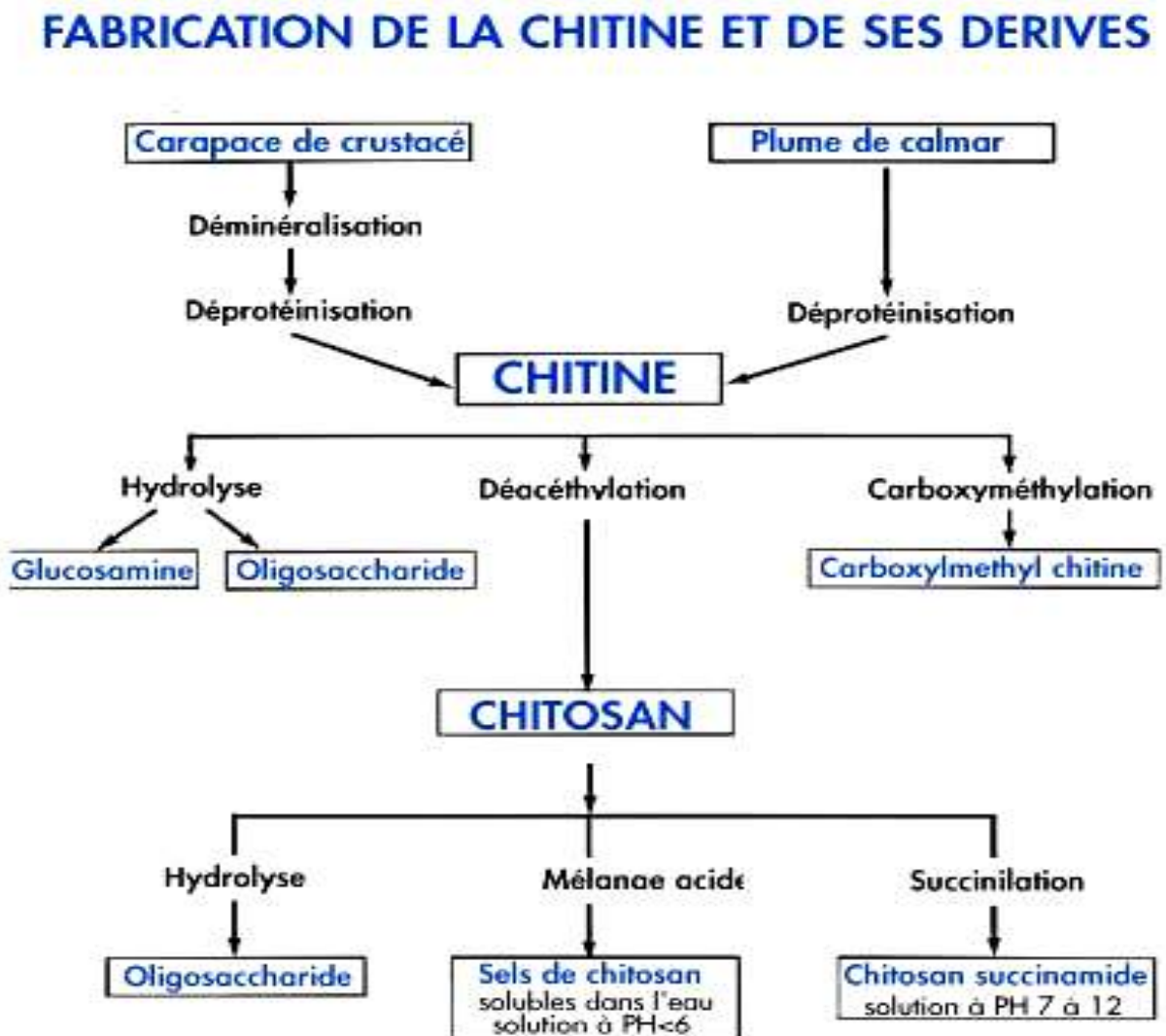


Figure 2 : Le processus d'obtention du chitosane à partir des carapaces de crustacées



I.3. Propriétés antimicrobiennes du chitosane :

Le chitosane présente des propriétés très intéressantes, il est non-toxique, biodégradable, renouvelable, antibactérien et antifongique.

I.3.1. Activité antibactérienne du chitosane :

Plusieurs travaux de recherches ont illustré l'activité anti-bactérienne du chitosane. Ainsi, l'utilisation du chitosane à forte concentration a un effet bactéricide sur des bactéries Gram négatif comme *l'Escherichia Coli* et *la Salmonella typhimurium*. Blaise Ouattara *et al* ont montré que des films obtenus à partir d'une solution du chitosane présentent un effet inhibiteur sur les bactéries lactiques *Lactobacillus sakei*. Comme on l'a déjà souligné, des films composites obtenus par combinaison dans les mêmes proportions

du chitosane et de l'HPMC, inhibent complètement la croissance du *Listeria monocytogenes*. [18]

L'enrobage des fruits par le chitosane a également permis l'inhibition de la croissance la bactérie à Gram positif *Candida lambicans* . [19]

Le chitosane agit sur les bactéries à Gram positif et sur les bactéries à Gram négatif, cependant, son action sur ces dernières est moins importante que celle qui est sur les bactéries à Gram positif (Tableau7) présente les concentrations minimales d'inhibition de quelques bactéries . [18]

Tableau 1 : Les concentrations minimales d'inhibition de quelques bactéries par le Chitosane. . [20]

| <i>Bactéries</i> | <i>CMI (ppm)</i> |
|---------------------------|------------------|
| Bacillus cereus | 1000 |
| Agrobacterium tumefaciens | 100 |
| Pseudomonas fluorescens | 500 |
| Escherchia coli | 20 |
| Micrococcus luteus | 20 |
| Staphylococcus aureus | 20 |

I.3.2. Activité antifongique du chitosane :

L'utilisation du chitosane à partir d'une concentration de 1 g/l réduit considérablement la croissance des souches fongiques suivante: *Cylindrocladium floridanum*, *Cylindrocarpon destructans* et *Fusarium oxysporum*. [21] Les concentrations minimales d'inhibition Présentés dans le Tableau suivant :

Tableau 2 : Taux d'inhibition de quelques souches fongiques en fonction de la concentration du chitosane . [18]. [22]

| <i>Souches fongiques</i> | <i>Inhibition (%) avec du chitosane à 0,5 g/l</i> | <i>Inhibition (%) avec du chitosane à 1 g/l</i> | <i>Inhibition (%) avec du chitosane à 2 g/l</i> |
|----------------------------|---|---|---|
| Cylindrocladium floridanum | 20 | 41 | 5 6 |
| Cylindrocarpon destructans | 23 | 43 | 7 1 |
| Fusarium oxysporum | 25 | 53 | 5 5 |

Le chitosane a un effet antifongique à partir d'une concentration de 0,3 % (m/V). [23]
L'action du glutamate du chitosane sur la croissance d'*Aspergillus flavus*, de *Cladosporium cladosporioides*, de *Mucor racemosus*, de *Penicillium aurantiogriseum* et de *Saccharomyces cerevisiae*. L'obtention d'une action inhibitrice contre toutes ces souches a nécessité une concentration de chitosane de 5 g/l. (Tableau 3) présente les concentrations minimales d'inhibition de quelques souches fongiques par le chitosane . [24]

Tableau 3 : Les concentrations minimales d'inhibition de quelques moisissures par le Chitosane. [25]. [26]

| <i>Moisissures</i> | <i>CMI (ppm)</i> |
|---------------------|------------------|
| Botrytis cinerea | 10 |
| Fusarium oxysporum | 100 |
| Piricularia oryzae | 5000 |
| Tichophyton equinum | 2500 |

I.4. Mode d'action du chitosane :

Le mécanisme d'action du chitosane contre les bactéries et les souches fongiques est jusqu'à aujourd'hui mal connu. Cependant, il existe plusieurs éléments qui peuvent expliquer cette action:

- La formation de liaisons électrostatiques entre les charges positives du chitosane (transformation des motifs NH_2 du chitosane en motifs $^+\text{NH}_3$ en milieu acide) et les phospholipides de la membrane cellulaire qui ont une charge négative, perturbant ainsi les échanges entre la cellule microbienne et le milieu extérieur. [27]
- La présence du chitosane peut aussi entraîner des déformations morphologiques au niveau de la membrane cellulaire. [28]
- L'inhibition peut aussi être due à l'enrobage des cellules microbiennes par le chitosane, éliminant ainsi toute échange avec le milieu extérieur . [29]
- L'action du chitosane peut aussi se faire par formation de liaison avec les protéines et les électrolytes présents dans le cytoplasme . [30]
- Formation des liaisons entre le chitosane et l'ADN des bactéries et l'inhibition de la synthèse du mRNA . [31]
- Le chitosane peut aussi agir de façon indirecte sur les bactéries et les moisissures, et cela par complexation des métaux nécessaires pour leur croissance . [32]

I.5. Activité du chitosane en fonction des paramètres abiotique

les deux paramètres qui caractérisent le chitosane sont le degré de désacétylation et la masse moléculaire, d'ailleurs son activité antimicrobienne en dépend beaucoup. Cependant il existe d'autres éléments qui influencent l'activité du chitosane. Ainsi :

- L'action du chitosane est, à son maximum, à des pH faibles entre 6 et 6,5, puisque c'est dans cette zone où les groupements NH_2 sont protonés (le chitosane n'est soluble que dans des acides dilués). Cependant, à des pH plus faibles (entre 1 et 4) l'activité du chitosane diminue. Ceci est dû à la compétition entre les protons et les groupes ammonium vis-à-vis des cellules microbiennes. . [33]

- Il a été montré que la masse moléculaire a également une influence sur l'activité antimicrobienne du chitosane. Cependant, une règle générale définissant cette influence ne peut être établie, car elle varie différemment d'un organisme à un autre. Ainsi, un chitosane avec une masse moléculaire élevée semble plus efficace contre les bactéries Gram négatif, qu'avec les bactéries Gram positif. [34]

De plus, au sein du même type de bactérie, cette influence peut varier. Par exemple, avec *Escherichia coli*, bactérie Gram négatif, l'activité augmente avec la masse moléculaire jusqu'à un certain niveau (9,16 10⁴ g/mol) puis elle diminue car avec l'augmentation de la masse moléculaire, il y a plus d'interaction intramoléculaire entre les groupes ammonium et les groupes hydroxyle du chitosane ce qui les rendent indisponibles. . [35]

L'action du chitosane sur les bactéries Gram négatif est limitée par la présence de cette membrane externe, mais son association à l'EDTA augmente son efficacité, car l'EDTA s'adsorbe (complexation des Mg^{2+} et Cu^{2+}) à cette membrane externe augmentant ainsi sa perméabilité. [33]

- La présence des métaux comme Zn^{2+} , Ca^{2+} et Mg^{2+} diminue l'activité antimicrobienne du chitosane, car ce dernier complexe ces métaux. . [33]

C'est d'ailleurs, ce caractère qui est mis à profit dans le traitement des eaux usées.

I.6 Caractéristiques physique chimiques de chitosane :

A) Le Degré de Désacétylation (DD) ou le Degré d'Acétylation (DA) :

En dépit de leur désignation chimique spécifique, les noms chitine et chitosane correspondent actuellement à la même famille de polymères. Ils varient seulement sur le contenant en groupe acétylé qui est désigné par le degré d'acétylation. Le degré d'acétylation présente le taux de groupe acétylé par rapport au groupe non acétylé (figure 4) [11].

DA = 100% - D% N – désacétylation.

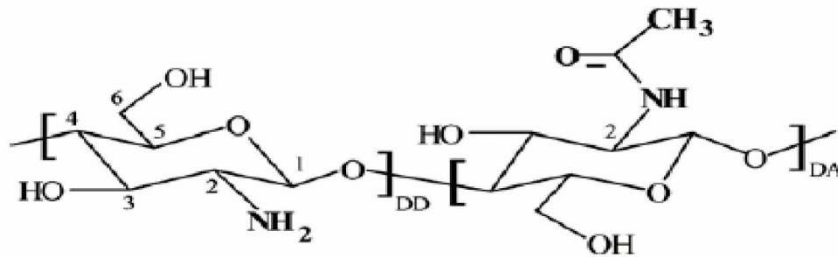


Figure 3 : Les unités de répétitions structurales de la chitine et du chitosane

Le degré de désacétylation (DD) est l'un des propriétés les plus importantes du chitosane. Il influe, non seulement sur les caractéristiques chimiques et physiques, mais aussi sur la biodégradation et l'activité immunologique du chitosane [30].

Dans les 30 ans passés, beaucoup de méthodes ont été développées pour la détermination du DD, y compris la spectroscopie infra rouge [31], la spectroscopie U-V, la résonance magnétique nucléaire, la titration colloïdale et la titration potentiométrique [32]. Cependant, la méthode la plus simple est celle de la spectroscopie IR proposée par Khan et al [33]. Le degré d'acétylation (DA) est déterminé en utilisant la formule :

$$DA\% = (A_{1655} \text{ cm}^{-1} / A_{3450} \text{ cm}^{-1}) * 100 / 1,33 - 1$$

Où

$$DD\% = \% \text{ NH}_2 = [1 - (A_{1655} / A_{3450}) * 1 / 1,33] * 100$$

- $A_{1655 \text{ cm}^{-1}}$ est l'absorbance à la longueur d'onde 1655 cm^{-1} (Amide I 1655 cm^{-1})
- $A_{3450 \text{ cm}^{-1}}$ est l'absorbance à la longueur d'onde 3450 cm^{-1} (Hydroxyle 3450 cm^{-1})
- Le facteur 1,33 représente le rapport (A_{1655} / A_{3450}) pour un chitosane entièrement N- acétylé.

B) La viscosité :

La viscosité du chitosane dépend du degré d'acétylation de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante [34]. La viscosité dépend également : de la concentration du polymère (elle augmente avec la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente) [35], du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque augmente en fonction de l'augmentation du poids moléculaire) [36] et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée). Pour déterminer la viscosité, il existe différentes méthodes. La plus employée est « la viscosimétrie ». Elle nécessite la connaissance des paramètres K et a de la relation de Mark-Houwink [37].

$$[\eta] = K.M^a$$

$[\eta]$: la viscosité intrinsèque.

M : le poids moléculaire moyen du polymère.

K et a : des paramètres qui dépendent du système polymère-solvant à une température donnée.

C) La solubilité :

La chitine n'est soluble que dans des solvants peu communs, ce qui limite son utilisation et sa valorisation. En effet, elle n'est soluble que dans le 2-hexafluoropropanol, et dans des mélanges tels que le diméthylacétamide/chlorure de lithium, le diméthylformamide/chlorure de lithium ou l'acide trichloroacétique / dichloroéthane [38]. Contrairement à la chitine qui est insoluble dans les solvants aqueux, le chitosane est soluble dans les acides faiblement dilués (comme l'acide acétique, lactique, citrique,...) à des pH < 6,0 formant des sels. L'étude bibliographique a montré que la solution aqueuse de l'acide acétique est le solvant le plus approprié pour solubiliser le chitosane. La solubilité du chitosane varie en fonction de son DA et la méthode de la désacétylation mise en oeuvre. La distribution des groupes N- acétylé sur la chaîne polymérique peut contrôler aussi la solubilité des solutions données chitosane) est plus désordonné que le type II. Celui-ci a un fort degré de désacétylation (90 %) (forme amine libre) [13].

