

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

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE
Département de Génie chimique

Mémoire de Magister

THEME :

***Formulation d'une émulsion
Pharmaceutique Huile de soja /Eau,
Caractérisation et étude de stabilité physique***

Présenté par :

M^{me} CHAKI née ATBA NAWEL, Ingénieur en Génie de l'environnement de L'USTHB

Dirigé par :

M^r T. AHMED ZAID, Professeur à l'ENP
M^{lle} N. ABERBACHE, Pharmacienne Spécialiste

Rapporteur
Co - rapporteur

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

M^r C.E Chitour, Professeur à l'ENP
M^{me} A. Mefti, Chargée de cours à l'ENP
M^r E.H Benyoussef, Professeur à l'ENP
M^r A. Selatnia, Professeur à l'ENP

Président
Examinatrice
Examinateur
Examinateur

Février 2008

Remerciements

Toute la gratitude et le merci à Dieu qui nous a aidé jusqu'à ce que ce travail arrive à son terme.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Valorisation des énergies fossiles au département de génie chimique de l'Ecole Nationale Polytechnique sous la direction scientifique de M^r T. Ahmed Zaid, Maître de conférence, auquel je tiens à exprimer toute ma reconnaissance pour m'avoir confié cette étude, ainsi que pour ses précieux conseils.

Je remercie vivement et chaleureusement ma Co-Promotrice M^{lle} N. Aberbache pharmacienne galénicienne pour ses encouragements et ses conseils ainsi que pour son aide très précieuse.

Mes remerciements les plus sincères sont adressés à mes enseignants qui ont contribué à ma formation et permis qu'elle se déroule dans les meilleures conditions possibles, en particulier :

M^r C.E Chitour, Professeur à l'ENP qui me fait l'honneur de présider ma soutenance.

Mme A. Mefti et Messieurs E.H Ben youssef et A. Selatnia, Professeurs à l'ENP pour avoir accepté de juger mon travail.

Je remercie aussi M^r Chader, pharmacien spécialiste au LNC pour ses conseils et tout le personnel du LNC, M^{me} Z. Ait Mesbah, Maître assistante à l'Université de Blida, M^{me} Rejala de la bibliothèque du CRD/Saidal et le personnel de la bibliothèque des pharmaciens.

Enfin je remercie tous ceux qui m'ont soutenue au cours de mon travail.

Dédicaces

Je dédie le fruit de mes efforts :

A mon très cher mari, pour son soutien, ses encouragements et son aide considérable ainsi qu'à mon adorable Serrine.

A mes très chers parents qui ont toujours été sources de volonté dans mon parcours d'étude, pour leur aide, encouragements et affection.

A mes très chères sœurs: Samia, Yasmine, Fatma, Asma, pour leur tendresse et encouragements et à la petite khadidja (pour sa contribution dans l'élaboration de ce travail).

A mes frères Azzedine et Farid pour leur aide et soutien et à ma belle soeur Maya.

A ma belle famille, Mama zohra et baba Ahmed pour leurs encouragements ainsi qu'à mes beaux frères (Djilali, Aissa, Mestapha, Mohamed et Djamel) et à mes belles sœurs (Saida et houria,) pour leur gentillesse.

A mes Beaux frères Mohamed et Mohamed ainsi qu'à mes neveux Lokmane, Waéle, Abdassamed et à ma nièce sara.

A mes tantes et mes oncles.

A toutes mes amies en particulier Ouardia, Hadda, Samia, Nadia, Fatima et Sabrina.

Enfin je dédie ce travail à toute la famille et à tous ceux qui me sont chers en signe de reconnaissance et profonde affection.

Liste des tableaux

Tableau n° 1 : Classification des dispersions	3
Tableau n°2 : Propriétés des agents de surfaces en fonction de leurs valeurs HLB	25
Tableau n° 3 : Correspondance entre l'aspect et la taille des globules	33
Tableau n° 4 : Les matières premières utilisées	37
Tableau n° 5 : Caractéristiques physico-chimiques des sorbitannes polyoxyéthylénés	38
Tableau n° 6 : Caractéristiques physico-chimiques des sorbitannes	38
Tableau n°7 : Concentration utilisée dans différents formes pharmaceutiques.....	39
Tableau n° 8 : Composant de l'huile de soja	40
Tableau n° 9 : Composition des formules en vue de la sélection de l'agent émulsifiant.....	41
Tableau n° 10 : Masses respectives des émulsionnants lipophile et hydrophile dans Le mélange.....	44
Tableau n°11 : valeurs de conductivité, viscosité et pH pour les deux premiers groupes d'émulsions après une semaine de stockage à température ambiante.....	46
Tableau n° 12 : Stabilité à la centrifugation	47
Tableau n° 13 : plan composite centré en variables réelles	50
Tableau n° 14 : plan composite centré en variables réduites	50
Tableau n° 15 : Le pourcentage de la hauteur claire sur la hauteur totale des émulsions à température ambiante.....	52
Tableau n°16 : Variation de pH avec le temps	54
Tableau n°17 : Variation de la conductivité électrique en fonction du temps	55
Tableau n° 18 : Variation de la viscosité cinématique en fonction du temps	56
Tableau n° 19 : pourcentage de la hauteur clarifiée sur la hauteur totale à chaud et à froid...	57
Tableau n° 20 : Le temps de résistance à la vitesse de centrifugation de 2000 tr / min.....	59
Tableau n°21 : Moyenne des tailles des gouttelettes au cours du temps.....	60
Tableau 22 : Plan composite centré et résultats expérimentaux (Valeurs mesurées au bout de 3 mois et demi).....	61
Tableau n° 23 : Critères d'optimisation et possibles solutions du problème.....	75
Tableau n° 24: Solution et valeurs que doivent prendre les différents facteurs	75

Liste des figures

Figure n°1 : Principales formes d'instabilités physiques des émulsions	9
Figure n°2 : Formation de dépression ou d'un film lamellaire à la surface des gouttelettes...	2
Figure n° 3 : Mécanisme de l'inversion de phase	16
Figure n° 4 : Représentation schématique d'une molécule de tensioactifs	18
Figure n° 5 : Structure des micelles	19
Figure n° 6 : Insertion des molécules hydrophobes dans les micelles	19
Figure n°7 : Balance hydrophile lipophile	25
Figure n° 8 : Lecture des proportions des trois constituants selon le triangle équilatérale M correspond au mélange composé de 20 % de A, 50% de B et 30 %de C...	28
Figure n° 9 : Etude de domaine des émulsions pour le système : eau - huile paraffine – Brij 76	28
Figure n°10 : viscosimètre CANNON – FENSKE	34
Figure n° 11 : Formule chimique de la lécithine de soja	39
Figure n° 12 : Mode opératoire de l'émulsification.....	45
Figure n°13 : pourcentage de la hauteur clarifiée sur la hauteur totale à + 10°C	57
Figure n°14 : pourcentage de la hauteur clarifiée sur la hauteur totale à + 40°C	58
Figure n° 15 : temps de résistance à la vitesse de centrifugation à 2000 tr / min.....	59
Figure n° 16 : Diagramme de Pareto pour le pH.....	62
Figure n° 17 : Diagramme de Pareto pour la conductivité électrique	63
Figure n° 18 : Diagramme de Pareto pour la viscosité cinématique	64
Figure n°19 : Surface de réponse pour la viscosité ($\tau=0$)	65
Figure n°20 : Diagramme de Pareto des effets pour la taille des particules	66
Figure n°21 : Surface de réponse pour la taille des particules	67
Figure n° 22 : Aspect des émulsions après 3 mois et demi de stockage à température Ambiante	68
Figure n° 23 : Diagramme de Pareto pour la taille des particules	68
Figure n° 24 : Surface de réponse pour le taux de clarification à température ambiante ($V_{it} = 0$)	69
Figure n° 25 : Surface de réponse pour le taux de clarification à 10°C ($V_{it} = 0$).....	70
Figure n° 26 : Diagramme de Pareto pour le taux de clarification à 40 °C	71

Figure n° 27 : Surface de réponse pour le taux de clarification à 40 °C (Vit = 0)	72
Figure n°28 : Histogramme représentant la résistance à la centrifugation, viscosité, taille et le taux d'émulsifiants des échantillons stables au bout de 3 mois et demi de stockage à température ambiante.....	73

Sommaire

Introduction générale	1
 <i>Partie théorique</i>	
I. les systèmes dispersés	3
I.1 Définition	3
I.2 Caractéristiques	3
I.3 Les différents types de dispersions	3
I.4 Les émulsions	4
I.4.1 Définition	4
I.4.2 les émulsions pharmaceutiques par voie orale.....	4
I.4.3 Classification des émulsions	4
I.4.3.1 Premier critère	4
I.4.3.2 Second critère	5
a) Emulsoïdes	5
b) émulsions vraies	5
c) Emulsions de consistance semi – solide	5
I.4.4 Application des émulsions	5
I.4.5 Avantages biopharmaceutiques des émulsions	6
 II. Instabilités des émulsions	8
II.1 Phénomènes chimiques	8
II.2 Phénomènes biologiques	8
II.3 Phénomènes physiques	8
II.3.1 Crémage et sédimentation	10
II.3.2 Flocculation	11
II.3.2.1 Mécanisme de flocculation	11
II.3.2.2 Cinétique de flocculation	12
II.3.3 Coalescence	12
II.3.3.1 Mécanisme de la coalescence	13
II.3.3.2 Cinétique de la coalescence	14
II.3.4 Inversion de phase	14
II.3.4.1 Facteurs influant sur l'inversion de phase	14
II.3.4.2 Mécanisme de l'inversion de phase	15
II.4 Critères de stabilité	17
 III. Les agents tensioactifs	18
III.1 Définition des agents de surfaces	18
III.2 Propriétés des agents de surfaces	18
III.3 Classification des surfactifs	20
III.3.1 Les surfactifs anioniques	20
III.3.2 Les surfactifs cationiques	21
III.3.3 Les surfactifs amphotères ou ampholytes	22
III.3.4 Les surfactifs non ioniques	22

IV. Formulation des émulsions	24
IV.1 Méthodes fondées sur le HLB et le HLB critique	24
IV.1.1 Concept HLB	24
IV.1.2 Détermination de HLB des surfactifs	25
IV.1.3 Notion de HLB critique	26
IV.1.3.1 Définition du HLB critique	26
IV.1.3.2 Détermination du HLB critique	26
IV.1.3.3 Influence de quelques paramètres sur la valeur du HLB critique	27
IV.2 Méthodes fondées sur l'établissement des diagrammes ternaires	27
IV.3 Préparations des émulsions pharmaceutiques	29
IV.3.1 Mode d'introduction des émulsionnants	29
IV.3.2 Température de fabrication	29
IV.3.3 Mode d'introduction des phases	30
IV.3.4 Mode de refroidissement	30
IV.3.5 Choix de l'appareillage	30
V Les plans d'expériences	31
V.1 Introduction	31
V.2 Préparation du plan d'expériences	31
V.3 Description de l'étude	31
V.4 Plan d'expérience et Surface de réponse	32
VI Caractérisation des émulsions formulées	33
VI.1 Aspect des émulsions	33
VI.2 Mesure de pH	33
VI.3 Mesure de la conductivité (sens de l'émulsion)	33
VI.4 Mesure de la viscosité	34
VI.5 Etude de la stabilité	35
VI.6 Examen microscopique ou taille des gouttelettes	35

Partie Pratique

I. Introduction	37
II. Choix du mélange émulsionnant	38
II.1 Les matières premières utilisés	38
II.2 Teste de sélection du mélange de tensioactifs	42
III. Recherche du HLB critique	42
III.1 Proportion des phases et des tensioactifs	42
III.2 Formulation et matériel utilisé	43
III.3 Mode opératoire	45
III.4 Essais réalisés sur les émulsions de différents HLB _m	46
III.5 Résultats et discussions	46
III.6 Conclusion de l'étude préliminaire	48
IV. Formulation de l'émulsion et optimisation	49
IV.1 Méthodologie	49
IV.2 Résultats expérimentaux et Discussions pour les testes d'optimisation	51

IV.2.1 Aspect visuel	51
IV.2.2 Mesure de pH	53
IV.2.3 Conductivité électrique	54
IV.2.4 Viscosité cinématique	56
IV.2.5 Stabilité à chaud et à froid	57
IV.2.6 Stabilité à la centrifugation	58
IV.2.7 Taille des particules	60
IV.3 Analyse des résultats expérimentaux par le logiciel Statistica	61
IV.3.1 Analyse du pH	62
IV.3.2 Analyse de la conductivité électrique	63
IV.3.3 Analyse de la viscosité	64
IV.3.4 Analyse de la taille des particules	65
IV.3.5 Analyse de taux de Clarification à température ambiante (FT25)	67
IV.3.6 Analyse de taux de Clarification à + 10 °C (FT10)	69
IV.3.7 Analyse de taux de Clarification à + 40 °C (FT40)	70
IV.3.8 Résistance à la centrifugation	72
IV.4 Optimisation de la stabilité de l'émulsion par le logiciel Mode 6	74
Conclusion Générale	76

Références Bibliographiques

Glossaire

Bactériostatique : se sont des agents qui inhibent la croissance et la reproduction.

Biodisponibilité des médicaments : c'est la disponibilité du principe actif dans la circulation sanguine. Elle est caractérisée par la quantité et la cinétique de disponibilité dans le sang. Cette fraction disponible est responsable de l'intensité de l'effet thérapeutique.

Choline : alcool azoté rangé parmi les vitamines du groupe B. il s'oppose à la surcharge graisseuse du foie chez les animaux soumis à un régime très riche en lipides (action lipotropique).

Excipient : c'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.

Fluide Newtonien : pour ces fluides la viscosité en fonction du gradient de vitesse est une droite, c'est-à-dire que la viscosité n'est pas affectée par la variation du gradient de vitesse, un tel comportement est lié aux propriétés physico-chimiques du fluide étudié, la taille des particules, ainsi que leur concentration dans la phase contenue.

Fongique : relatif à un champignon ou qui en provient.

Force de Van Der Waals : est une interaction de faible intensité entre atomes, molécules, ou une molécule.