I.7 Propriétés et applications du chitosane :

Les applications du chitosane sont variées et les nouvelles études pour en développer ne cessent de se multiplier à cause de ses propriétés physico-chimiques et biologiques . [26]

Il est entre autres non fermentable, biocompatible, biodégradable et non toxique. De plus, son coût de fabrication est peu élevé.

A titre d'exemple, quelques propriétés utilisées dans les différents champs d'application du chitosane sont données dans le Tableau suivant ;

Le tableau 4 : présente quelques applications de la chitine et du chitosane [1].

| <i>Champ d'application</i> | <i>Applications</i> | <i>Propriétés</i> |
|----------------------------|---|---|
| Pharmacie | Encapsulation de médicaments | Matériel absorbable avec possibilité de contrôle de libération de principes actifs (enzyme, médicament) |
| Clinique | Membrane de dialyse, Pansements | Rétention d'eau, d'ions, stimulation de la régénération des tissus |
| Cosmétiques | Crème, shampooing, Démêlant | Rétention de l'humidité, anti-électrostatique, surfactant antifongique anti bactérien cicatrisant, conservateur |
| Industrie agro-alimentaire | Restructuration des purées de fruits, de légumes ou de viande | Formation de film, épaississant |
| Traitement des eaux | Agent flocculant de Cations | Polyélectrolytes ; chélation de Métaux |

Il est donc d'un grand intérêt en pharmacie, dans l'industrie agro-alimentaire, pour les cosmétiques à cause de ces propriétés viscoélastiques qui peuvent varier de manière très significative même pour des petites quantités de polymère. Il peut donc être utilisé comme modificateur de texture, stabilisant. [22]

II.1.Introduction :

« Ce que l'on met sur sa peau est aussi important que ce que l'on met dans son assiette. Notre peau, organe sensible, reliée à l'ensemble des fonctions vitales de notre corps, besoin d'une nourriture saine, de l'intérieur comme de l'extérieur. » **Jean- Philippe Naboulet**, (Pharmacien, Responsable Qualité et Affaires Réglementaires chez Weleda France).

La peau est le plus grand organe du corps. Elle couvre 1,5 à 2 mètres carrés et représente 16 % de total du poids du corps. La peau ne constitue pas seulement une barrière contre les agressions mécaniques comme les pressions ou les frottements, les produits chimiques, la chaleur, le froid et les rayons UV ainsi que les micro-organismes dangereux pour la santé, elle est également nécessaire pour préserver l'équilibre de l'humidité et de l'hydratation du corps et de pouvoir percevoir les stimuli des sens via les récepteurs de pression, de réception et de douleur [36].

II.2.Structure générale de la peau :

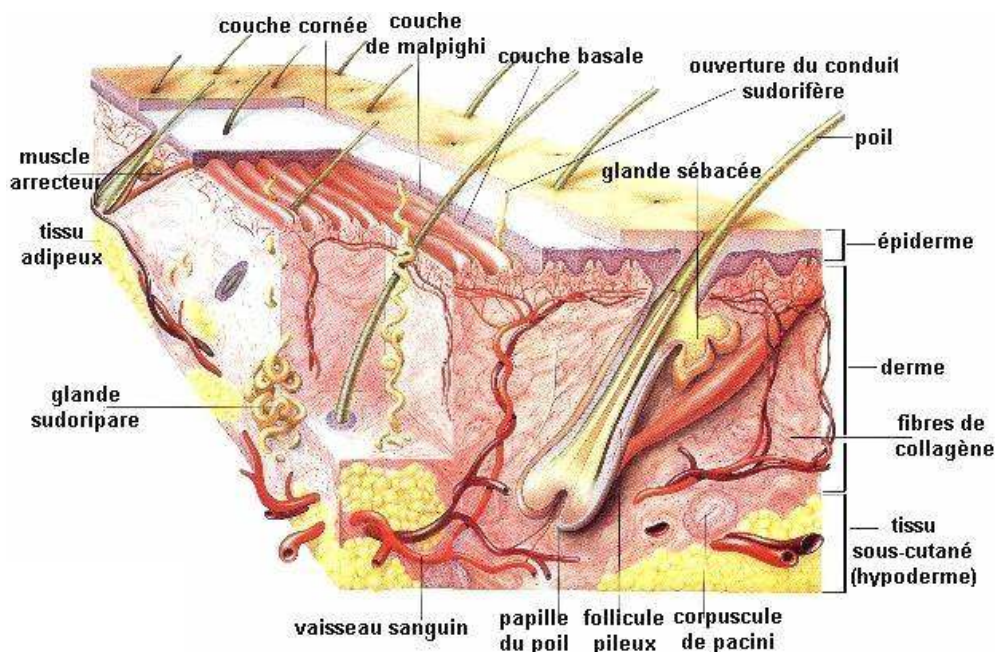


Figure 4: Présentation de la peau.

La structure cutané est une structure hétérogène compose, de trois couches superposées :

- La couche la plus superficielle est **l'épiderme**.
- La couche moyenne, le **derme** et un tissu de soutien, par de nombreux vaisseaux et nerfs.
- La couche profonde, **l'hypoderme** (figure 1).

II.2.1.Epiderme :

L'épiderme a une épaisseur moyenne d'environ 100 μm , Il est constitué principalement de cellules vivantes, les **Kératinocytes**, qui ont la particularité de se transformer progressivement au cours de phénomène de Kératinisation pour former différentes couches ayant chacune leur spécificité. [37]

Ils finissent par perdre leur noyau pour fournir des cellules quasi-morts les cornéocytes. C'est ainsi que, l'intérieur vers l'extérieur (de bas en haut du schéma), on trouve que les différentes couches de l'épiderme sont bien visibles (figure 4).

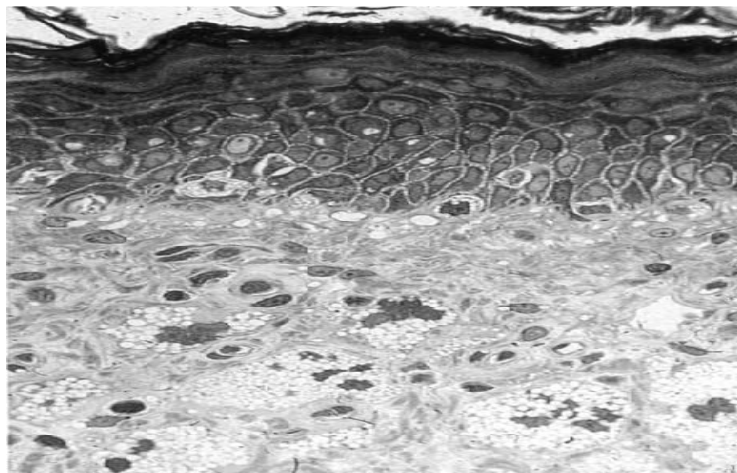


Figure 5: Image d'une section de la peau vue sous le microscope optique du derme vers l'épiderme supérieur (section demi-fines)

II.2.1.1.Couche basale (germinative) :

C'est la couche la plus profonde de l'épiderme, elle est faite d'une unique rangée de cellules cubiques ou cylindrique. Elle est implantée sur la membrane basale, mince couche extra-cellules qui épouse les papilles dermiques, elle apparaît donc ondulée sur une transversale.

II.2.1.2.La couche spinieuse (ou corps muqueux de Malpighi) :

Il est formé de 5 ou 6 couches de cellules par fois moins, selon la localisation ; les cellules ont une forme de polygone et s'aplatissent de plus en plus dans les couches les plus superficielles

II.2.1.3.Couche granuleuse ou stratum granulosum :

Elle se présente comme une bande sombre, elle est formée de 3 à 5 couches de kératinocyte aplatis.

II.2.1.4.La couche cornée :

C'est la couche la plus superficielle de l'épiderme, elle formée de trois sous couches :

➤ **La couche brillante.**

➤ **La couche desquamant de Ranvier.**

➤ **La couche compacte** L'ensemble de ces trois couches à une épaisseur d'environ 10 μm .

Et on trouve aussi plusieurs types de cellules :

• **Kératinocytes** : représentent 80% de la population cellulaire de l'épiderme, ils sont d'origine ectoblastique. Ce sont eux qui en migrant de la profondeur vers la superficie et subissant des modifications spectaculaires, donnent à l'épiderme sa morphologie. Un kératinocyte migre de la profondeur vers la superficie en 15 jours de telle sorte que l'épiderme est renouvelé en 6 à 8 semaines. [38].

• **Mélanocytes** :

Constituent la deuxième grande population cellulaire de l'épiderme. Ils proviennent des crêtes neurales et colonisent secondairement l'épiderme d'abord formé par kératinocytes.

La fonction des mélanocytes est la synthèse des mélanines : phéomélanines et eumélanines, dans des organites spécialisés, les mélanosomes qui sont ensuite transférés aux kératinocytes. [37]

• **Cellules de Langerhans** :

Troisième population cellulaire de l'épiderme, représentent 3 à 8 % des cellules épidermiques, Ces cellules sont situées au-dessus de la couche basale et, comme les mélanocytes.

• **Cellules de Merkel** :

Ces cellules se trouvent principalement dans certaines zones du corps: le bout des doigts, la muqueuse buccale, les lèvres, et les follicules pileux. Ils sont facilement visibles sous le microscope électronique et sont toujours associés à un nerf fibres. Pour cette raison, les cellules de Merkel sont considérées comme des «récepteurs tactiles», c'est qu'ils sont les structures responsables de notre sens du toucher.

II.2.2.Derme :

Le derme à une épaisseur varie de 500 μ à 1 mm (figure 2). .

On distingue le derme papillaire, le plus proche de la jonction épidermique, et le derme réticulaire, plus profond, qui représente environ 80 % de l'épaisseur totale du derme. Tous deux sont des tissus conjonctifs, il est constitués par

➤ **Des protéines** :

Synthétisent par les fibroblastes. En particulier le collagène, macromolécule assemblée en fibres conférant à la peau sa résistance, et l'élastine, macromolécule qui s'organise en

faisceaux, essentiellement localisée dans les couches superficielles du derme (couche papillaire). L'élastine est responsable de l'élasticité de la peau.

Les fonctions de derme sont :

- D'assurer le maintien des propriétés de la peau et de servir de réservoir d'eau par l'intermédiaire du gel de protéoglycanes.

II.2.3.Hypoderme :

L'hypoderme est le compartiment le plus profond et le plus épais de la peau. Il s'invagine dans le derme et est rattaché au derme sous-jacent par des fibres de collagène et d'élastine. Il est essentiellement constitué d'un type de cellules spécialisées dans l'accumulation et le stockage des graisses, les adipocytes. Les adipocytes constituant l'hypoderme sont des cellules regroupées en lobules séparés par des tissus conjonctifs (figure 3).

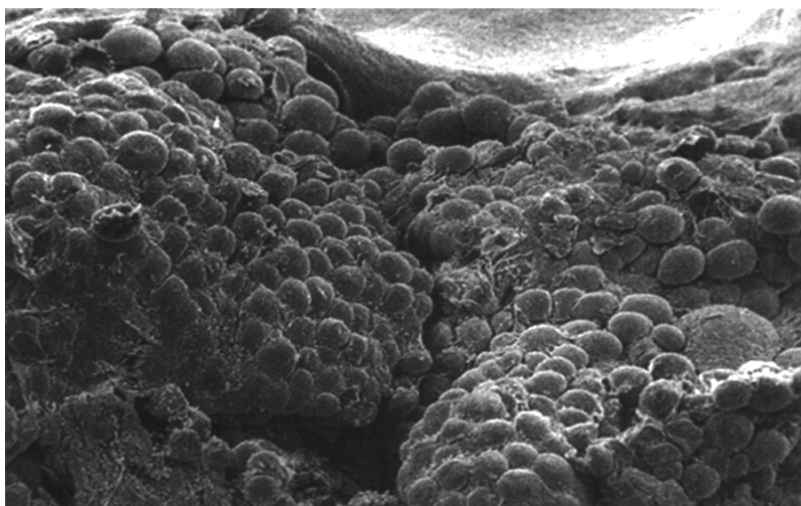


Figure 6: adipocytes vu au microscope électronique à balayage

L'hypoderme joue le rôle de réserve énergétique. Les graisses contenues dans les adipocytes, peuvent être remises en circulation, via la voie veineuse, lors d'un effort intense ou lors d'une déficience en apport énergétique, et seront transformées en énergie. Lorsque l'on dit " brûler des calories ", on brûle en particulier les graisses. L'hypoderme participe, au moins passivement, à la thermorégulation puisque la graisse est un isolant thermique. [37].

- **Les poils :** formés d'une tige constituée de cellules kératinisées et d'une racine. La racine est implantée dans l'épaisseur du derme par le bulbe pileux ou follicule pileux avec la glande sébacée

- **Les glandes sébacées** : annexées aux poils et forment les follicules pilo-sébacés elles sécrètent le sébum (substance riche en corps gras qui sert à lubrifier le poil et apporte à la couche cornée hydratation et imperméabilité).

- **Les glandes sudoripares** : sécrètent deux types de la sueur:

- **Encrines** : paumes de la main, plantes des pieds et dos. Synthétisent une sueur aqueuse et salée. Leur cavité excrétrice siège dans le derme et leur canal excréteur traverse le derme et l'épiderme pour s'aboucher à la surface de la peau par un pore. Ont essentiellement un rôle dans la thermorégulation et participent également à l'hydratation de la peau.

- **Apocrines** : creux axillaires, pubis et région périnéale. Synthétisent une sueur grasse. Leur cavité sécrétrice est située dans l'hypoderme et leur canal excréteur s'abouche dans le conduit pilo-sébacé.

La sueur comprend 99% d'eau, des sels minéraux avec essentiellement du chlorure de sodium et des déchets.

- **Cellules matricielles**: Cellules permettant la croissance du poil.

- **Cellules adipeuses (graisseuses)**: Cellules fabriquant la graisse.

- **Réseau artériel**: Réseau de vaisseaux sanguins transportant le sang du cœur aux organes.

- **Réseau veineux**: Réseau de vaisseaux sanguins transportant le sang des organes au cœur.

- **Muscle érecteur du poil**: Muscle permettant l'érection du poil.

- **Capillaires**: Vaisseaux sanguins permettant l'échange de divers nutriments et de déchets avec les cellules.

- **Pore de transpiration**: Trou minuscule par lequel s'échappent les gouttes de transpiration.

- **Terminaison nerveuse**: Partie de la peau permettant de capter le stimulus.

- **Les récepteurs cutanés** : Il se trouve au niveau du derme et de l'épiderme, son des terminaisons nerveuses aboutissent dans la racine postérieure du nerf rachidien [37].

II.3 : Type d'absorption des molécules :

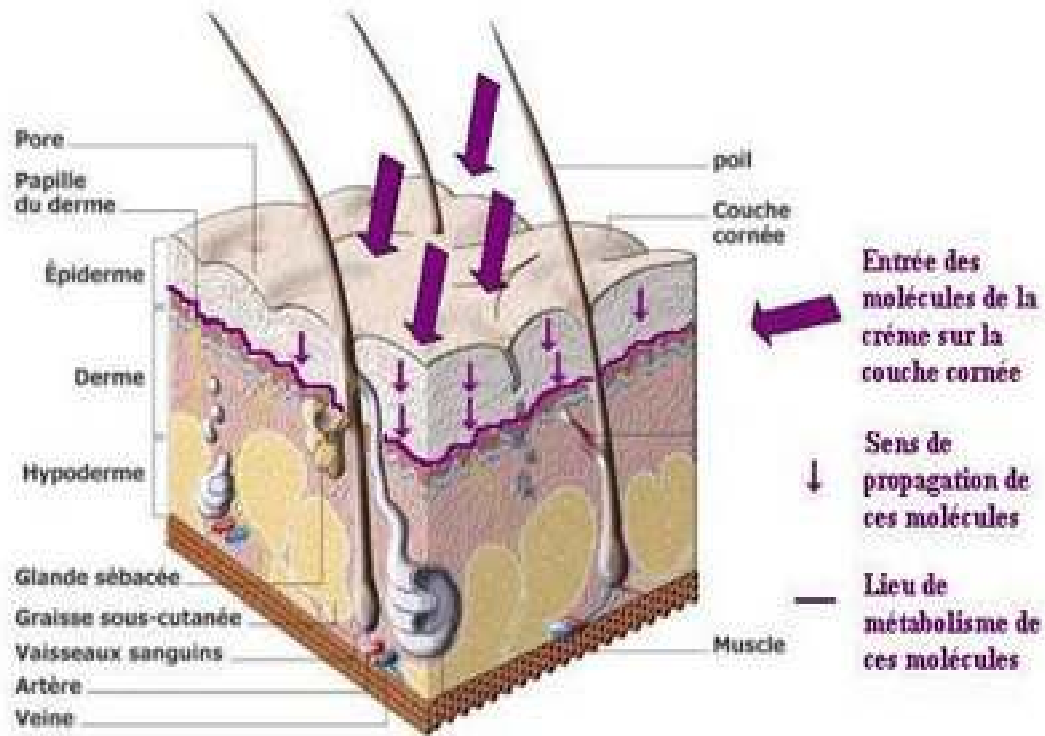
Le processus de contact entre l'épiderme et les différentes molécules se déroulent en trois étapes successives :

II.3 .1 :Contact entre la surface de la peau et les molécules : En effet, lors de l'étalement de la crème de soin sur la peau, différentes molécules entre en contact avec la partie superficielle de l'épiderme : la couche cornée ou stratum corneum*.

II.3 .2Pénétration : des molécules dans la couche cornée. Lors de cette étape, les molécules s'introduisent dans la couche cornée afin de la remplir. Elles se dirigent vers la profondeur.

II.3 .3Absorption : des molécules par le tissu vivant. Une fois que les molécules ont rempli

la couche cornée, elles sont absorbées par le tissu vivant puis elles sont dirigées vers le derme superficiel où elles subiront un métabolisme*, c'est-à-dire qu'elles vont agir et utiliser l'énergie afin de se renouveler [36].



• **Figure 7:** Schéma d'absorption des molécules d'une crème

II.2.4.Conclusion :

La peau est un organe à multiples facettes. C'est un organe frontière essentiel à la protection du corps face aux agressions de l'environnement ; c'est un organe de contact sensoriel et d'échanges thermiques, hydriques, essentiels au maintien de l'homéostasie. Il participe à la communication sociale ; c'est un organe miroir au niveau duquel se man. [16]

Introduction :

Il est essentiel l'hydrater sa peau pour en conserver l'élasticité naturelle et la souplesse, pour préserver l'intégrité du fragile film hydrolipidique qui la protège de l'agression des agents externes (froid et vent, air condition ou sec, etc.). Une crème hydratante est utile sur le visage comme sur le corps, voire sur les mains. Rappelons que la composition et les caractéristiques des crèmes destinées à ces diverses utilisations sont vraiment très différentes.

III.1.Définition :

Les crèmes hydratantes sont des produits cosmétiques qui apportent dans une certaine mesure une réponse pratique aux problèmes de la perte d'eau de la peau. Bien que l'eau soit l'ingrédient absent, dans les peaux sèches, application seule de l'eau n'est pas la solution car ceci a seulement un effet provisoire. Bien que l'huile soit également essentielle (elle sert à tenir l'eau dessus sur la surface de peau), elle ne peut pas également seul hydrater la peau.[16].

III.1.1.L'hydratation, processus naturel :

L'eau qui "hydrate" la peau provient du derme, situé en dessous de l'épiderme. Elle passe du derme à la couche cornée (couche en contact avec l'extérieur) par le processus dit de "perspiration insensible". La couche cornée est recouverte du film lipidique, mélange de graisse et de sueur, qui limite l'évaporation de l'eau en formant un film à la surface de la peau. Dans le film lipidique, on trouve également des Facteurs Naturels d'Hydratation qui retiennent l'eau comme de petites éponges

Cette "perspiration insensible" peut être perturbée par les variations climatiques, l'utilisation de produits de soin, l'état de santé, la pollution, le tabac, le soleil.

III.1.2.La crème hydratant :

La crème hydratante a donc pour mission de freiner l'évaporation de l'eau, sans l'arrêter. C'est une action préventive car aucun produit ne peut apporter de l'eau à la peau et l'irriguer comme un jardin.

On ignore souvent que 80% du vieillissement visible du visage est d'origine extérieure (soleil, tabac, pollution, alimentation déséquilibrée...), le vieillissement biologique n'intervenant que pour les 20% restant. [34]

III.2.Les différents types des crèmes cosmétique:

Il existe un grand nombre de types de crèmes cosmétiques, mais toutes sont des crèmes hydratantes, auxquelles on ajoute différents additifs selon l'effet recherché :

- *crème* hydratante pour le visage, crème de jour, crème de nuit.

- *crème* teintée donne à votre peau une tonalité uniforme et naturelle. elle harmonise, grâce à des substances végétales sélectionnées, le processus d'hydratation et de production de sébum. Grâce à son pouvoir légèrement couvrant, elle lisse les manifestations cutanées, typiques des peaux sensibles et réactives.
- *crème* pour le contour des yeux.
- *Crème* antirides ou anti-âge.
- *crème* pour le corps, crème pour le buste.
- *crème* pour les mains, crème pour les pieds.
- *crème* solaire, qui contient des filtres ultraviolets.
- *crème* après-soleil.
- *crème* amincissante ou raffermissant, crème anticellulite.

III.3. Les rôles des crèmes :

- Comme indiqué précédemment, le film hydrolipidique qui recouvre la peau est un mélange de sébum, de substance grasse et de sueur. Une crème hydratante a une composition inspirée de celle du film hydrolipidique. Cette émulsion, ce mélange homogène d'huile et d'eau vont jouer un double rôle dans l'hydratation * d'abord amener de l'eau : hydrater (c'est d'abord éviter la déshydratation) * ensuite éviter qu'elle ne reparte trop rapidement : c'est le rôle de la phase huileuse. [36].
- Bien sûr, le rôle de la crème hydratante ne s'arrête pas là. Nourrir la peau c'est lui amener des éléments extérieurs, soit qu'elle fabrique déjà, soit qu'elle ne fabrique pas. Il n'y a pas d'éléments (oligo-éléments, vitamines, acides gras essentiels qui font qu'une crème deviendrait la panacée. Le marketing agressif nous l'annonce régulièrement, mais la vérité est plus simple : il vous appartient de vous connaître, de prendre le temps de comprendre les bases du fonctionnement de votre organisme et dans ce cas de la peau, et de compléter vos besoins. Les éléments principaux ne sont pas nombreux et avec moins d'une dizaine de vitamines, d'Oglio éléments et d'acides gras essentiels, vous pouvez satisfaire votre peau.
- Améliorer l'hydratation de la couche cornée.
- Rétablir le FHL (Film Hydrolipidique) car la sécrétion sébacée diminue avec l'âge.
- Favoriser l'activité épidermique, pour corriger l'amincissement de l'épiderme.

III.4. Conseils d'utilisation :

Appliquez votre crème hydratante le matin sur votre peau (visage et cou) préalablement bien nettoyée. Faites ensuite pénétrer la texture en massant délicatement du bout des doigts. Pensez que la quantité de crème appliquée doit être entièrement absorbée par la peau.

III.5.Comment formuler une crème cosmétique :

Une crème est avant tout une émulsion, un peu comme une mayonnaise. On mélange une phase aqueuse (eau) avec une phase huileuse, un émulsionnant faisant ensuite le lien entre les deux phases pour assurer la stabilité de l'émulsion. Suivant le type de crème que l'on veut obtenir, on peut réaliser.[16].

Une émulsion « huile dans eau » : les gouttelettes d'huile sont en suspension dans l'eau. L'eau forme une phase continue dans laquelle sont incorporées les gouttelettes d'huile, constituant la phase discontinue. Puisque la phase continue est aqueuse, cette émulsion a un fort pouvoir nourrissant et hydratant, s'étale facilement et est absorbée rapidement. C'est une excellente crème de jour.

Une émulsion « eau dans huile » : les gouttelettes d'eau sont enfermées dans l'huile, cette dernière formant la phase continue. Un film lipidique se crée sur la peau. Une telle émulsion couvre les besoins de la peau en graisse et en eau, elle est mieux adaptée aux soins de nuit, c'est un soin plus protecteur. [16].

III.6.L'émulsion :

Une émulsion est formée de deux liquides non miscibles, dont l'un est finement réparti dans l'autre en gouttelettes dont le diamètre est généralement supérieur à 0.10 μ m. La phase dispersée est aussi appelée phase interne ou discontinue, et la phase dispersante peut être appelée phase externe ou continue. Selon la pharmacopée, les émulsions dans lesquelles la phase dispersée est lipophile (ex.: huile végétale ou minérale) et la phase dispersante hydrophile (ex.: eau) sont dites de type aqueux L/H; les émulsions dans lesquelles la phase dispersée est hydrophile et la phase dispersante lipophile sont quant à elles dites de type huileux H/L. [39]

III.6.1.Phase aqueuse :

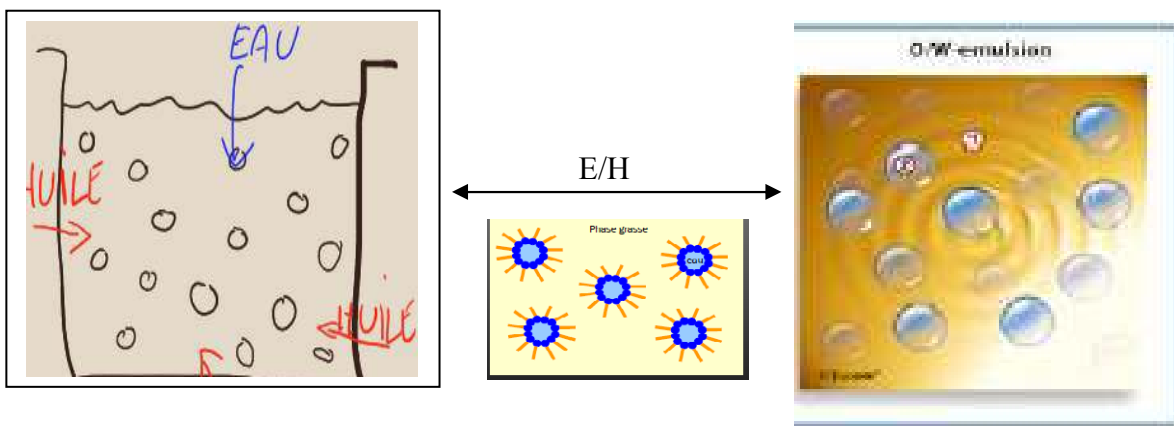
Composition de la phase aqueuse :

- Eau déminéralisée
- Agents de consistance : ce sont des polymères ayant la capacité de modifier le comportement rhéologique des formulations.
- Séquestrant : molécule spécialisée dans la capture et l'immobilisation des espèces ioniques issues des eaux de rinçage pour diminuer les risques d'oxydation.

- Humectant : il est ajouté afin de limiter la perte en eau du produit.
- Régulateur de pH : il permet d'ajuster le pH de la formule.
- Hydratant : il provoque un effet immédiat et à long terme d'hydratation cutanée.

Fonctions :

- Former l'une des phases émulsionnées.
- Accueillir les actifs, conservateurs et colorants qui sont hydrosolubles.
- Restaurer l'hydratation de l'épiderme par apport direct d'eau et d'agents hydratants pouvant fixer l'eau dans la couche cornée.
- Permettre le développement de polymères viscosants.



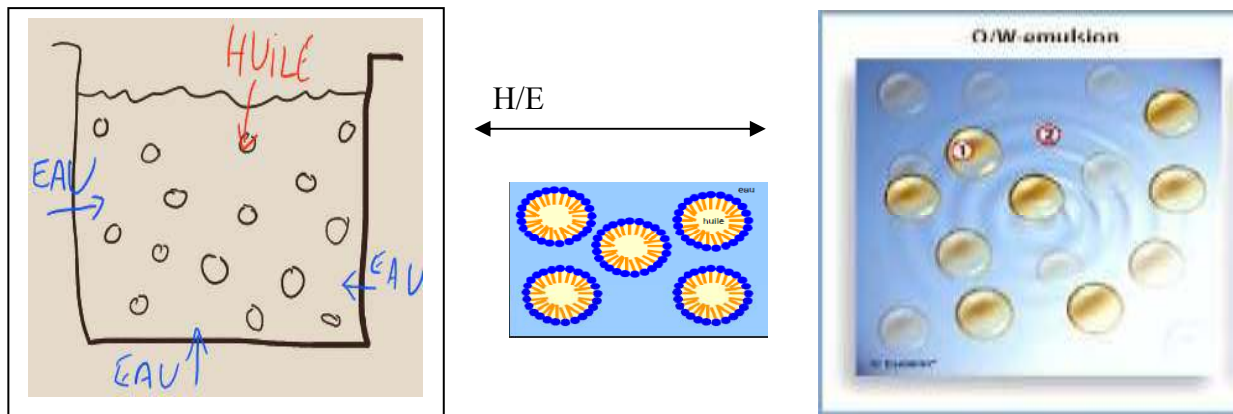
III.6.2.Phase grasse :

Composition de la phase grasse :

- Emollient : il nourrit la peau et joue sur le toucher et la texture du produit fini.
- Conditionneur : il forme un film sur la peau ou le cheveu pour limiter l'agression des tensioactifs.
- Emulsionnant : molécule amphiphile permettent la formulation de l'émulsion.
- Phase parfum : antioxydant, conservateur, solubilisant. [39]

Fonctions :

- Former l'une des phases émulsionnées.
- Accueillir les actifs, conservateurs, colorants liposolubles.
- Participer à la reconstruction du film hydrolipidique favorisant le maintien de l'hydratation de l'épiderme.
- Donner un toucher particulier à la formule



III.6. 3. Rupture de l'émulsion :