Hydrophilisation : c'est toute technique ou tout procédé permettant de transformer une substance hydrophobe (insoluble ou peu soluble dans l'eau) en substance hydrophile (soluble dans l'eau). Pour cela, nous citons : la lyophilisation, les dispersions solides, l'inclusion dans les cyclodextrines, l'émulsification ...

Hypercholestérolémie : augmentation du taux de cholestérol dans le sang

Interface : la limite entre deux phases condensées.

Libération in vitro : c'est un test réalisé in vitro (en dehors de l'organisme) pour étudier la libération d'une substance pharmaceutique à partir de sa forme galénique (pharmaceutique). Elle englobe le test de délitement (désagrégation) et le test de dissolution.

Lyophilisation : ou appelée également sublimation. C'est une technique de dessiccation à froid qui consiste à enlever l'eau ou le solvant d'une substance liquide ou pâteuse par un passage de l'état solide (congélation au préalable) à un état gazeux (évaporation) sans passer par l'état liquide. Le résultat de l'opération est appelé : lyophilisat.

Médicament : un médicament est un produit préparé et présenté pour guérir ou prévenir les maladies ou encore administré en vue d'établir un diagnostic ou bien administré pour restaurer, corriger ou modifier les fonctions organiques de l'homme ou de l'animal.

Le médicament agit par un ou plusieurs constituants appelés principes actifs.

Mouvement brownien : mouvement incessant des particules microscopiques en suspension dans un liquide ou dans un gaz, dû à l'agitation moléculaire.

Parentérale : injectable

Placebo : c'est la totalité de la formule médicamenteuse sans principe actif.

Principe actif : le principe actif (PA) est une substance douée de propriétés thérapeutiques. Il existe deux catégories de principes actifs :

- Les substances obtenues par synthèse dont les caractéristiques chimiques sont bien définies.
- Les substances extraites à partir de produits naturels.

Tension superficielle : ou énergie d'interface ou énergie de surface, est la tension qui existe à la surface de séparation de deux milieux. Cet effet permet par exemple aux insectes de marcher sur l'eau, à la rosée de ne pas s'étaler sur les pétales de fleurs...etc.

Voies d'administration non conventionnelles : ce sont les voies d'administration autres que celles dites conventionnelles (voie orale, voie parentérale, voie cutanée...).Exemple par induction magnétique, induction à la chaleur

Vectorisation des médicaments : ce sont des formes pharmaceutiques vésiculaires guidées par un vecteur. Ce dernier permettra une meilleure administration du médicament à savoir : un ciblage cellulaire, éviction du métabolisme hépatique, protection du principe actif....

pH

3

RESUME : *Formulation d'une émulsion pharmaceutique Huile de soja /Eau, Caractérisation et étude de stabilité physique*

La Méthodologie des Surfaces de Réponse a été mise en oeuvre pour optimiser la stabilité d'une émulsion huile de soja /eau. Cette émulsion, dans le cas présent un placebo, est destinée à véhiculer par voie orale un principe actif insoluble dans l'eau. L'émulsion est composée d'un mélange d'eau et d'huile de soja stabilisée par un agent émulsifiant. L'objectif de l'étude est de sélectionner l'émulsifiant – sa composition, concentration - ainsi que les paramètres opératoires -température et vitesse d'agitation - susceptibles de conduire à une émulsion répondant au cahier des charges de l'application.

Une méthodologie basée sur la planification d'expériences a été retenue. L'influence de quelques paramètres opératoires et de la concentration en agent émulsifiant sur la stabilité physique de l'émulsion a été recherchée. La stabilité physique a été évaluée pendant une durée de trois mois et demi à l'aide de mesures viscosimétriques, conductimétriques, granulométriques, de pH, de taux de clarification et la résistance à la centrifugation. La stabilité à la chaleur et au froid a également été évaluée.

L'approche s'est révélée efficace pour situer le domaine de concentrations de l'agent émulsifiant et les conditions opératoires les plus favorables où la stabilité physique maximale de l'émulsion est atteinte.

MOTS CLES : Formulation, émulsion, huile de soja, stabilité, méthodologie des surfaces de réponse, agents de surfaces, température, vitesse d'agitation.

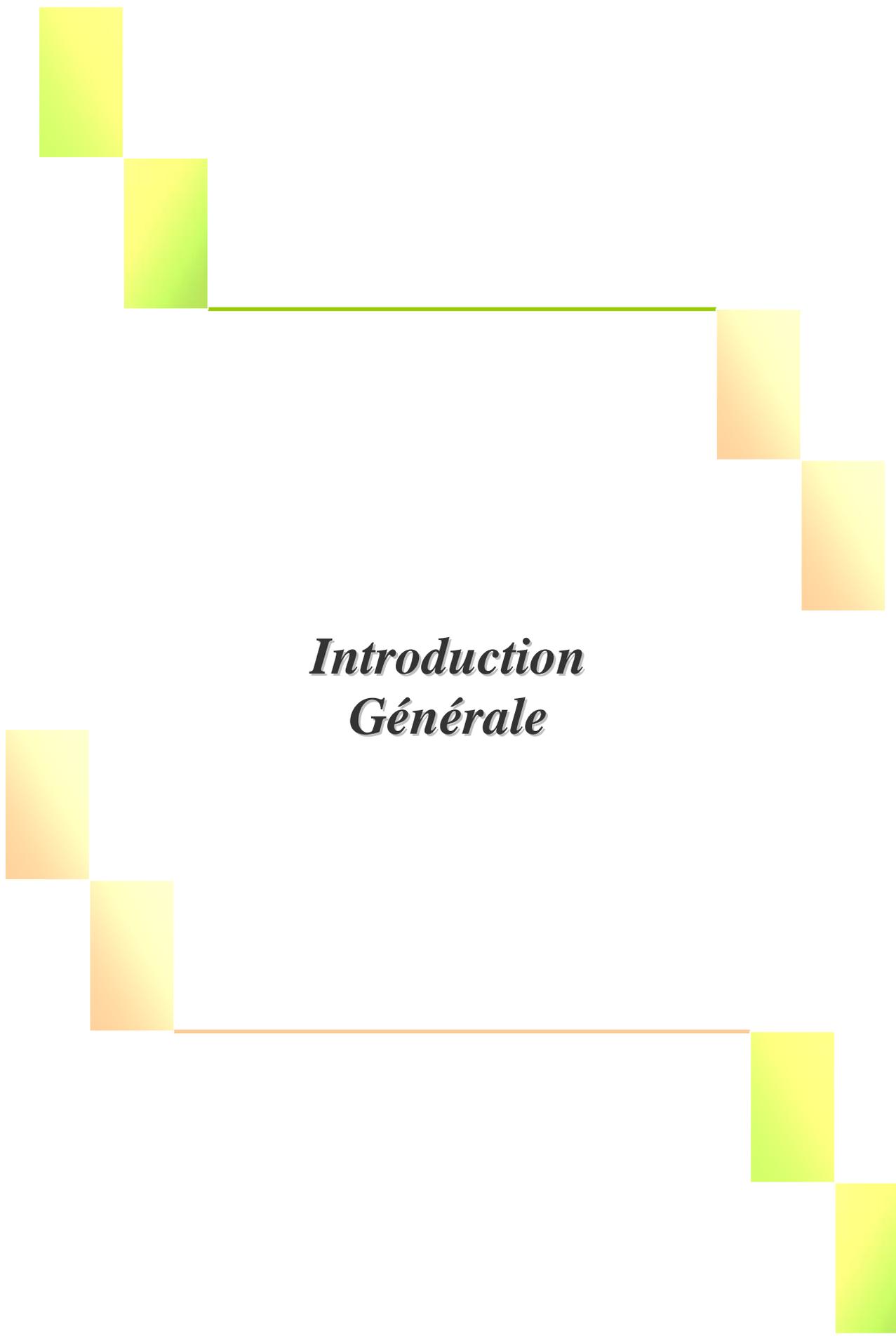
ABSTRACT: *Formulation of a pharmaceutical Oil of Soya bean /Water emulsion, Characterization and evaluation of physical stability.*