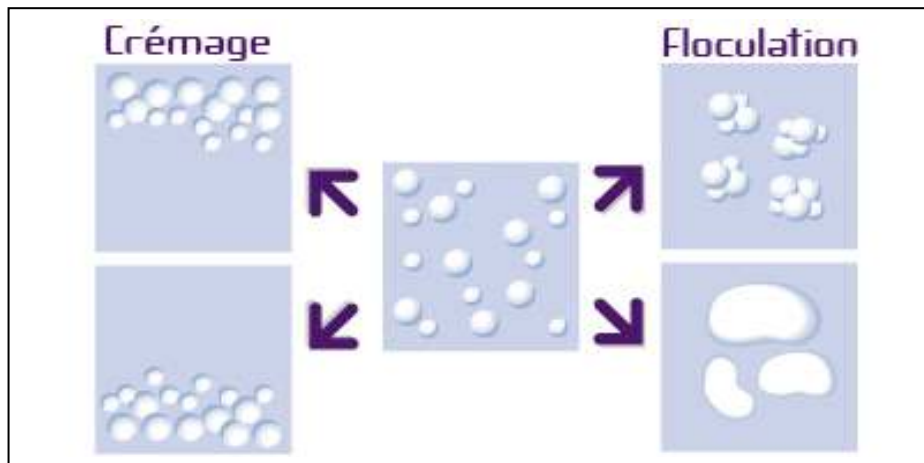
Une émulsion est rompue soit:

- par inversion de phase
- par crémage ou sédimentation
- par coalescence
- à la fois par coalescence et crémage ou sédimentation

La rupture de l'émulsion est une séparation complète qui se produit en deux étapes. Dans un premier temps, lors de la floculation, les gouttelettes de la phase dispersée forment des agrégats et chacun de ces agrégats conserve encore son identité; l'agrégation est réversible. Il y a seulement crémage ou sédimentation, donc l'homogénéité peut être facilement rétablie par simple agitation. Théoriquement, le crémage et la sédimentation sont des phénomènes réversibles, car il suffit en principe d'agiter modérément les préparations pour redistribuer les particules de façon homogène. Par contre, s'il y a coalescence, alors il y a rupture complète et irréversible de l'émulsion. Mais, il doit être compris que si la floculation constitue l'étape nécessaire à la coalescence des particules, elle n'est cependant pas une étape suffisante. Il n'est pas rare, en effet, de constater que des émulsions floculées restent stables pendant très longtemps sans présenter de coalescence. Le phénomène de coalescence dépend de la tension interfaciale entre les deux phases liquides. La tension interfaciale entre deux liquides tend à rendre la surface de séparation aussi petite que possible. En faisant une émulsion, on augmente la surface de séparation de façon considérable et ceci d'autant plus que les gouttelettes dispersées sont très fines. On accroît ainsi l'énergie libre du système, donc son instabilité. [39]

La vitesse de crémage ou de sédimentation d'une particule sphérique dans un milieu liquide et visqueux est exprimée par la loi de Stokes.

Un des facteurs les plus importants est le rayon des particules. L'opération d'homogénéisation a précisément pour but de réduire au maximum ce rayon et en même temps de le rendre aussi uniforme que possible; il en résulte alors une amélioration de la stabilité et un accroissement de la viscosité du milieu. D'autre part, le crémage sera d'autant plus spontané que la différence entre les densités des deux phases sera plus grande. Si la phase dispersée est plus dense que la phase continue, la vitesse de sédimentation est positive, c'est-à-dire que les globules huileux sédimentent vers le bas. Inversement, quand la phase dispersée a une densité moindre que la phase continue, la vitesse de sédimentation est négative, c'est-à-dire que les globules vont s'accumuler en surface. On peut réduire la vitesse de crémage (ou de sédimentation) soit en réduisant la dimension des globules par homogénéisation, soit en augmentant la viscosité de la phase externe par addition, en concentration appropriée, d'un agent épaississant. [40]



III.6.4. Les phénomènes d'instabilité des émulsions :

Tableau 5 : Les causes de l'instabilité des émulsions

| <i>Cause</i> | <i>Effet</i> | <i>Rende (solution)</i> |
|--------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Tension interfacial | Coalescence | Emulsion- ant (TA) |
| Pesanteur | Crémage sédimentation | Epaississant |
| Potential Electro cinétique | Flocculation | Electrolyte |
| T C° (temperature) | Inversion de phase | Changement de TA |
| Heterogeneities | Mûrissement | affinage |

III.7. Tensioactif :

Un tensioactif ou agent de surface est un composé qui modifie la tension superficielle entre deux surfaces. Les composés tensioactifs sont des molécules amphiphiles, c'est-à-dire qu'elles présentent deux parties de polarité différente, l'une lipophile (qui retient les matières grasses) et apolaire, l'autre hydrophile (miscible dans l'eau) et polaire.

Il permet ainsi de solubiliser deux phases non miscibles, en interagissant avec l'une apolaire (c'est à dire lipophile donc hydrophobe), par sa partie hydrophobe; tandis qu'avec l'autre phase qui est polaire, il interagira par sa partie hydrophile.

Au Canada notamment, on parle aussi de sur-factif, transposition du mot anglais *surfactant* qui est la compression de « *surface active agent* » (agent de surface actif). [41]

III.7.1. Propriétés des tensioactifs :

Les propriétés des tensioactifs sont dues à leur structure amphiphile. Cette structure leur confère une affinité particulière pour les interfaces de type huile/eau et eau/huile et donc, par là même, leur donne la capacité d'abaisser l'énergie libre de ces interfaces. Ce phénomène est à la base de la stabilisation de systèmes dispersés.

En tant qu'agents émulsifiants ou stabilisants, on peut détailler leur action en trois points:

- Ils facilitent la formation de gouttes en diminuant cette tension de surface, car l'énergie nécessaire à leur formation est directement proportionnelle à la tension de surface
- Ils stabilisent les gouttes formées en diminuant le gradient de pression au niveau de l'interface
- Ils stabilisent les gouttes vis à vis de l'agrégation, en apportant des répulsions électrostatiques ou/et stériques entre les gouttes. [42]

III.7.2. Fonctions des tensioactifs :

Les tensioactifs sont parfois dénommés selon la fonction qu'ils remplissent.

• Les détergents

Un détergent (ou agent de surface, détersif, surfactant) est un composé chimique, généralement issu du pétrole, doté de propriétés tensioactives, ce qui le rend capable d'enlever les salissures. La détersion est un élément d'hygiène fondamental, puisqu'il permet d'éliminer une grande partie des bactéries présentes sur les surfaces nettoyées, en particulier la peau, les ustensiles servant à la préparation et à la consommation des repas.

• Les agents moussants

La formation de mousse, dispersion d'un volume important de gaz dans un faible volume de liquide, nécessite la présence d'agents tensioactifs qui s'adsorbent à l'interface eau-air.

• Les agents mouillants

Le mouillage d'un solide par un liquide correspond à l'étalement du liquide sur le solide. En diminuant la tension superficielle, les agents mouillants permettent un plus grand étalement du liquide.

• Les agents dispersants

Les agents dispersants permettent de fixer les particules hydrophobes contenus dans une solution hydrophile, telle que de l'eau, ce qui permet de créer une dispersion, c'est-à-dire une solution aqueuse contenant des particules en suspension. Ces agents préviennent la floculation des particules, c'est-à-dire leur regroupement en plus grosses parties, qui pourraient alors facilement sédimenter dans le fond de la solution.

• Les émulsifiants

Un émulsifiant permet de mélanger deux liquides non miscibles, par exemple de l'eau et de l'huile. Un des liquides est dispersé dans le second liquide sous forme de petites gouttelettes.

III.7.3. Types de tensioactifs :

On distingue quatre types de composés tensioactifs, regroupés selon la nature de la partie hydrophile :

- Tensioactifs anioniques : leur partie hydrophile est chargée négativement.
- Tensioactifs cationiques : leur partie hydrophile est chargée positivement.
- Tensioactifs zwitterioniques ou amphotères : leur partie hydrophile comporte une charge positive et une charge négative, la charge globale est nulle.
- Tensioactifs non ioniques : la molécule ne comporte aucune charge nette. [41]

III.8. Production d'une crème à l'échelle industriel :

Les crèmes sont des émulsions fines, le plus souvent une phase discontinue huileuse dans une phase continue aqueuse (émulsion huile dans eau). Le procédé industriel consiste en une succession d'opérations. Par exemple pour une émulsion huile dans eau, on peut réaliser le logigramme de préparation (diagramme de production) suivant : [36]

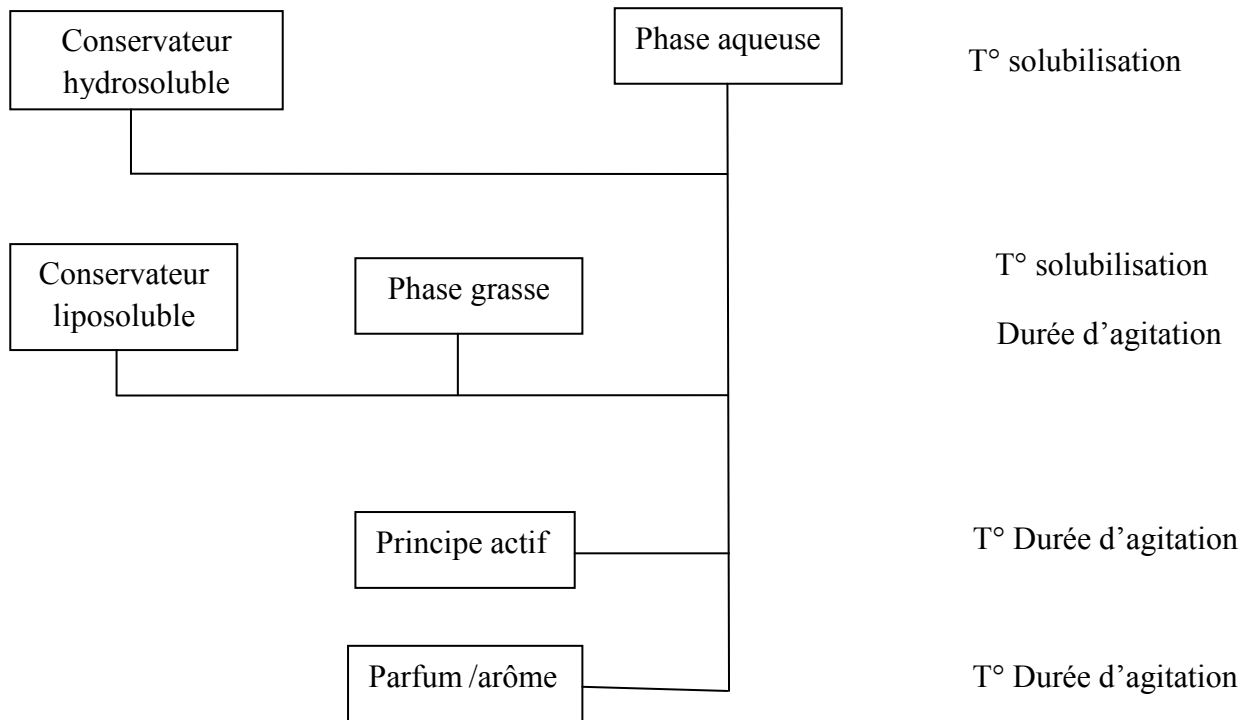


Figure 8 : processus industrielle d'une crème

III.9 structure générale des produits cosmétique :

Quelles que soient leurs formes (crèmes, gels, émulsion, etc.), les produits cosmétiques ont généralement tous la même structure :

III.9 .1 Principes actifs :

Substances actives qui assurent l'efficacité du produit. Le terme principe actif est couramment utilisé même si l'expression principe actif est normalement réservée aux médicaments, Différent du principe actif thérapeutique.

D'un point de vue pharmaceutique, la substance active (autrefois : principe actif) est celle qui dans un médicament possède un effet thérapeutique. Cette substance est, la plupart du temps, en très faible proportion dans le médicament par rapport aux excipients. Ce peut être une substance pure chimiquement définie (abusivement qualifiée de molécule) ou un mélange de plusieurs substances chimiquement proches (isomères) ou encore une substance définie par son mode

L'emploi du terme substance active a été étendu aux biocides et phytopharmaceutiques, mais aussi aux cosmétiques, voire à l'alimentaire. [36]

III.9.2 Excipient :

Support du principe actif. Par exemple dans une crème ce qui permet de véhiculer le principe actif c'est l'émulsion; dans une lotion c'est le solvant; dans le vernis à ongles c'est la résine. L'excipient est le vecteur ou véhicule du principe actif. Il permet au principe actif de parvenir là où il est censé agir. L'excipient n'interfère donc pas avec le principe actif. Les excipients possèdent parfois certaines propriétés cosmétologiques et peuvent alors jouer le rôle de substance active. L'excipient est toujours bien plus important en volume que les principes actifs. De plus, c'est lui qui définit la galénique du produit c'est-à-dire sa consistance (crème, gel...) et son aspect. Les excipients les plus utilisés sont les huiles, l'eau et l'alcool. Par exemple, l'amande douce, l'avocat ou le beurre de karité sont des excipients d'origine végétale. Les silicones sont un exemple d'excipient d'origine synthétique. Un pas défini par une composition chimique particulière mais par son utilisation, qui découle de ses propriétés physico- excipient n'est donc chimiques qui le rendent aptes à remplir son rôle d'excipient. [35]

III.9.3 Des additives :

En général ils sont rajoutés en faibles quantité (conservateurs, colorants, anti- oxydants, parfums, Quand il est utilisé comme un nom, un additif désigne une substance qui est introduite dans un mélange pour apporter une propriété spécifique.

III.9.4 Adjuvants (pour parfumer, faire mousser, etc.) :

Molécule qui favorise le rôle de l'excipient et du principe actif.

Un adjuvant est quelque chose ou quelqu'un qui aide à l'accomplissement d'un processus, renforçant ou ajoutant des propriétés recherchées. On utilise des adjuvants dans des domaines variés : en boulangerie, dans le bâtiment, cosmétique, etc.

III.9.5 Conservateur :

Un conservateur est défini comme toute substance capable de s'opposer aux altérations d'origines chimiques ou microbiologiques d'un produit, par exemple le parabène. [16]

III.9 5.1 Antibactériennes :

Un antibiotique (du grec anti : « contre », et bios : « la vie ») est une molécule qui détruit ou bloque la croissance des bactéries. Dans le premier cas, on parle d'antibiotique bactéricide et dans le second cas d'antibiotique bactériostatique. Un même antibiotique peut être bactériostatique à faible dose et bactéricide à dose plus élevée.

Un grand nombre d'antibiotiques sont des molécules naturelles, fabriquées par des micro-organismes, des champignons ou d'autres bactéries. Ces derniers les produisent pour éliminer les bactéries concurrentes avec les quelles ils sont en compétition dans leur biotope.

Les antibiotiques agissent de manière spécifique sur les bactéries, en bloquant une étape essentielle de leur développement : synthèse de leur paroi, de l'ADN, des protéines, production d'énergie. Ce blocage se produit lorsque l'antibiotique se fixe sur sa cible, une molécule de la bactérie qui participe à l'un de ces processus métaboliques essentiels. [16]

III.9.5.2 Antifongique :

Cette interaction entre l'antibiotique et sa cible est très sélective, spécifique des bactéries et ces composés ne sont en général pas actifs ni sur les champignons ni sur les virus. Il existe aussi d'autres molécules actives sur ces autres types d'agents infectieux que l'on appelle des **antifongiques** ou des antiviraux et qui sont distincts des antibiotiques.

III.9.6 Un colorant :

Est une substance utilisée en pour apporter une couleur à un objet à teinter.

III.9 .7 Un antioxydant :

Est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques.