Surface response methodology has been used to optimize the physical stability of a O/W emulsion. The emulsion system of soybean oil/ Water in presence of an adequate emulsifying agent is to be used as an oral drug vehicle for a slightly soluble or totally water insoluble substance. The aim of the study is to select the optimal emulsifying agent composition which provides an acceptable level of stability for the formulated system.

The influence of process variables and emulsifying agent concentration on the emulsion physical stability has been investigated. The physical stability has been monitored during three months and a half by measures of viscosity, conductimetry, granulometry, centrifugation, pH, and clarification ratio. Stability towards heat and cold temperatures has also been investigated.

The method proved to be efficient to spot the process variables and domain of emulsifying agent concentrations where maximal stability was met.

KEY WORDS: Formulation, emulsion, soybean oil, stability, response surface methodology, surfactants, temperature, speed of agitation.



*Introduction
Générale*

Introduction générale

Les émulsions, très utilisées dans le domaine pharmaceutique et surtout cosmétique, sont des systèmes hétérogènes à deux ou plusieurs phases liquides, constitués par un liquide continu et au moins un deuxième liquide dispersé dans le premier sous forme de fines globules, caractérisés par une instabilité dans le temps.

La stabilité physique des émulsions est assurée surtout par l'addition d'agents émulsionnants possédant un HLB bien précis, correspondant au HLB critique de l'huile émulsionnée dans le cas d'une émulsion Huile / Eau.

De nombreux principes actifs sont administrés dans le corps humain par voie orale. Beaucoup de ces principes actifs sont totalement insolubles ou très peu solubles dans l'eau.

La solubilisation de ces substances représente donc un défi majeur pour le formulateur. Les processus de solubilisation d'une substance sont en général complexes et de solides connaissances en chimie physique sont souvent nécessaires pour l'interprétation des modèles théoriques existant. Bien que le sujet soit largement documenté à travers de nombreux articles et ouvrages scientifiques[1-2], il n'existe pas d'approche « standard » que le formulateur pourrait préférer pour concevoir un produit devant être administré par voie donnée.

D'un point de vue industriel, en tenant compte que tous les efforts doivent conduire à un produit acceptable sur le plan pharmacologique, seul un nombre restreint de méthodes de solubilisation d'une substance insoluble dans l'eau peuvent être utilisées :

- Ajustement de pH ;
- Hydrophilisation : dispersion solide ;
- Lyophilisation ;
- Utilisation de co-solvants ;
- Utilisation d'agents tensioactifs ;
- Réduction en micro- ou nanoparticules (Micronisation) ;
- Emulsification.

Néanmoins chaque technique a ses avantages mais aussi ses inconvénients. C'est la tâche principale du formulateur de trouver une alternative pour résoudre son « problème » de solubilité de manière à ce qu'une formule pharmaceutique possédant les caractéristiques thérapeutiques désirées soit réalisée.

Lorsqu'un principe actif est suffisamment liposoluble, l'utilisation d'un système émulsionné pour la formulation galénique doit être considérée. Le principe consiste à

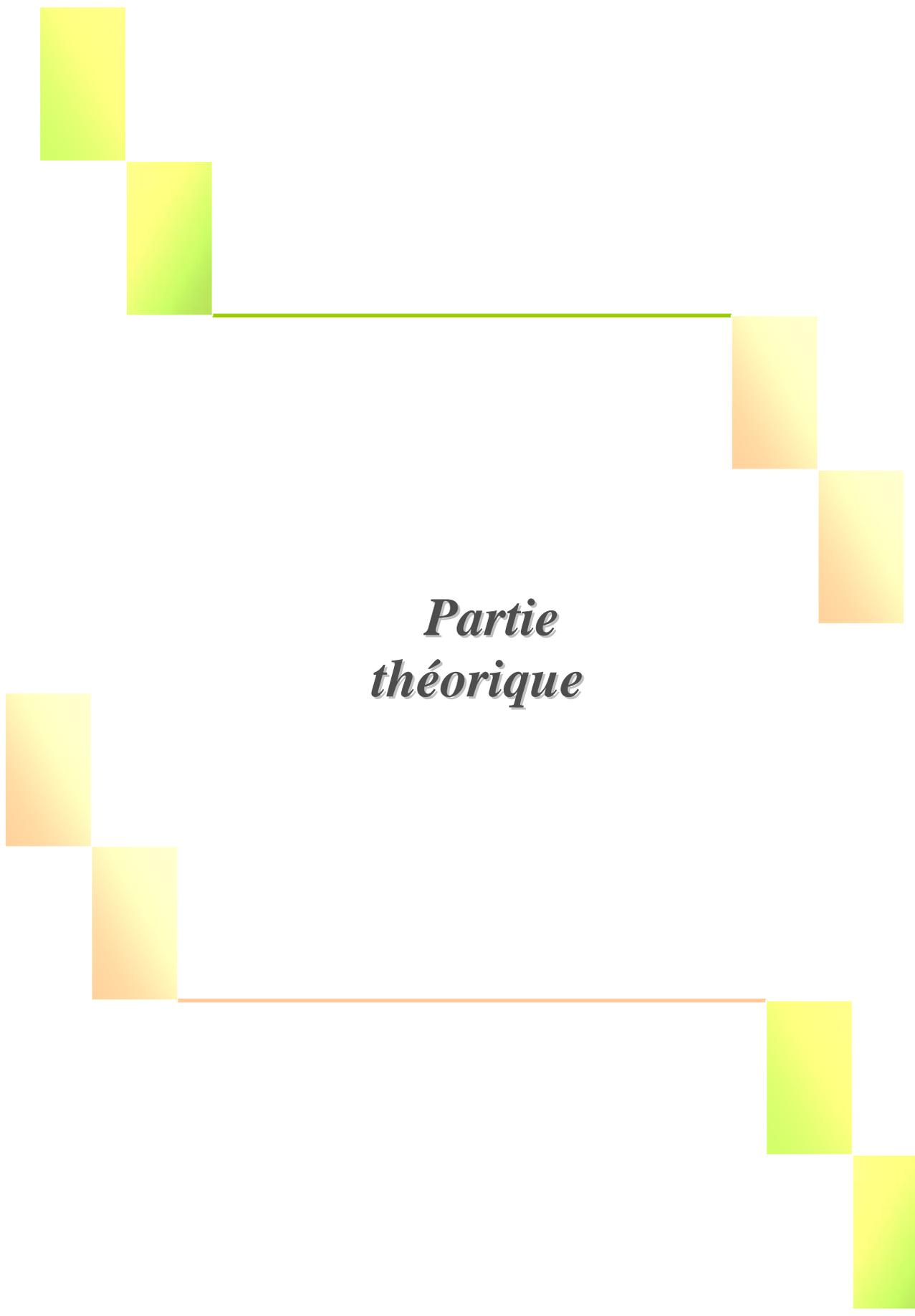
« piéger » dans la phase huileuse dispersée le principe actif liposoluble, en réalisant ainsi une distribution uniforme de ce principe qui sera véhiculée par l'émulsion en respectant un dosage parfaitement contrôlable.