III.9.8 Les émulsifiants :

Les émulsifiants, appelés parfois émulsionnants, stabilisent l'émulsion. Ce sont le plus souvent des tensioactifs ou agents de surface. Cependant, des particules solides (émulsions de Pickering), des polymères synthétiques ou des macromolécules biologiques peuvent aussi jouer ce rôle. Le jaune d'œuf sert d'émulsifiant dans la préparation de sauces en cuisine. Cette propriété est due à la lécithine qu'il contient. La lécithine se trouve également dans le soja et est très utilisée dans les préparations industrielles. La caséine est une protéine du lait qui est émulsifiante. [36]

IV .1 .Introduction :

Notre travail expérimental consiste à :

- Déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice ; il s'agit de la concentration de chitosane la plus faible pour laquelle la croissance bactérienne est inhibée.
- préparer une crème hydratante pour la peau au niveau de laboratoire physico-chimique microbiologique, VENUS-S.A.P.E.CO (la zone industrielle de Ouled Yaich Blida) et au laboratoire de la faculté de chimie industrielle de l'université de Blida. De plus, nous avons modifié cette formulation en ajoutant le chitosane qui a un effet thérapeutique et qui a été largement prouvé dans de précédentes recherches, ce qui nous laisse croire que cette crème aura un double effet , Un effet hydratant et un effet thérapeutique (anti fongique, antibactérien,)
- L'étude de la stabilité au cours de temps.

IV.2 .Etude du pouvoir antimicrobien et antifongique de chitosane :

IV.2.1 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Afin de pouvoir conclure sur la sensibilité d'une souche ; il faut déterminer sa CMI Par l'antibiogramme. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice

IV.2.2 Méthode de l'antibiogramme :

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de Pétri.

- **Principe :**

Pour cette méthode, nous utilisons des disques de papier Wattman, absorbants et stériles de 9 mm de diamètre. Imbibé de chitosane à différentes concentrations ($0.5g/l$, $0.75g/l$, $1g/l$), le disque sera déposé sur boîte de Pétri contenant un milieu gélosé préalablement inoculée et uniformémentensemencée par une suspension bactérienne ou fongique, (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus.aureus*, *Aspergillus Niger*, *Candidas albicans*).

Durant l'incubation, les souchesensemencées entreront en contact avec le chitosane et l'inhibition se traduira par une zone circulaire stérile (Zone d'Inhibition) dont le diamètre sera en fonction de la sensibilité ou de la résistance du germe. [47]

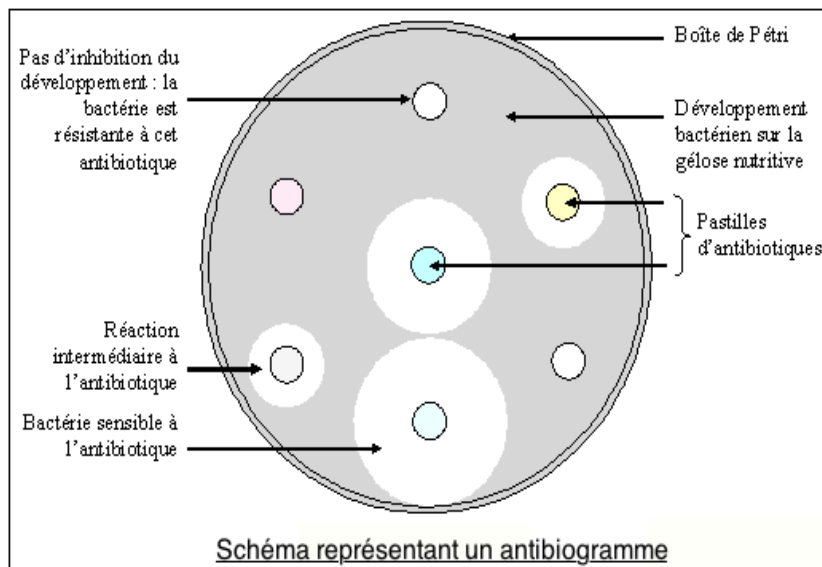


Figure 9 : Illustration de la méthode d'antibiogramme sur boîte de pétri [reference](#)

Mode opératoire :

Le protocole adopté est celui de la Pharmacopée européenne (2010), communément utilisés dans les laboratoires de microbiologie de l'entreprise VENUS.

• **Préparation de l'inoculum :**

- Réaliser une suspension microbienne à partir d'une culture jeune de bactéries (18-24h) ou de levure (48h), prélever quelques colonies isolées et incorporer dans 5 ml d'eau physiologique.
- Agiter et homogénéiser la suspension à l'aide de l'agitateur Vortex jusqu'à dissolution totale des colonies dans l'eau physiologique.
- Trois tubes de la solution de chitosan de concentration connue *0.5g/l, 0.75g/l, 1g/l*,
- Incuber les suspensions bactériennes et fongiques respectivement dans des étuves à 37 C° et 25 C° pendant **20 à 25 mn.**

• **Préparation des milieux de culture :**

- Liquéfier les milieux de cultures Muller Hinton pour les Bactéries) et Sabouraud (levures et moisissure) dans un bain mari à 95 C° et garder en surfusion dans une étuve à 45°C.
- Sous hotte à flux laminaire, verser aseptiquement les milieux de culture gélosés sur boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte.
- Laisser refroidir et solidifier à température ambiante, et conserver dans des conditions évitant toute modification de leur composition.

• **Ensemencement :**

- Imbiber aseptiquement un écouvillon avec la suspension microbienne.

- Essorer l'écouvillon en pressant fermement et en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger du surplus de suspension.
- Ensemencer aseptiquement une boîte de Pétri en frottant délicatement l'écouvillon sur la surface de la gélose en stries serrées.
 - **Dépôt des disques :**
- Prélever aseptiquement un disque stérile de 9 mm de diamètre avec une pince stérile.
- Mettre en contact le bout du disque avec la solution de chitosan de concentration connue, qui va être absorbée par le disque par capillarité.
- Déposer le disque ainsi imbibé de chitosane à la surface de la gélose, au centre de la boîte de pétri.
- Incuber les boîtes à 37°C durant 24h pour les bactéries et à 25°C durant 48h pour les levures et moisissure.
- Le chitosan à tester peut également être directement mélangées en concentration connue, sans oublier que les techniques de dilution exigent une dispersion homogène. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes et, après incubation, on note la présence ou l'absence de culture; la lecture peut être visuelle ou spectrophotométrique, car le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu. [49]

IV.2.3 Caractéristiques des souches testées :

Tableau 8 : les souches testées

| Souches test | Milieu de culture | Caractéristiques |
|-------------------------------|----------------------|---------------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Gélose mulher-Hinton | Bacille a Gram negative (B G N) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Gélose mulher-Hinton | Cocci a Gram positif (C G P) |
| <i>Aspergillus Niger</i> | Milieu sabouraud | Moisissures |
| <i>Candidas albicans</i> | Milieu sabouraud | Levure |

IV.3 Les composés de la formulation d'une crème hydratante:

IV.3 .1 Le principe active (le chitosane) :

IV.3 .1.1 Solubilité du chitosane :

Le chitosane est typiquement insoluble dans l'eau et les solutions alcalines. Il est cependant, solubles dans une solution d'acide dilué (exemples, l'acide sulfurique et à un moindre degré dans l'acide phosphorique. [43]

IV.3 .2 Les ingrédients entrant dans la phase aqueuse :

Tableau 7: résume le nom des ingrédients et, leurs caractéristiques et usages, selon lesquelles ils ont été choisis pour former la phase aqueuse.

| Nom d'ingrédient | Caractéristique | Usage |
|--|--|---|
| L'eau déminéralisée | Liquide incolore et inodore. | Solvant |
| Carbopol | Poudre blanche, a odeur caractéristique il se dispersé dans l'eau. | Il gélifie les formules en l'absence des sels et stabiliser la mousse |
| E.D.T.A (acide éthylène diamine tétracétique) | solide incolore à blanc, inodore | complexant |
| Allantoïne | Poudre fine, couleur blanche, aucun odeur. | Utiliser en cas de plaie ou brulure |
| Glycérine | Poudre blanche légèrement jaunâtre. Inodore | Utiliser comme additif pour prolonger le pouvoir hydratant d'une crème c'est un excellent adoucissant |

IV.3 .3 Les ingrédients entrant dans la phase huileuse :

Tableau 8: résume le nom des ingrédients et, leurs caractéristiques et usages, selon lesquelles ils ont été choisis pour former la phase huileuse

| Nom d'ingrédient | Caractéristique | Usage |
|---|---|--|
| Lanetteo (Cetyl-Stearyl Alcohol) | Paillètes blanche cireuses onctueuse au toucher | Agent Emulsifiant tension actif non anionique |
| EmulgineB1 (Cetereth-12) | Ecailles blanche incolore | Agent épaississant augment la consistance d'une émulsion |
| Huile d'amande douce | Liquide huileux, elle a une odeur agréable facilement adsorbe par la peau | Il très bénéfique pour la peau sèches |
| Huile de Vaseline | Liquide huileux incolore transparent | Utiliser pour le traitement des brulures |

Notre choix pour l'excipient a été motivé par des critères standardise (nature physique- chimique) et selon sa bonne tolérance cutanée.

IV.4 Choix du type d'émulsion:

Les émulsions sont généralement constituée d'une phase aqueuse, E, et d'une phase huileuse, H, si la phase dispersée est la phase huileuse, H, l'émulsion est dite directe, de type huile dans l'eau et on note (H/E).

Tandis que si la phase continue(ou phase externe) l'émulsion est inverse de type eau dans l'huile E/ H,

Dans ce type de crème on utilise l'emulsion (H/E), cette émulsion est très nourrissante, hydratante et protectrice car elle crée un film lipidique sur la peau, Formulation idéale pour nourrir les peaux

IV.5 Contrôle de la qualité microbiologique de la crème hydratante :

L'objectif est de vérifier que la crème hydratante répond aux exigences microbiologiques spécifiées dans les **monographies**.

Les analyses à effectuer se résument en la recherche et le dénombrement des germes aérobies viables totaux et la recherche des germes spécifiés.

IV.5.1 Equipement et matériel :

- Seringues de 5 et de 10 ml ;
- Instruments stériles : scalpel, ciseaux, spatules,... etc.
- Flacons à bouchons à vis de 16×125/ 20×150 mm stériles.
- Autoclave.
- Balance analytique.
- Boites Pétri 55 et 90 mm.
- Etuves bactériologiques de 22±2°C, 32±2°C et 48±2°.
- Compteur de colonies
- Poste de sécurité microbiologique de type II (hotte à flux laminaires avec filtre HEPA) Lampe ultra violet.

IV.5.2 Milieux de cultures :

- Agar de SABOURAUD
- Agar Plate-Count
- D/E Neutralizing Broth.

IV.5.3 Procédure de détermination:

L'essai a été effectué dans des conditions d'asepsie en un endroit exempt de contamination (lampe UV). Les manipulations ont été accomplies sous une hotte à flux laminaire.

La préparation des dilutions (1/10) s'effectue par dissolution de 10 g de la crème hydratante à analyser dans un flacon contenant 90 ml de diluant (solution tampon). **la quelle ???**

On aensemencé, en profondeur 2 boîtes Pétri stériles, avec 1 ml dans chacune, pour la dilution de 1/10. On a ajouté 10 à 15 ml de milieu de culture (PCA et Sabouraud) par la suite chaque boîte est portée à une température de 44 à 48°C. On a aussi bien homogénéisé pour une meilleure dispersion. Enfin on a incubé comme suit :

La première boîte de Pétri est incubée à 32°C pendant 72±06 heures pour détecté les bactéries aérobies mésophiles (milieu de culture sélectif Agar Plate- Count), l'autre boîte est incubée à 22°C pendant 5 jours pour détecter les levures et moisissures (milieu sélectif Agar SABOURAUD).

IV.6 Les paramètres physiques :

IV.6.1 Détermination du pH :

- une fois l'appareil étalonné, laver les électrodes d'abord à l'eau distillée.
- homogénéiser l'échantillon, en introduire un volume suffisant dans le récipient de mesure et y plonger les électrodes.
- vérifier que l'indication donnée par le pH-mètre est stable au bout d'une minute.
- Relever ensuite le pH.

IV.6.2 Mesure de la densité :

Définition :

C'est le rapport de la masse d'un volume d'extrait à 20°C, à celle du même volume d'eau distillée à 20°C.

Principe_:

La méthode la plus usuelle est la densimétrie. La densité du crème, exprimé en pourcentage de matières solides, peut se lire directement sur l'échelle Brix de la tige du densimètre.

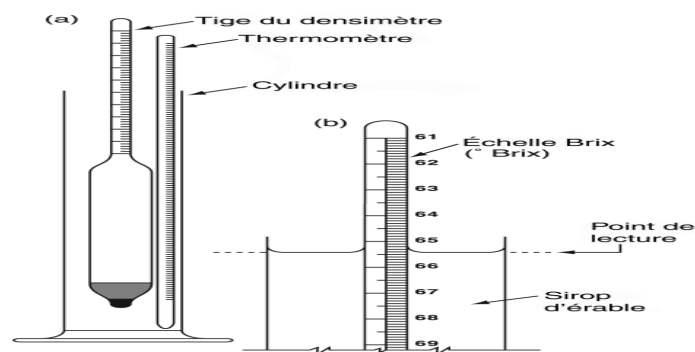


Figure 10: Représentation d'un densimètre **ref**

Densimètre normalisée correspondants caractéristiques essentiels suivants :

- Type à carène cylindrique.
- Lestage au mercure ou à la grenaille de plomb.
- Longueur total 23 à 25cm.
- Longueur de la graduation 10cm.
- Graduation par 0.001 avec lecture sous le ménisque.
- Eprouvette de 250ml.
- Thermomètre gradué on demi degré.

IV.6 .3Mesure de la viscosité :

Définition :

Est un instrument qui sert à mesurer la viscosité du fluide à des taux de cisaillement donné.

Viscosimètre à affichage digital, donnant une lecture directe de la viscosité.



Figure 11 : Représentation d'un Viscosimètre

Principe :

Le principe de fonctionnement du viscosimètre est de faire tourner une broche (après le choix du mobile et la vitesse de rotation) qui est immergé dans le liquide d'essai

La mesure de la viscosité (en centipoises ou secondes millipascal) est déterminée par la vitesse de rotation de la broche, la taille et la forme de la broche.

Références bibliographiques :

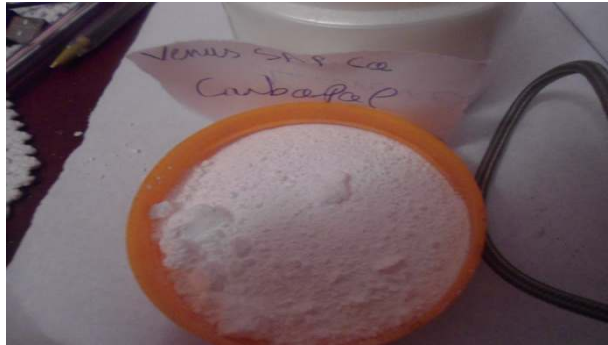
- [1] : Grégorio Crini , Pierre-Marie Badot. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies, Prog. Polym. Sci. (2007).
- [2]: Namasivivayam C, Radhika R, Suba S, Uptake of dyes by a promising locally available agricultural solid waste: coir pith. Waste Manage; (2001) 21:381.
- [3]: İlhan Uzun : Kinetics of the adsorption of reactive dyes by chitosane. Dyes and Pigments 70 (2006) 76- 83.
- [4] : Arai. L., Y. Kinumaki et T. Fujita. Toxicity of chitosan. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. (1968) 56 :SC.
- [5] : Nugraha Edhi Suyatama , Développement de films biodégradables à base de chitosane: Etudes du mélange chitosane/PLA, de la plastification et de la compatibilisation. Thèse de doctorat, Université de Reims, juin 2006.
- [6]: Attila E. Pavlath, Dominic W.S. Wong and George H. Robertson: Chitosan (Preparation, structure, and Properties).
- [7]: Ravi Kumar, Chitin and chitosan applications. M.N.V. React. Function. Polym., 46 (2000)1-27.
- [8]: Baldwin, E.A., Nisperos-carriedo, M.O., and Baker, R.A.. Use of edible coating to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. Food Science and Nutrition, 35 (6) (1995) 509-523.
- [9] : Roberts, G.A.F. Structure of chitin and chitosan. In: Chitin chemistry, edited by G.A.F. Roberts, Mac Millan Press, Houndmills. (1992) pp. 1-53.
- [10] : Caroline Creuzet, Rachel AuzélyVeltly et Marguerite Rinaudo : Synthèse et étude d'hydrogels thermosensibles obtenus par modification chimique contrôlée du chitosane. L'actualité chimique N° 294– février 2006.
- [11] :M. Jalal Zohuriaan-Mehr, Advances in Chitin and Chitosan Modification through Graft Copolymerization, Iranian Polymer Journal 14 (3),(2005) 235-265.
- [12]: H.K.NO, K.S.LEE, S.R. Meyers . Correlation between physicochemical characteristics and binding capacities of chitosan products. JFS: Journal of Food science – Vol.65, N°. 7, 2000.
- [13] : <http://www.ifrance.com/Kiefer/ES.Htm>.

- [14] : Fatiha Chellat Biocompatibilité, Biodégradabilité et influence de la stérilisation sur le complexe –Xantane. Thèse de Maîtrise Es Sciences appliquées (M-SC-A) Polytechnique de Montréal , Novembre 1999
- [15] :fermanandez kin
- [16]: Initiation à la cosmétologie : **Marie-Claude POELMAN**.
- [17] :Loiseleur 1963
- [18] : M. Fernandez Cervera, J. Heinamaki, M. Rasanen, S.L. Maunu, M. Karjalainen, O.M.
- [19]:] Rha, C. K., Rodriguez-Sanchez, D., & Kienzle-Sterzer, C. Novel applications of chitosan. In R. R. Colwell, E. R. Pariser, & A. J. Sinskey (Eds.), *Biotechnology of marine polysaccharides* Washington: Hemisphere(1984) pp. 284–311.
- [20] : **X. F. Liu et al 2001**
- [21] :p.laflamme et al 1999
- [22] : : Of Aquatic Food Product Technology,4, S. P. (1995) 27–52.(F. Devlieghere *et al* 2004) (H. Moller *et al* 2004) H. K. No *et al* 2002 et Coma *et al* 2003).
- [23] :S.Roller et N.covill 1999
- [24] : Barbara Krajewska, Membrane-based processes performed with use of chitin/chitosane materials. *Separation and Purification Technology* 41 (2005) 305-312.
- [25] :] Roberts, Preparation of chitin and chitosan. In: *Chitin Chemistry*, edited by G.A.F. Roberts, Mac Millan Press, Houndmills G.A.F (1992) pp. 54-84.
- [26] : (**X. F. Liu et al 2001**) (**Laflamme et al 1999**). K. M. Torr *et al* (2005).
- [27]: No, H. K., & Meyers. Preparation and characterization of chitin and chitosan. *Journal* .
- [28] :A. Bégin et M. R. V. Calsteren 1999, X. F. liu *et al* 2001, F. Devlieghere *et al* 2004, Caiqun Qin *et al* 2005, Y. Peng *et al* 2005, T. S.Yang *et al* 2005. Laflamme *et al* 1999, Bong kiu choi *et al* 2001)
- [29] :(Laflamme *et al* 1999, Roller et Covill 1999, I. M. Helander *et al* 2001, B. K. Choi *et al* 2001).
- [30] : R. Muzzarelli *et al* 2001). Roller et Covill 1999).
- [31] : (Y.C. Chung *et al* 2003).
- [32] : (H. K. Na *et al* 2002).

- [33] : [Muzzarelli (1988)].
- [34] : X. F. Liu 2001, W. Xie et al 2002.
- [35] : Of Aquatic Food Product Technology, 4, S. P. (1995) 27–52. (F. Devlieghere *et al* 2004) (H. Moller *et al* 2004) H. K. No *et al* 2002 et Coma *et al* 2003).
- [36]: **Marie-Claude martini** Introduction à dermopharmacie et à la cosmétologie » 2^e édition, LAVOISIER, 2006. Pp :41-47.73-83.
- [37]: **Aron tobar et robreert blair**: Nutritional cosmetics Beauty from within. Pp:254-256 .
- [38] : Gérard PEYREFITE 1. Biologie de la peau 2^e édition. Pp : 6-8.
- [39]: everett (d.h.) et koopal (l.k.). – http://www.iupac.org/reports/2001/colloid_2001/manual_of_s_and_t/ [3] de gennes (p.-g.), brochard-wyart (f.) et quere (d.). – *gouttes, bulles, perles et ondes*. belin, paris (2005).
- [40] : BTS-Ba&C 18 Industrie cosmétique, Sciences et Technologies Bioindustrielles
- [41]: BINKS (B.P.). – *Relationship between microemulsion phase behavior and macroemulsion Type in systems containing non-ionic surfactant*
- [42]:] FORSTER (T.), VON RYBINSKI (W.) et WADLE (A.). – *Influence of microemulsion phases on the preparation of fine-disperse emulsions*. FORSTER (T.), VON RYBINSKI (W.) et WADLE (A.). – *Influence of microemulsion phases on the preparation of fine-disperse emulsions*.
- [43]: Margurite Rinaudo, Michel Milas and Pham Le Dung : Characterisation of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. Int. J. Biol. Macromol , Vol . 15, (1993) October.
- [44]: M.L Duarte, M. C. Ferreira, M.R. Marvao, Joao Rocha : An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosane by FTIR spectroscopy. International Journal of Biological Macromolecules 31 (2002) 1-8.
- [45]: Wang, W. et D. Xu.. Viscosity and flow properties of concentrated solutions of chitosan with different degree of deacetylation, Int. J. Biol. Macromol., 16 (3) (1994). 149-1 52.
- [46]: Berth, G., H. Dautzenberg et M. G. Peter. Physico-chemical characterization of chitosans varrying in degree of acetylation. Carbo hydrate Polymers, 36 (1998) 205-2 18.
- [47] : (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012).
- [48] : (Pibiri, 2006).
- [49] : (BOUSBIA, 2004).

ANNEXE 01:

Carbopol



↻ Caractéristiques :

Poudre blanche présentant une légère odeur acétique

↻ **Nom INCI :** Carbomer.

↻ **Solubilité :** Insoluble, se disperse dans l'eau

↻ **Conditions de stockage :** à conserver à l'abri de l'humidité.

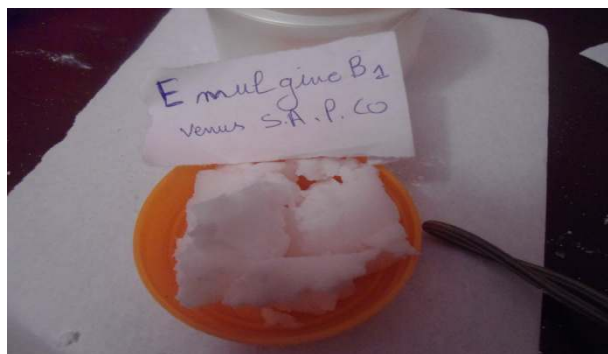
↻ **Conditions d'emploi**

À incorporer de 0.2 à 0.5%. Gélifiant stabilisant possédant d'excellentes propriétés de mise en suspension,

↻ **PH d'utilisation :** 5-10

ANNEXE 02:

Emulgin B1



- ↻ **Nom INCI :**(Cetereth-12)
- ↻ **N ° CAS:** 68439-49-6
- ↻ **apparence:** pellets
- ↻ **Point d'éclair :** 249,00 °C
- ↻ **Couleur:** Blanc à jaunâtre
- ↻ **L'utilisation :**
- ↻ Cetareth-20. Utilisé dans émulsions H / E cosmétiques. Agit comme un émulsifiant non-ionique.
Neutralisation : ajouter une quantité suffisante d'agent neutralisant pour atteindre le pH
- ↻ Applications / Recommandé
- ↻ **Point Stabilité :** Ce produit est stable
- ↻ **Conservation :**
- ✓ Conserver dans un récipient hermétique, à l'abri des matières oxydantes.
- ✓ Conserver dans un endroit frais, sec et bien ventilé.
- ✓ Conserver à l'écart de toute source de chaleur

ANNEXE 03:

Lanette o



- ↻ **Formule moléculaire brute :** $C_{14}H_{30}O$
- ↻ **Apparence :** Solide sous forme de cristaux ,plaquettes, blanc
- ↻ **Principaux synonymes**

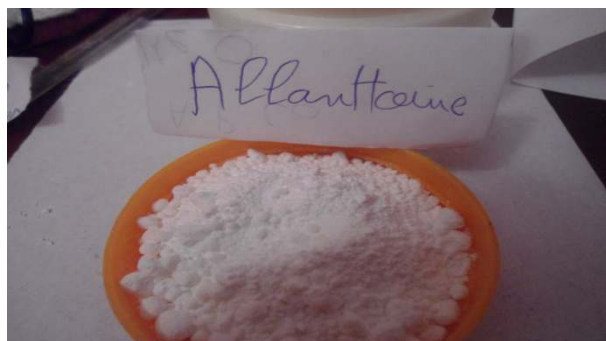
Noms français : A myristylique, alcool myristique, Alcool tetradecylique

Noms anglais : -TETRADECANOL, Myristic alcohol

- ↪ **État physique** : Solide
- ↪ **Masse moléculaire** : 214,44
- ↪ **Densité** : 0,834 g/ml à 20 °C
- ↪ **Solubilité dans l'eau** : Insoluble
- ↪ **Densité de vapeur (air=1)** : 7,39
- ↪ **Point de fusion** : 39,5 °C
- ↪ **Point d'ébullition** : 263,2 °C
- ↪ **Tension de vapeur** : 0,01 mm de Hg (0,00133322 kPa) à 20
- ↪ **Concentration à saturation** : 13,1578 ppm
- ↪ **Facteur de conversion (ppm->mg/m³)** : 8,771
- ↪ **Stabilité** : Ce produit est stable
- ↪ **Incompatibilité** : Ce produit est incompatible avec ces substances: Les agents oxydants forts, les chlorures d'acides, les anhydrides d'acides
- ↪ **Conservation** :
 - ✓ Conserver dans un récipient hermétique, à l'abri des matières oxydantes.
 - ✓ Conserver dans un endroit frais, sec et bien ventilé.
 - ✓ Conserver à l'écart de toute source de chaleur
- ↪ **Effets aigus** : Irritation possible yeux, peau, voies respiratoires et digestive

ANNEXE 04:

Allantoïne

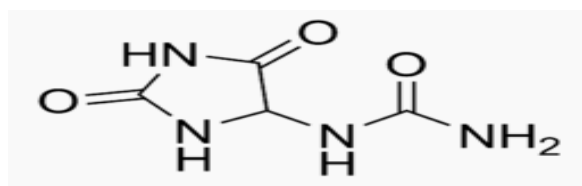


L'allantoïne est un composé chimique azoté, de formule $C_4H_6N_4O_3$, d'origine organique ou végétale découvert par Louis-Nicolas Vauquelin dans le liquide amniotique de la vache; il a été trouvé également dans l'urine du veau (Friedrich Wöhler) puis chez de nombreux mammifères à l'exception des grands primates (dont l'Homme). L'industrie cosmétique utilise l'allantoïne extraite du mucus de certains gastéropodes (escargots). Chez les végétaux, on en trouve dans les racines de la grande consoude.

L'allantoïne est le produit de l'oxydation de l'acide urique.

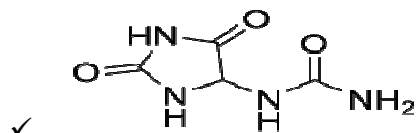
↪ **Synonymes** : Ureidohydantoin , Glyoxyldiureide ,Hemocane ,5-ureidohydantoin

↪ **Formule chimique** :



- ✓ **Aspect** : poudre fine
- ✓ **Couleur** : blanche
- ✓ **Odeur** : aucune
- ✓ **Dénomination INCI** : allantoïne

↪ **Structure chimique**



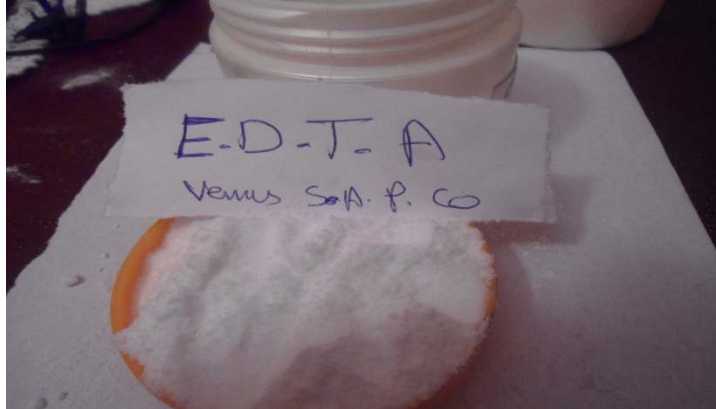
↪ **Propriétés** :

L'allantoïne est présente naturellement dans le corps humain où elle provient de la dégradation de l'acide urique par des enzymes. Elle est reconnue pour ses vertus :

- ✓ Apaisante
- ✓ Hydratante
- ✓ Cicatrisante et réparatrice
- ✓ Régénérant
- ✓ Adoucissante
- ✓ Régule les sécrétions de sébum, anti-transpirant
- ✓ Déodorant peaux sensibles

ANNEXE 04:

E.D.T.A



L'EDTA comporte six sites basiques, quatre correspondant aux bases conjuguées (carboxylates) des fonctions carboxyliques et deux correspondant aux fonctions amines. Ces sites basiques sont également des centres ligands, sa principale caractéristique, son fort pouvoir chélatant(ou complexant) par lequel il forme des complexes métalliques très stables, ce qui en fait un poison. Dans les complexes, l'EDTA est lié aux cations métalliques sous la forme d'une de ses bases conjuguées

- ↗ **Dénomination INCI** : acide éthylène-diamine-tétraacétique
- ↗ **Apparence** : solide incolore à blanc, inodore
- ↗ **Formule brute** : $C_{10}H_{16}N_2O_8$ [Isomères]
- ↗ **Masse molaire** : $292,2426 \pm 0,0119$ g/mol
C 41,1 %, H 5,52 %, N 9,59 %, O 43,8 %,
- ↗ **T° fusion** 245 °C (décomposition)
- ↗ **Solubilité** 1 g·l⁻¹ (eau, 25 °C) 400 mg·l⁻¹ (eau, 20 °C)
- ↗ **Masse volumique** 0,86 g·cm⁻³ (20 °C) ⁴
- ↗ **T° d'auto-inflammation** > 200 °C
- ↗ **Pression de vapeur saturante** :< 0,013 mbar (20 °C) ⁴

ANNEXE 05:

Glycérine



Le glycérol, ou glycérine, est un composé chimique de formule $\text{HOH}_2\text{C}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$.