Les problèmes rencontrés lors de la préparation des émulsions sont nombreux, les plus importants concernant :

- Le mode d'introduction des émulsionnants ;
- La température de fabrication ;
- Le mode d'introduction des phases ;
- Le mode de refroidissement ;
- Le choix de l'appareillage.

Dans la présente étude, nous nous sommes limités à la formulation d'une émulsion pharmaceutique qui est un placebo à 20 % d'huile de soja dans l'eau. Divers agents émulsifiants ont été testés pour sélectionner ceux qui permettent d'obtenir l'émulsion la plus stable. A cet effet le HLB critique du mélange émulsionnant ainsi sélectionné a été déterminé. Ensuite la concentration en agents émulsifiants et les paramètres opératoires durant la préparation de l'émulsion ont été fait variés pour évaluer les conditions optimales qui favorisent la stabilité physique du système.

La démarche utilisée repose sur la planification d'expériences. Diverses caractéristiques liées à la stabilité du système- telles que l'aspect visuel, le pH, la conductivité, la viscosité, la résistance à la centrifugation, la stabilité au stockage à la chaleur et au froid et la tailles des particules dispersées, ont été mesurées pendant une période de trois mois et demi. Utilisant des logiciels pour l'analyse des résultats (Statistica et Modde 6), des modèles décrivant ces propriétés ont été élaborés en vue d'une optimisation multi objectifs du système étudié. Cette démarche a permis de cerner le domaine de concentrations de l'agent émulsifiant, le degré de température et la vitesse d'agitation où la stabilité physique du système est optimale.



*Partie
théorique*

I. les systèmes dispersés

I.1 Définition

Une dispersion résulte de la fragmentation d'une substance en particules de petite taille distribuée de façon homogène au sein d'une autre substance, ces deux substances ne peuvent pas se mélanger et peuvent se trouver sous différents états physiques : solide, liquide, ou gazeux [3].

I.2 Caractéristiques

Une dispersion comporte toujours deux phases, une phase dispersée et une phase dispersante.

La plus part des dispersions contiennent des tensioactifs – naturels ou synthétiques - qu'ils les stabilisent.

La dispersion est homogène quand toutes les particules dispersées ont la même taille ; par contre elle est hétérogène quand les particules dispersées ont une taille différente [4].

I.3 Les différents types de dispersions

Il existe plusieurs types de dispersions :

Les émulsions, les suspensions, les aérosols et les mousses.

Le tableau suivant indique l'essentiel sur les principaux types de dispersions.

Tableau n° 1 : Classification des dispersions [3, 4]

Types de dispersions	Etats de phases		Exemples
	Phase dispersante	Phase dispersée	
Emulsions	Liquide	Liquide	margarines
Suspensions	Liquide	Solide	Fonds de teint
Aérosols	Gaz	Liquide	Déodorants pulsés
	Gaz	solide	fumées
Mousses	Liquide	Gaz	Mousses détergentes
	Solide	gaz	Mousses silicone

I.4 Les émulsions

I.4.1 Définition

Les émulsions sont des systèmes hétérogènes, thermodynamiquement instables. Elles sont constituées en générale par un premier liquide dispersé sous forme de fines gouttelettes dans un second liquide non miscible au premier [5,6].

Les gouttelettes sont généralement de diamètre supérieur à 0,1 μm . De tels systèmes possèdent un minimum de stabilité, celle-ci pouvant être améliorée par la présence d'agents tensioactifs.

Les gouttelettes du premier liquide forment la phase dispersée appelée encore phase interne ou phase discontinue. Le deuxième liquide constitue la phase dispersante ou la phase externe ou encore phase continue.

La stabilité des émulsions est assurée par l'addition d'agents émulsionnants possédant une balance hydrophile - lipophile bien précise.

I.4.2 Les émulsions pharmaceutiques par voie orale

Depuis longtemps, les émulsions sont utilisées en pharmacie par voie orale, parentérale ou locale. Cependant, à cause des difficultés à les obtenir stables et homogènes, à défaut aussi de pouvoir expliquer les mécanismes du principe actif, les émulsions surtout orales n'ont pas connus un développement important. Avec les travaux récents sur la libération contrôlée, la vectorisation des médicaments et l'utilisation de voies d'administration non conventionnelle, les émulsions suscitent de nouveau un certain intérêt. A partir de cela, un tel système dispersé apparaît comme le modèle idéal pour l'étude du devenir d'un principe actif d'autant plus que certains travaux ont déjà mis en évidence une meilleure biodisponibilité des médicaments présentés sous cette forme.

I.4.3 Classification des émulsions

Il existe deux critères pour classer les émulsions :

I.4.3.1 Premier critère

Le premier critère de classification repose sur les natures de la phase dispersée et de la phase dispersante. Pour cela, deux types d'émulsions sont distinguées : les émulsions huile dans eau et les émulsions eau dans huile [5,6].

Les émulsions huile dans eau (en abréviation H/E ou O/W dans la littérature anglo-saxonne) sont des émulsions dans lesquelles la phase dispersée est constituée par un liquide apolaire ou peu polaire et dans lesquelles la phase dispersante est un liquide très polaire tel que l'eau.

Les émulsions eau dans l'huile (E/H ou W/ O) sont des émulsions dans lesquelles la phase dispersée est constituée par un liquide très polaire tel que l'eau et la phase dispersante par un liquide apolaire ou peu polaire tel qu'une huile.

I.4.3.2 Second critère

Le second critère de classification des émulsions repose à la fois sur la consistance de la phase continue et sur la taille des particules de la phase discontinue.

A ce titre, il est courant de distinguer généralement les émulsioïdes, les émulsions vraies et les émulsions de consistance semi - solides.

a) Emulsoïdes

Les émulsioïdes sont des émulsions dont la taille des particules est très fine (moins de 0,5 μm) et qui de ce fait, ne peuvent être résolues au microscope avec un grossissement égal à 500.

b) émulsions vraies

Les émulsions vraies sont aussi des émulsions dont la phase dispersante est liquide, mais dont la taille des particules est plus importante (supérieur à 0,5 μm). De ce fait, les émulsions vraies peuvent être résolues au microscope dans les conditions précédemment indiquées.

c) Emulsions de consistance semi - solide

Les émulsions de consistance semi – solides sont des émulsions dans lesquelles la phase dispersante est plus au moins rigide. Elles sont utilisées pour fabriquer certaines crèmes et pommades.