C'est un liquide incolore visqueux et inodore au goût sucré et faiblement toxique, utilisé dans de nombreuses compositions pharmaceutiques. Sa molécule possède trois hydroxyles correspondant à trois fonctions alcool responsables de sa solubilité dans l'eau et de sa nature hygroscopique. Un résidu glycérol constitue l'articulation centrale de tous.

↳ Apparence :

Le glycérol se présente sous la forme d'un liquide transparent, visqueux, incolore, inodore, non toxique et au goût sucré.

↳ La solubilité :

Le glycérol peut se dissoudre dans les solvants polaires grâce à ses 3 groupes hydroxyles. Il est miscible dans l'eau et l'éthanol ; et insoluble dans le benzène, le chloroforme et le tétrachlorométhane.

↳ Propriétés chimiques :

Dans les organismes vivants, le glycérol est un composant important des glycérides (graisses et huiles) et des phospholipides. Quand le corps utilise les graisses stockées comme source d'énergie, du glycérol et des acides gras sont libérés dans le sang.

↳ Autre propriété :

Le glycérol a un goût sucré de puissance moitié moindre que le saccharose, son pouvoir sucrant est de 0,56-0,64 à poids égal

Le glycérol a des propriétés laxatives et diurétiques faibles

Comme d'autres composés chimiques, tels que le benzène, son indice de réfraction (1,47) est proche de celui du verre commun (~1,50), permettant de rendre « invisibles » des objets en verre qui y seraient plongés.

↳ Utilisation :

- ↻ Dans les cosmétiques, le glycérol est souvent utilisé comme agent hydratant, solvant et lubrifiant.
- ↻ Il a meilleur goût et est plus soluble que le sorbitol qui le remplace souvent.
- ↻ Utilisé dans les dentifrices, les bains de bouche, les crèmes hydratantes, les produits capillaires et les savons.

ANNEXE 06:

L'huile d'Amandes douces



- ↻ **Dénomination INCI** : prunus amygdalus dulcis oil
- ↻ **N° CAS** : 8007-69-0
- ↻ **Description** :

L'huile d'Amandes est obtenue par le pressage des graisses de l'arbre «PRUNUS AMYGDALUS ».

- ↻ **Caractéristiques** :
- ↻ **Densité relative a 20 °C** :0.910 - 0.920
- ↻ **Indice d'acide** (mg KOH/g) < 2
- ↻ **Indice de peroxyde** (meq O2/kg) < 5
- ↻ **Indice de refraction a 20 °C** 1.461 - 1.473
- ↻ **Indice de saponification** (mg KOH/g) 185 – 200
- ↻ **Indice d'iode** (gl/100g) 92 – 109
- ↻ **Point de congélation** (°C) < - 10
- ↻ **Composition en Acides Gras (%)** :

C16 3.0 - 9.0 C18:3 \leq 0.4

C16 1 \leq 2 C20 \leq 0.5

C18 2 20 - 30

C18 \leq 3.0 C20:1 \leq 0.5

C18 1 60 - 86 C22 \leq 0.2

↪ **Applications :**

L'huile d'amande douce, riche en acide oléique, est connue depuis longtemps pour ses propriétés dermatologiques. Elle contient de la vitamine D et est très bénéfique pour les cheveux, la peau sèche et les ongles cassants. On l'utilise L'huile d'amande douce est utilisée en cosmétique pour adoucir et hydrater la peau en dermatologie, l'huile d'amande douce permet de réduire les inflammations cutanées.

↪ **Stabilité**

L'huile d'amande douce est stable, se conserve au sec, à l'abri de la chaleur et de la lumière

↪ **Conditionnement :**

Fut de 190 Kg. Tonnelet de 50 Kg.

ANNEXE 07:

Turbo-émulseur



Principe de fonctionnement :

Turbo-émulseur sous vide modèle DUMOTURBO 1000 ayant le mélangeur lent de type CO-AXIAL (contre-rouant) ;

Soit équipé, en standard, des caractéristiques suivantes:

- ✓ Bâti réalisé en acier inoxydable poli Scotch Brite. INCLUS
- ✓ Cuve basculante. INCLUS
- ✓ Vanne de vidange de la cuve. INCLUS
- ✓ Système de chauffage par résistances électriques. INCLUS
- ✓ Chemise de calorifugeage de la cuve. INCLUS
- ✓ Variation électronique de la vitesse du mélangeur lent. INCLUS
- ✓ Groupe d'homogénéisation en fond de cuve. INCLUS
- ✓ Circuit du vide. INCLUS

1. <http://encyclopedia.thefreedictionary.com/Carbopol>.

Sci., 1997, 7, 403–437.

3. M. Paulsson et K. Edsman, J. Pharm. Sci., 2001, 90, 1216-1225.

1. <http://encyclopedia.thefreedictionary.com/Carbopol>.

4. R. Barreiro-Iglesias, C. Alvarez Lorenzo et A. Concheiro, J. Control Release, 2001, 77, 59-75.

5. C. Alvarez-Lorenzo et A. Concheiro, Amer. J. Drug Delivery, 2003, 1, 77-101.

6. R. J. Majithiya, P. K. Ghosh, M. L. Umrethia et R.S.R. Murthy, AASP PharmSciTech, 2006, 7, E67, 1-7.

7. Z. Pavelic, N. Skalko-Basnet, J. Filipovic-Grcic

Références

Autres sources d'information

- Lide, D.R. , *CRC handbook of chemistry and physics*. 73rd ed. Boca Raton, Fla : CRC Press. (1992). [RS-014001]
- Lewis, R.J., *Sax's dangerous properties of industrial materials*. Vol. 1, 8ème éd. New York : Van Nostrand Reinhold. (1992). [RR-014005]
- Lenga, R.E. et Votoupal, K.L., *The Sigma-Aldrich library of regulatory and safety data*. Vol. 1. Milwaukee : Sigma-Aldrich. (1993). [RM-515040]
- Budavari, S. et O'Neil, M., *The Merck index : an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*. 11th ed. Rahway (N.J.) : Merck. (1989). [RM-403001]
- Hawley, G. G., Sax, N. I. et Lewis, R. J., *Hawley's condensed chemical dictionary*. 11th ed. rev. New York : Van Nostrand Reinhold. (1987). [RS-407001]
- Sice, J., «Tumor-promoting activity of N-alkanes and 1-alkanols.» *Toxicology and applied pharmacology*. Vol. 9, p. 70-74. (1966). [AP-006502]
- *Contact Dermatitis*, VOL. 19, NO. 1, 1988, P.76-77 [AP-019234]
- *Journal of the American College of Toxicology*, VOL. 7, NO. 3, 1988, P. 359-413 [AP-019947]

- Hjorth, N. et Trolle-Lassen, C., «Skin reactions to ointment bases.» *Transactions of the St-John's Hospital Dermatological Society* . Vol. 49, p. 127-140. (1963). [AP-025304]
- Fulton, J.E., «Comedogenicity and irritancy of commonly used ingredients in skin care products.» *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*. Vol. 40, no. 6, p. 321-323. (1989). [AP-031243]

V.1 Résultats de l'antibiogramme :

Le diamètre des zones d'inhibitions relevées, varie de 10 à 15 mm Observée pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* et *Aspergillus Niger* respectivement

La concentration 1g/l présente une activité bactéricide forte avec une zone d'inhibition de plus de 14 mm La concentration 0,75 g/L moins actives. La concentration 0,5 g/L n'a révélé aucune activité comme le montre le tableau suivant :

Tableau 9 : Diamètre d'inhibition de quelques souches fongiques

| <i>Souches fongiques</i> | <i>Diametre D'Inhibition à 1g/l</i> | <i>Diametre D'Inhibition à 0,75 g/l</i> | <i>Diametre D'Inhibition à 0.5 g/l</i> |
|-------------------------------|-------------------------------------|---|--|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 10 mm | 2mm | 0 mm |
| <i>S .aureus</i> | 14 mm | 0 mm | 0 mm |
| <i>Aspergillus Niger</i> | 15 mm | 3 mm | 0 mm |
| <i>Candidas albicans</i> | 12 mm | 5 mm | 0 mm |



Photo1 :candidas Albiicans



photo2 :A.niger



photo3 :S.aureus



photo4 :P.aeruginosa

V.2 Préparation de la crème :

Cette partie est indispensable pour maîtriser l'influence de tous les constituants et de choisir un intervalle convenable pour effectuer la formulation. Elle consiste à faire des formulations primaires d'émulsion avec les produits proposés par le fournisseur.

Dans un premier temps nous avons essayé de préparer une crème à même propriétés physico-chimiques que la formule type des laboratoires VENUS mais à petite échelle, en utilisant la verrerie et les matériels du département de chimie industriel de l'université Saâd DAHLAB de Blida.

Par la suite, nous avons modifié la formule type classique de la crème en utilisant comme principe actif le chitosane.

1^{ère} Expérience :

1) L'objectif :

C'est la création d'une formule de base.

2) La Formule :

Tableau 10 : Le pourcentage et les ingrédients entrant dans l'expérience n°1

| Produit | Concentration (%) | Quantité pour 100g |
|--|-------------------|--------------------|
| Composition de la phase n°1 : Phase huileuse | | |
| Lanette O | 0.1% | 1g |
| Emulgine B1 | 0.4% | 4g |
| Vaseline | 1% | 10g |
| L'huile d'amande douce | 0.5% | 5g |
| Composition de la phase n°2 : Phase aqueuse : | | |
| Carbopol | 00.8% | 0.8g |
| E.D.T.A | 0.1% | 1g |
| GLycerine | 0.6% | 6g |
| Allantoïne | 0.05% | 0.5g |
| Eau déminéralisé | 7.02% | 70.2g |
| la Phase n°3 :Additif +Regulateur | | |
| Vitamine E | 0.05 % | 0.5g |
| TEA | 0.1 % | 1g |

2.1) Préparation de la phase huileuse :

On a déposé dans un bécher la quantité appropriée de vaseline, huile d'amande douce, lanette O et l'Emulgin. Le tout a été chauffé jusqu'à $T = 80\text{ C}^\circ$ pendant 20 minutes.

2.2) Préparation de la phase aqueuse :

On a disposé dans un deuxième bécher l'eau, glycérine, carbopol, E.D.T.A et l'allantoïne. On a chauffé jusqu'à $T = 80\text{ C}^\circ$ pendant 20 minutes.

Les deux phases sont soumises à une agitation rapide. Après fusion complète des différents ingrédients, la phase huileuse sera versée dans la phase aqueuse et laissée refroidir. Quand le mélange est tiède ($35\text{-}40\text{ C}^\circ$), nous ajoutons TEA avec un compte goutte sous agitation continue.

Le protocole de fabrication est celui d'une émulsion classique indiqué dans la figure N°12

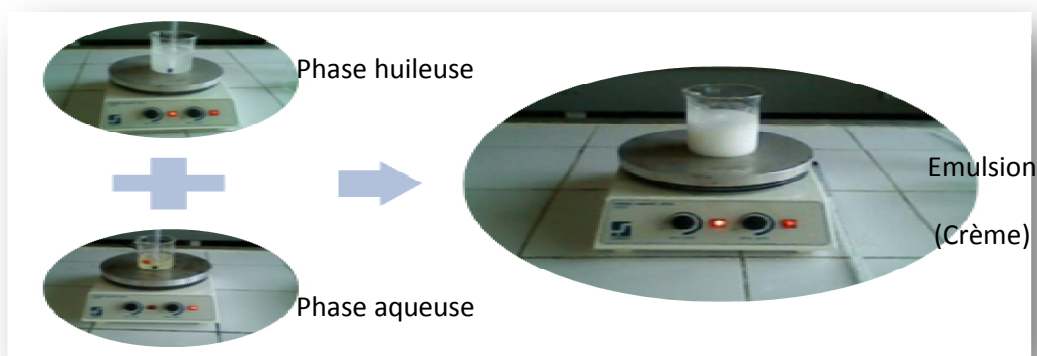


Figure 12: Préparation de la crème

V.2.1 Contrôles physico-chimiques et organoleptique du produit

Les contrôles organoleptiques réalisés se résument à apprécier l'odeur, la couleur et l'aspect de notre crème. Les contrôles physico-chimiques sont basés sur la mesure du pH, de la

A. La viscosité ($5500 \leq \text{viscosité} \leq 6500$) centpoise)

La viscosité a été mesurée par le viscosimètre rotatif "mobile 7 réglé à une vitesse 20 (Fig. 13).



Figure 13: Viscosimètre : Customer calibration record "mobile 7"

B. Détermination du pH :

- Crème hydratant ($5,5 \leq \text{pH} \leq 6,2$)



Figure14:pH-mètre

3) Résultat:

Le tableau suivant Résume les différents résultats et observation obtenu pour l'expérience n°1.

Tableau 11: Résultats physico-chimiques et organoleptiques.

| Paramètre de contrôle | Méthodes | Résultats |
|-----------------------|--|---------------------|
| Couleur | Contrôle visuel | Blanc |
| Odeur | Contrôle olfactif | Odeur spécifique |
| Aspect | Contrôle visuel | Crème très visqueux |
| Ph | PH mètre ($5,5 \leq \text{pH} \leq 6,2$) | 5,8 |
| Viscosité | Viscosimètre ($5500 \leq \text{viscosité} \leq 6500$) cps | 6900 cps |
| Densité | Densimètre $0.90 <\text{densité}> 1.03$ | 0.99 |

En utilisant la vaseline, la formule ne donne pas une crème mais une pate qui contient beaucoup de suspension solide et se solidifie avec le temps. Pour remédier à cela, nous avons remplacé la vaseline par l'huile de vaseline en diminuant la concentration de TEA.

2^{ème} Expérience :

1) L'objectif :

Utilisation de l'huile de Vaseline pour éviter la formation de suspension solide et se solidifie avec le temps.

2) La Formule :

Tableau 12 : Le pourcentage et les ingrédients entrant dans l'expérience n°2

| Produit | Concentration (%) | Quantité pour 100g |
|--|-------------------|--------------------|
| Composition de la phase n°1 : Phase huileuse | | |
| Lanette O | 0.1% | 1g |
| Emulgine B1 | 0.4% | 4g |
| L'huile de Vaseline | 0.7% | 7g |
| L'huile d'amande douce | 0.6% | 6g |
| Composition de la phase n°2 : Phase aqueuse : | | |
| Carbopol | 0.08% | 0.8g |
| E.D.T.A | 0.1% | 1g |
| Glycérine | 0.6% | 6g |
| Allantoïne | 0.06% | 0.6g |
| Eau déminéralisé | 7.12% | 71.20g |
| la Phase n°3 :Additif +Regulateur | | |
| Vitamine E | 0.1 % | 1g |
| TEA | 0.05 | 0.5g |

2.1) Préparation de la phase huileuse :

On a déposé dans un bécher la quantité appropriée d'huile de vaseline, huile d'amande douce, lanette O, et l'Emulgine B1 le tout a été chauffé jusqu'à T= 80 C° pendant 20 minutes.

2.2) Préparation de la phase aqueuse :

On a disposé dans un deuxième bécher les mêmes ingrédients que l'expérience n°1 et a même protocole.

3) Resultat :

Tableau 13 : les différents résultats et observation obtenu.

| Paramètre de contrôle | Méthodes | Résultats |
|-----------------------|------------------------------|------------------|
| Couleur | Contrôle visuel | Blanc |
| Odeur | Contrôle olfactif | Odeur spécifique |
| Aspect | Contrôle visuel | Crème visqueux |
| Ph | PH mètre (5.5 ≤ pH ≤ 6.2) | 5.9 |

| | | |
|-----------|---|----------|
| Viscosité | Viscosimètre (5500 ≤ viscosité ≤ 6500) cps | 6200 cps |
| Densité | Densimètre 0.90<densité>1.02 | 1.041 |

Après refroidissement complet du mélange nous avons obtenu une crème hydratante brillante très homogène

Le développement de la formulation de la crème au niveau des laboratoires universitaire, et de constater sur terrain les difficultés pratiques pour réaliser cela.

3^{ème} Expérience :

1) L'objectif :

Nous avons introduit le chitosane comme principe actif, au lieu de l'allantoïne, dans la formulation de notre crème. Toutefois, cette étape a nécessité l'optimisation du processus.

2) La Formule :

Tableau 14 : Le pourcentage et les ingrédients entrant dans l'expérience n°3

| Produit | Concentration (%) | Quantité pour 100g |
|--|-------------------|--------------------|
| Composition de la phase n°1 : | | |
| Phase huileuse | | |
| Lanette O | 0.1% | 1g |
| Emulgine B1 | 0.4% | 4g |
| L'huile de Vaseline | 0.7% | 7g |
| L'huile d'amande douce | 0.6% | 6g |
| Composition de la phase n°2 : | | |
| Phase aqueuse : | | |
| Carbopol | 0.08% | 0.8g |
| E.D.T.A | 0.1% | 1g |
| Glycérine | 0.6% 0.5% | 6g |
| Chitosane | 0.1% | 1g |
| Eau déminéralisé | 7.00% | 70.0g |
| la Phase n°3 :Additif +Regulateur | | |
| Parfum | 0.1 % | 1g |
| TEA | 0.05 % | 0.5g |

2.1) Préparation de la phase huileuse :

Une quantité appropriée de 1 ml d'huile de vaseline, huile d'amande douce, lanette O, et l'Emulgine B1 a été chauffé jusqu'à une température de 80 C° pendant 20 minutes.

2.2) Préparation de la phase aqueuse :

L'eau, glycérine, carbopol ,chitosane ,E.D.T.A et vitamine E ont été chauffé jusqu'à température de 80 C° pendant 20 minutes.

Les deux phases sont soumises à une agitation rapide. Après fusion complète des différents ingrédients, la phase huileuse sera versée dans la phase aqueuse par petites fractions en mélangeant entre chaque deux adjonction, et cela jusqu'au refroidissement. Quand le mélange est tiède (35-40°C), nous ajoutons TEA avec un compte goutte sous agitation continue.

3) Résultat :

- La température très élevée elle influencer sur les propriétés de chitosane Par le changement de la couleur blanc de chitosane vers la couleur jaune voire la figure n°1.



Figure 15: présentation de la crème

4^{ème} Expérience :

1) L'objectif :

Garder les propriétés physique chimique et microbiologique de chitosane par une petite modification sur la formulation, On met tous les ingrédients de la phase aqueuse sauf le chitosane , après 20min de l'agitation a température 80°c on met le chitosane.

2) La Formule :

Tableau 15 : Le pourcentage et les ingrédients entrant dans l'expérience n°4

| Produit | Concentration (%) | Quantité pour 100g |
|--------------------------------------|-------------------|--------------------|
| Composition de la phase n°1 : | | |
| Phase huileuse | | |
| Lanette O | 0.1% | 1g |
| Emulgine B1 | 0.4% | 4g |
| L'huile de Vaseline | 0.7% | 7g |
| L'huile d'amande douce | 0.6% | 6g |

| Composition de la phase n°2 : Phase aqueuse : | | |
|--|-------|-------|
| Carbopol | 0.08% | 0.8g |
| E.D.T.A | 0.1% | 1g |
| Glycerine | 0.6% | 6g |
| Eau déminéralisé | 7.13% | 71.3g |
| Composition de la phase n°3: La partie active | | |
| Chitosane | 0.1% | 1g |
| la Phase n°4 : | | |
| TEA | 0.05 | 0.5g |

2.1) Préparation de la phase aqueuse :

Dans un deuxième bécher l'eau, glycérine, carbopol, et l'allantoïne. Comme précédemment on été chauffé jusqu'à 80 C° pendant 20 minutes.

Les deux phases sont soumises à une agitation rapide. Après fusion complète des différents ingrédients, la phase huileuse sera versée dans la phase aqueuse sous une agitation de 10 min. Après l'ajout du chitosane, le tout a été refroidi (35-40°C), le TEA avec un compte goutte sous agitation continue a été ajouté.

3) Résultat :

Du point de vu aspect, la crème obtenu est une réussite, sauf que l'agitation en utilisant un barreau aimanté ne nous permet pas de bien mélanger et d'augmenter la quantité de la préparation. Pour cela nous avons préparé la crème au niveau des laboratoires VENUS pour obtenir une quantité suffisante, qui permet de faire l'étude de stabilités.

V.3 Préparation de la crème au niveau du laboratoire VENUS :

La préparation de 1000g de la crème s'est faite dans un turbo émulsionner type COMER, pour lequel le chitosane représente le principe actif.

1) La Formule :

Tableau 16 : Le pourcentage et les ingrédients entrant dans la crème

| Produit | Concentration (%) | Quantité pour 1000g |
|---|-------------------|---------------------|
| Composition de la phase n°1 : Phase huileuse | | |
| Lanette O | 1% | 10g |
| Emulgine B1 | 4% | 40g |
| L'huile de Vaseline | 7% | 70g |

| | | |
|--------------------------------------|--------|------|
| L'huile d'amande douce | 5% | 50g |
| Composition de la phase n°2 : | | |
| Phase aqueuse : | | |
| Carbopol | 8% | 80g |
| E.D.T.A | 1% | 10g |
| Glycérine | 5% | 50g |
| Eau déminéralisé | 68.00% | 680g |
| Composition de la phase n°3: | | |
| La partie active | | |
| Chitosane | 1% | 10g |
| la Phase n°4 : | | |
| Parfum | 0.1 % | 1g |
| TEA | 0.3 | 3g |

Suivant la figure N° 16 les étapes de fabrication de la crème sont comme suit :



Figure16: turbo émulsionner type COMER

- Dans la cuve n° 1 on dépose les ingrédients de la phase aqueuse : l'eau, glycérine, l'allantoïne et Carbopol on ferme la cuve et on la chauffe jusqu'à 80° C pendant 20 minutes sous forte agitation,
- Dans la cuve n° 2 on dépose les ingrédients de la phase huileuse : huile de vaseline, huile d'amande douce, lanette O, émulgine B1 ,EDTA et de même, on la chauffe jusqu'à 80°C pendant 20 minutes sous forte agitation,
- Après 20 minute on ouvre le robinet afin de permettre au deux phases de ce mélanger (phase huileuse dans la phase aqueuse) pour obtenir une émulsion H/E sous une agitation lente de 10 minutes, par la suite, on stoppe le chauffage ajouter le chitosane et on laisse refroidir le mélange jusqu'à 40° - 35°C, enfin, on ajoute le TEA (triéthanolamine) pour neutraliser le pH et gonfler le carbopol (stabilisant).



Figure 17 : L'obtention d'une crème hydratante brillante

2) Résultat de produit fini :

Le produit est devenu efficace tout en restant dans les normes.

2.a) les paramètres organoleptiques : l'aspect, l'odeur, couleur ...

2. b) les paramètres physico-chimiques : notamment pH et viscosité, et la densité, teneur en matière active.

2. c) les paramètres microbiologiques.

Tableau 17: Les caractéristiques organoleptique de produit fini

| Spécifications | Résultats | Méthodes |
|----------------|----------------|----------|
| Aspect | Crème Visqueux | Visuelle |
| Couleur | Opaque | Visuelle |
| Odeur | Agréable | Olfactif |

V.3.1 Résultat de la qualité microbienne de la crème :

Les résultats d'analyses microbiologiques exprimées dans le tableau suivant révèlent une absence de toute contamination bactérienne et fongique permettant de dire que notre produit final (crème) est de bonne qualité microbiologique (tableau n°13).

Tableau 18: les résultats de contrôle microbiologique.

| Germes recherchés | Température (C) | Duré (h) | Résultat | Normes |
|-----------------------|-----------------|----------|----------|------------------------|
| Germes Aérobie | 32±2 °C | 72 h | Absence | < 10 ³ g/ml |
| Levures , moisissures | 22-25 °C | 120 h | Absence | < 10 ² g/ml |



Figure 18: l'échantillon de teste microbiologique.

V.4 L'étude de Stabilité au cours du temps :

V.4.1 Objectif :

Les études de stabilité ou de durée de conservation permettent de suivre et d'observer la façon dont différentes conditions d'environnement (telles que la température, la lumière ou l'humidité) peuvent affecter un composé chimique, un article ou un lot sur une certaine période. Pour cela, vous créez des échantillons physiques de l'article ou des lots et vous les placez dans des conditions contrôlées pour la durée de l'étude. Pendant l'étude, et à des intervalles précis, vous retirez ces échantillons physiques ou une partie d'entre eux des diverses conditions auxquelles ils sont soumis et vous les testez selon des gammes de contrôle prédéfinies. Vous pouvez ensuite utiliser les résultats de ces tests, qui se sont accumulés au cours de l'étude, notamment pour vérifier et confirmer que la durée de vie souhaitée ou garantie du produit est conforme aux recommandations prédéfinies pour le stockage.

La stabilité des produits cosmétiques est un des paramètres clé pour une garantie de qualité du produit et la satisfaction du consommateur. De plus, la grande variété de formes des produits dans ce domaine (lait, crème, mousse, *etc.*), la diversité des propriétés d'usage ainsi que les conditions de stockage rendent les tests de stabilité longue et fastidieuse. Pour finir, le nombre important de composants dans ces produits conduit à une interprétation complexe des données obtenues par les techniques analytiques classiques.

La mise à l'échelle d'une nouvelle formulation depuis le laboratoire jusqu'à la production est une étape clé du développement d'un produit. Cette étape est coûteuse et sensible à de nombreux paramètres qui la rendent particulièrement délicate. Son succès est souvent

fortement dépendant de l'expertise des personnes en fonction et il peut être difficile d'obtenir des résultats répétables. Le processus de mise à l'échelle est une étape difficile du développement d'un produit qui est rarement optimisé par une approche scientifique [44].

IV.4.2 Les contrôles réalisés :

Les analyses de stabilité des produits cosmétiques sont réalisées par observation visuelle des échantillons stockés à basse température (+4°C), ambiante et haute température (+35 à +50°C) pendant des périodes allant jusqu'à six mois.

A) La centrifugation :

Est une technique utilisant la force centrifuge pour séparer des fluides de densités différents ou pour isoler des éléments solides en suspension dans un fluide permet de séparer les éléments d'un mélange en le faisant tourner à grande vitesse 40000 tour/min.

La stabilité de notre formulation au cours du temps et sous des conditions physique rigoureuse a été déterminée en utilisant une centrifugeuse réglée à une vitesse de 40000 tours par minute pendant 20 minutes, ceci est réalisé en employant deux flacons remplis à la même hauteur avec notre crème (50 g), qu'on met dans deux godets en face à face dans l'appareille [44]

Après les 20 minute de rotation notre crème présente toujours une parfaite stabilité.



Figure 19 : photo de centrifugeuse



Figure 20 : les flacons des échantillons de crème hydratant

Après 20 min ; retirer les deux flacons et enregistre les remarques.

Résultats:

Les résultats de la centrifugation se sont montres aucun déphasage

N'a été signalé pour la crème hydratant concernée durant les 90 jours de Stabilité permettent de dire qu'il s'agit une stabilité de mélange.

B) Le choc thermique :

Il est recommandé de vérifier la stabilité du produit cosmétique en conditions extrêmes à des températures, par exemple : à titre indicatif entre -10°C et +50°C en fonction de l'utilisation prévisible du produit sous forme de cycle alternatif, définis en fonction des températures retenues.

C) L'étuve :

Les analyses de stabilité des produits cosmétiques à la chaleur sont réalisées par observation visuelle des échantillons stockés dans l'étuve à haute température (+35 à +50°C) pendant des périodes allant jusqu'à trois mois selon la température. Remarque : l'instabilité de produit ; déphasage pour les crèmes



Figure21:photo de l'étuve.

D) La respectabilité:

Il consiste à effectuer plusieurs fois la même analyse dans un court intervalle de temps, par le même manipulateur, dans le même laboratoire à l'aide du même appareillage et avec les mêmes réactifs.

- Les mêmes mesures organoleptiques et physico-chimiques.

E) La reproductibilité :

Conditions où les résultats d'essai sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents. [44]

Ces résultats d'analyse organoleptique sont comparés aux normes internes de venus, ce qui nous permet de déduire sa bonne qualité sensorielle et sa bonne stabilité

F) Respectabilité:

Elle consiste à effectuer plusieurs fois la même analyse dans un court intervalle de temps par la même méthode sur la crème, par le même manipulateur, dans le même laboratoire à l'aide du même appareillage et avec les mêmes réactifs. Les mêmes mesures organoleptiques et physico-chimiques.

V.4.3 Les paramètres physico-chimiques :

Tableau 19: Les résultats de contrôle physico-chimique pendant 90 jours

| <i>Jours</i> | <i>Température</i> | <i>PH</i> | <i>Viscosité</i> | <i>Densité</i> |
|-----------------|--------------------|-------------|------------------|----------------|
| 15 Jours | 0°C | 6.1 | 6000 cps | 1.01 |
| | 25°C | 6.0 | 5600 cps | 0.90 |
| | 45°C | 5.8 | 4400 cps | 0.86 |
| 30 Jours | 0°C | 6.2 | 5900 cps | 1.02 |
| | 25°C | 5.9 | 5700 cps | 1.00 |
| | 45°C | 5.6 | 4100 cps | 0.88 |
| 45 Jours | 0°C | 6.4 | 6000 cps | 1.02 |
| | 25°C | 6.1 | 5600 cps | 0.90 |
| | 45°C | 5.4 | 4600 cps | 1.01 |
| 70 Jours | 0°C | 6.1 | 5700 cps | 1.03 |
| | 25°C | 6.0 | 5500 cps | 1.02 |
| | 45°C | 5.7 | 4300 cps | 0.89 |
| 90 Jours | 0°C | 6.2 | 5900 cps | 1.02 |
| | 25°C | 6.00 | 5900 cps | 1.03 |
| | 45°C | 5.9 | 4100 cps | 0.99 |

Les résultats de la mesure du pH aux températures 0°, 25°et 45° sont conformes comparés aux normes internes de venus.