I.4.4 Application des émulsions

Les domaines d'application des émulsions sont extrêmement nombreux. Malgré leur caractère métastable, il existe des émulsions naturelles : c'est le cas du lait (émulsion de type H/E stabilisée par des glycoprotéines) et du latex d'hévéa, consistant en gouttelettes de phase organique (hydrocarbures et composés fonctionnalisés) dispersées dans l'eau.[4, 7]

Cependant des émulsions se forment parfois lorsqu'on ne le souhaite pas, comme lors de l'exploitation des gisements pétroliers (émulsions E/H, que l'on cherche à casser). Par ailleurs

des émulsions interviennent temporairement dans certaines étapes d'un procédé industriel : extraction liquide – liquide, polymérisation en émulsion, etc. Enfin, les émulsions formulées constituent des produits finis ou produits d'usage courant dans la plupart des secteurs d'activité comprenant l'alimentation (ex. vinaigrette stabilisée : E/H, $d = 20 \mu\text{m}$; mayonnaise : H/E à très faible volume de phase aqueuse continue, $d = 0,2 \mu\text{m}$, avec comme tensioactifs les lécithines du jaune d'œuf ; beurre et margarines : émulsions figées E/H), les cosmétiques (élaboration des crèmes et laits démaquillants), la pharmacie (sang artificiel et encapsulations des divers substances antimitotiques, antigéniques), les peintures, les produits d'entretien, le phytosanitaire, le travail des métaux (ex fluides de coupe), les revêtements routiers (émulsions de bitume), les carburants pour automobiles («Aquazole» : émulsion d'eau dans de gazole). Il existe même des émulsions explosives [7, 8].

I.4.5 Avantages biopharmaceutiques des émulsions

Les systèmes émulsionnés ont été préconisés soit pour faciliter l'absorption des médicaments, soit pour ralentir la libération. L'absorption de plusieurs principes actifs est en effet améliorée par administration sous forme d'émulsions, ce qui représente un très grand intérêt de cette forme galénique. Les émulsions sont également envisagées pour protéger un principe actif labile, par exemple dégradé par un milieu défavorable ou par des enzymes des fluides digestifs. Il en résulte une amélioration de la biodisponibilité [6].

En 1940 déjà, on constata que les taux sanguins de différents sulfamides étaient plus élevés avec un principe actif administré en suspension dans une émulsion de type H/E ces remarques ont été confirmées plus tard par des essais chez l'animal et l'homme, montrant une très nette amélioration de l'activité des sulfamides comparée à celle obtenue avec une simple suspension dans un véhicule visqueux [5].

L'indoxole en solution dans la phase huileuse interne d'une émulsion donne également des concentrations plasmatiques plus élevées qu'avec une suspension ou des gélules. Récemment, des essais sur le chien ont montré l'intérêt d'administrer la phénytoïne en émulsion ou en suspension plutôt qu'en solution huileuse saturée [5].

Les émulsions sont également préconisées pour freiner la libération des principes actifs. Il s'agit en générale d'émulsions multiples, de type H/E/H ou E/H/E, utilisées par exemple pour la naltrexone ou le méthotrexate. Dans le premier cas, on relève une très importante prolongation de la libération in vitro, dans le second une nette amélioration de l'effet chimiothérapeutique chez la souris, après injection. De telles constatations concernent

également des émulsions simples H/E contenant des barbituriques et administrées par voies parentérales.

Dans le domaine de la chimiothérapie de cancer, les émulsions ont fait l'objet de plusieurs études et ont donné d'intéressants résultats avec les tumeurs du système lymphatique, avec cette forme galénique, de type E/H cette fois, on obtient une concentration sanguine particulièrement prolongée.

En immunologie, Salk et Coll ont mis en évidence des vaccins contre l'influenza sous forme d'émulsions ils ont constaté que cette préparation permettait de séparer le taux d'anticorps et d'en prolonger la présence au-delà de quatre ans. Cet effet prolongé serait dû à la libération très lente et continue de l'antigène à partir de l'émulsion.

On peut enfin considérer des applications particulières des émulsions, toujours avec la modification de la biodisponibilité comme objectif [5].

II. Instabilités des émulsions

L'instabilité des émulsions peut être due à :

- des phénomènes chimiques,
- des phénomènes biologiques (contamination bactérienne),
- des phénomènes physiques,

II.1 Phénomènes chimiques :

Comme pour toute autre forme pharmaceutique, l'émulsion peut être le siège de réactions entre le principe actif et les autres composants de la phase grasse ou de la phase aqueuse ou encore entre le conditionnement primaire et les composants de l'émulsion. Une étude détaillée des possibilités d'interférence entre les différents composés est nécessaire pour éviter les incompatibles.

II.2 Phénomènes biologiques :

L'émulsion peut constituer un milieu nutritif idéal pour les micro-organismes. La contamination bactérienne et fongique est susceptible d'engendrer la destruction du système dispersé.

II.3 Phénomènes physiques :

Les émulsions sont des dispersions liquides thermodynamiquement instables ; leur instabilité vient de la nécessité pour le système de minimiser son énergie libre de surface, créée lors de la fabrication, par la dispersion mécanique de la phase dispersée huileuse ou aqueuse. La manifestation principale de cette instabilité est la coalescence des globules qui tend à diminuer la surface interfaciale huile-eau, donc l'énergie d'interface. Si la coalescence se produit sans être ralentie, elle donne rapidement naissance à deux phases non miscibles. L'addition d'émulsionnants ou d'autres stabilisants peut minimiser la coalescence et d'autres formes d'instabilités, mais au cours du temps, parfois plusieurs années, il apparaît toujours une augmentation de la taille moyenne des globules de l'émulsion. L'objectif du formulateur est de produire une émulsion de plus longue durée de vie possible, douée de propriétés physiques favorables et d'un aspect macroscopique satisfaisant. La stabilité de l'émulsion ne dépend pas de l'émulsion seulement mais il peut y avoir d'autres modifications de l'arrangement de la phase dispersée.

Les phénomènes physiques sont les causes d'instabilité les plus fréquentes ; ces phénomènes peuvent survenir au moment de la formulation ou au cours de la conservation. Leur maîtrise est une condition essentielle dans la mise au point des émulsions.

Les principaux phénomènes d'instabilité physiques sont :

- La sédimentation et le crémage,
- La floculation,
- La coalescence,
- L'inversion de phase,

Ces phénomènes sont indiqués dans la figure n°1.

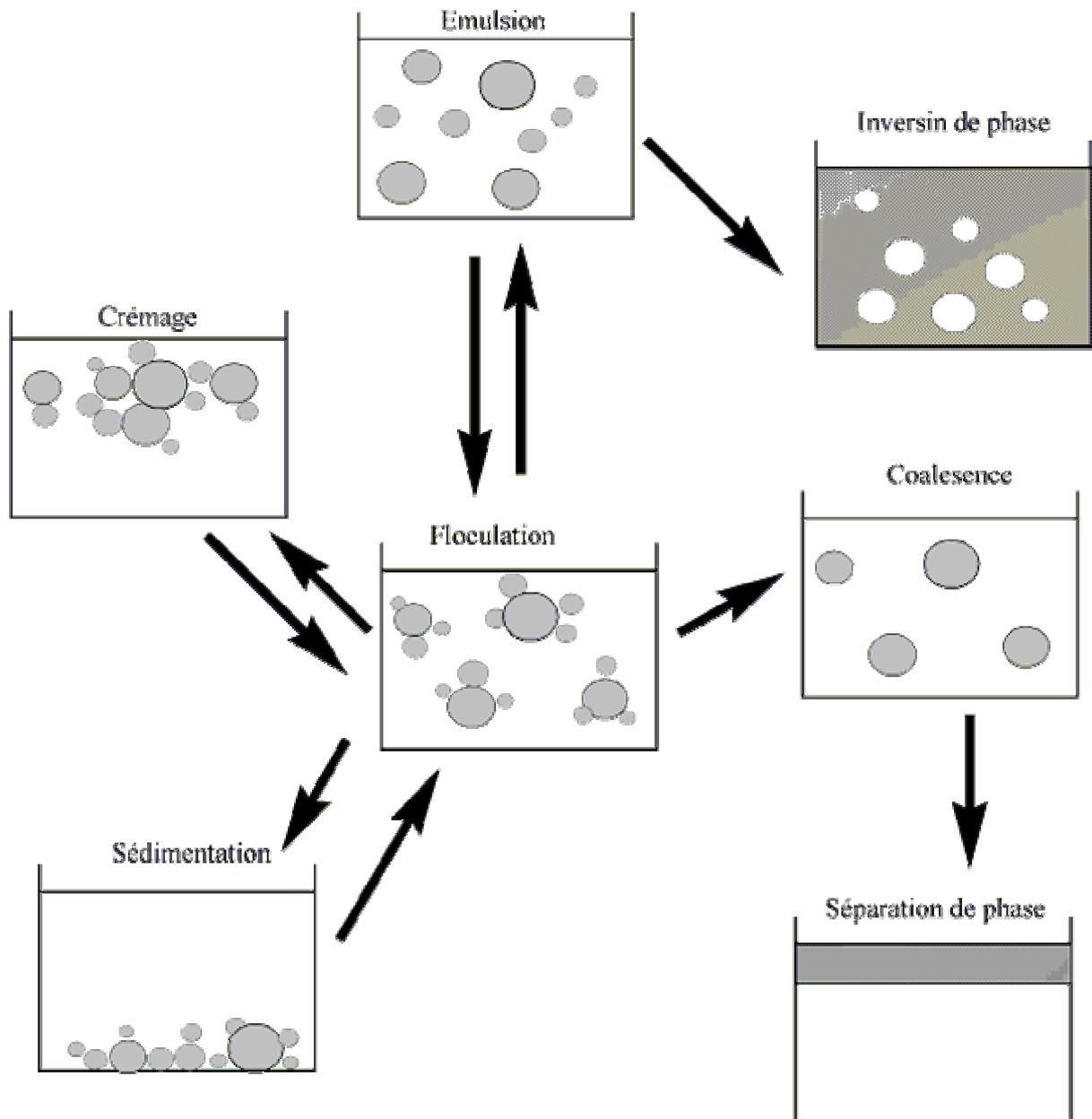


Figure n°1 : Principales formes d'instabilités physiques des émulsions [6,7,9,10]

II.3.1 Crémage et sédimentation

Le crémage est une forme d'instabilité qui correspond au déplacement verticale des particules de la phase dispersée sous l'influence de la gravité. Dans le cas des émulsions, ce déplacement se fait généralement vers le haut (crémage proprement dit).

Lorsque les particules de la phase dispersée se rassemblent à la partie inférieure, le phénomène est appelé sédimentation.

La vitesse de crémage ou de sédimentation d'une particule sphérique au sein d'un liquide newtonien est régie par la loi de STOKES [5, 6, 11].

$$V = \frac{2 r^2 (d_1 - d_2) g}{9 \eta} \dots\dots\dots(1)$$

V : vitesse de sédimentation ou crémage,

R : rayon de particule,

d₁ : densité de la particule,

d₂ : densité du liquide,

g : accélération de la pesanteur,

μ : viscosité du liquide.

La loi de STOKES, dans le domaine des émulsions présente plusieurs intérêts :

- Elle montre que le sens du déplacement de la particule dépend de la valeur relative des deux densités. Dans une émulsion H/E la densité d₁ de l'huile est généralement la plus faible et il y a crémage proprement dit ;
- Elle met en évidence la nature des facteurs qui influent sur le crémage et sur lesquels il est possible d'intervenir soit pour diminuer son importance (augmentation de la viscosité de la phase continue, diminution de rayon des globules ou de la différence de densité entre les deux phases...), soit au contraire pour le favoriser (centrifugation par exemple) ;

Elle permet de connaître la vitesse de crémage d'une particule donnée au sein d'un liquide déterminé.

Il convient toutefois de noter que la loi de Stokes ne s'applique en toute rigueur à une émulsion que si les globules de cette dernière se comportent comme des sphères rigides (viscosité infinie de la phase interne) et sont suffisamment distants les uns des autres pour que leur interaction soit négligeable.

Le crémage est une forme d'instabilité des émulsions facilement réversible. Il suffit pour redonner son homogénéité à une émulsion qui n'a fait que crêmer de la soumettre à une agitation suffisante.

II.3.2 Flocculation

La flocculation correspond au rassemblement des gouttelettes pour constituer des agrégats sans perdre leur individualité. Le film interfacial demeure intact.

Il faut noter que contrairement au crémage la flocculation n'est pas toujours facilement réversible. Elle ne l'est que si les particules flocculées restent séparées par une distance relativement grande (de l'ordre de 100 °A). Dans ce cas, les particules flocculées restent entourées par une mince couche de phase dispersante et il suffit d'une agitation mécanique pour les séparer [6].

II.3.2.1 Mécanisme de flocculation

Pour expliquer le phénomène de flocculation, nous avons recours à la théorie D.L.V.O des auteurs : DERJAGUIN, LANDAU, VERNEY et OVERBEEK, qui explique comment une dispersion peut être stabilisée grâce à la répulsion réciproque des particules possédant une charge électrique de même signe [5, 6, 11, 12].

Selon cette théorie, lorsque deux globules entrent en contact, ils peuvent soit demeurer liés pour former un agrégat et c'est la flocculation, soit se séparer de nouveau pour redonner la dispersion. Ce phénomène est la résultante des forces d'attraction de LONDON-VAN DER WALLS et des forces de répulsion électrostatique.

Les forces d'attraction et de répulsion dites forces d'interaction s'exercent indépendamment l'une de l'autre, elles varient en fonction de la distance qui sépare les particules et la force ionique du milieu.

Lorsque les forces d'attraction deviennent supérieures aux forces de répulsion, la flocculation est favorisée et lorsque les forces de répulsion sont plus grandes, la flocculation est soit ralentie, soit nulle selon que la barrière de répulsion est égale ou supérieure à l'énergie cinétique des particules.

II.3.2.2 Cinétique de floculation

La vitesse de floculation des particules dans une émulsion dépend de plusieurs facteurs :

- Elle dépend d'une part, de l'intensité d'agitation thermique, et notamment, de l'intensité des mouvements Browniens auxquels sont soumises les particules de la phase dispersée. Plus l'agitation thermique est importante, plus les particules ont une chance de se rencontrer, donc de flocculer ;
- Elle dépend d'autre part de la valeur des forces de répulsion qui s'exercent entre les particules. Ces forces sont dues à la présence à la surface des particules de charges de même signe. Plus les forces de répulsion sont importantes, plus la floculation est lente ;
- La vitesse de floculation dépend, enfin, de la valeur des forces d'attraction qui existent aussi entre les particules d'une émulsion. Ces forces sont, là encore, des forces d'attraction intermoléculaires de type Van der Waals. Plus les forces d'attraction sont grandes, plus la floculation est rapide.

Au total, la loi qui régit la vitesse de floculation dans une émulsion est la loi de SMOLUCHOWSKY. Selon cette loi :

$$\frac{1}{n} = \frac{1}{n_0} + at \quad \dots\dots\dots(2)$$

n : nombre de particules flocculées,

n_0 : nombre de particules flocculées au temps initial,

t : le temps en seconde,

a : coefficient qui dépend de l'agitation thermique, des forces de répulsion et des dimensions des particules.

II.3.3 Coalescence

La coalescence est une forme d'instabilité dans laquelle les gouttelettes flocculées perdent leur film interfacial et fusionnent pour former des gouttelettes plus grosses d'une façon irréversible [11, 12].

II.3.3.1 Mécanisme de la coalescence

Le comportement de deux gouttelettes qui s'approchent l'une de l'autre dépend de l'interaction des forces hydrodynamiques et des forces de surface.

Les forces hydrodynamiques sont responsables de l'écoulement du liquide entre les gouttelettes et de la déformation de ces dernières.

Les forces de surface peuvent soit s'opposer à ces phénomènes lorsqu'elles sont assez fortes soit les favoriser lorsque elles sont plus faibles.

➤ les forces de surface sont faibles

C'est le cas d'absence de tensio-actifs pour stabiliser l'émulsion.

- Lorsque les gouttelettes de taille assez importante se rapprochent les unes des autres avec une certaine rapidité, il y a formation d'une dépression concave à leur surface. Et la coalescence a lieu au niveau de la ligne d'approche des gouttelettes. (figure n° 2A).

- Lorsque les gouttelettes sont petites ou lorsqu'elles sont grosses mais se rapprochent très lentement, il y a formation d'une dépression convexe et la coalescence a lieu là où les forces sont plus proches (figure n° 2B).

➤ Les forces de surface sont importantes

C'est ce qui arrive dans une émulsion protégée par un surfactif, le rapprochement des gouttelettes se fait plus lentement et le phénomène de coalescence est plus long. Il se forme un mince film lamellaire liquide entre les gouttelettes. Ce film est soumis à deux types de forces les unes tendant à diminuer, les autres tendant à augmenter son épaisseur et suivant la valeur relative des deux types de forces, il y a ou non coalescence. (Figure n°2C).

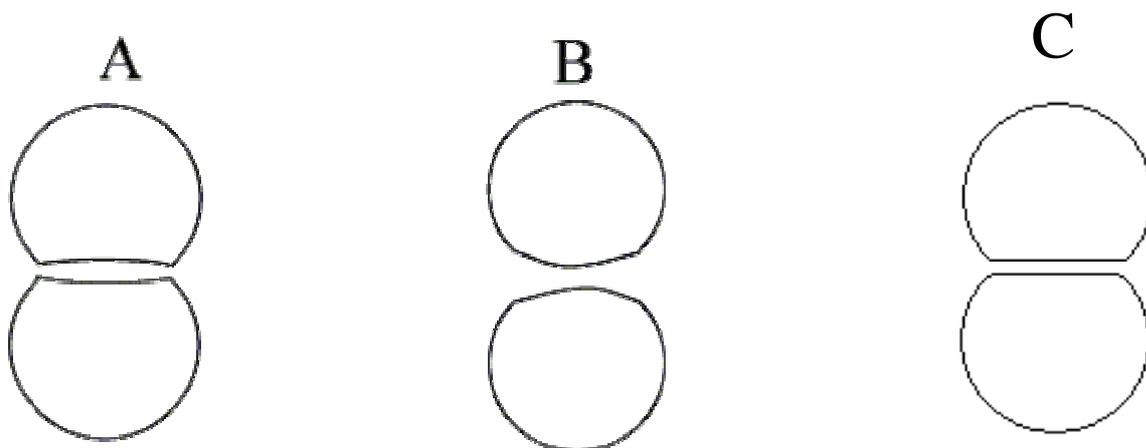


Figure n°2 : Formation de dépression ou d'un film lamellaire à la surface des gouttelettes

[11, 12, 13, 14, 15]

II.3.3.2 Cinétique de la coalescence

Lorsque la coalescence est rapide par rapport à la floculation, la décroissance du nombre de particules en fonction du temps est déterminée par la vitesse de floculation et suit la loi de Smoluchowsky précédemment décrite.

Lorsque la coalescence est lente par rapport à la floculation et le facteur déterminant est la coalescence.

Les mesures expérimentales tendent à montrer que la décroissance du nombre des particules en fonction du temps suit dans certains cas la loi de Van Der Temple et dans d'autre celle de Hill et Knight:

➤ Selon Van Der Temple

$$n = n_0 \exp(-k't) \dots\dots\dots(3)$$

n : nombre de particules coalescées,

n_0 : nombre de particules coalescées au temps initial,

t : le temps en seconde,

k' : la probabilité de rupture du film par seconde.

➤ Selon Hill et Knight

La probabilité de coalescence de deux gouttelettes floculées est proportionnelle à l'intégrale :

$$\int (Surface \cdot pression) dt \dots\dots\dots(4)$$

II.3.4 Inversion de phase

L'inversion de phase est une forme d'instabilité qui se traduit par un brusque changement du sens de l'émulsion (transformation d'une émulsion E/H en une émulsion H/E ou inversement) [6,7].

II.3.4.1 Facteurs influant sur l'inversion de phase

a) Proportion des phases

Quelque soit le mode d'assemblage, un empilement de sphère de même diamètre ne peut occuper au maximum que 74,02 % du volume total. Le reste 25,98 % est obligatoirement constitué par des espaces vides. En se fondant sur ces considérations géométriques, Ostwald a

proposé une théorie selon la quelle il est impossible de préparer une émulsion contenant plus de 74 % de phase dispersée. Au – delà de ce taux, l'émulsion ne peut que se rompre ou changer de sens. Cette théorie est contredit par l'expérience car les globules d'une émulsion ont rarement une taille uniforme et, de plus, peuvent se déformer. C'est ainsi que des émulsions contenant jusqu'à 99% de phase dispersée on été décrites.

b) Autres facteurs

La proportion de phase dispersée pour laquelle se produit l'inversion varie en fait avec la nature, le HLB et la concentration en émulsionnants. Elle dépend également de la nature de la phase huileuse et surtout de la température.

II.3.4.2 Mécanisme de l'inversion de phase

Le mécanisme le plus probable est celui proposé par Schulman et Cockbain suivant la figure n°3.

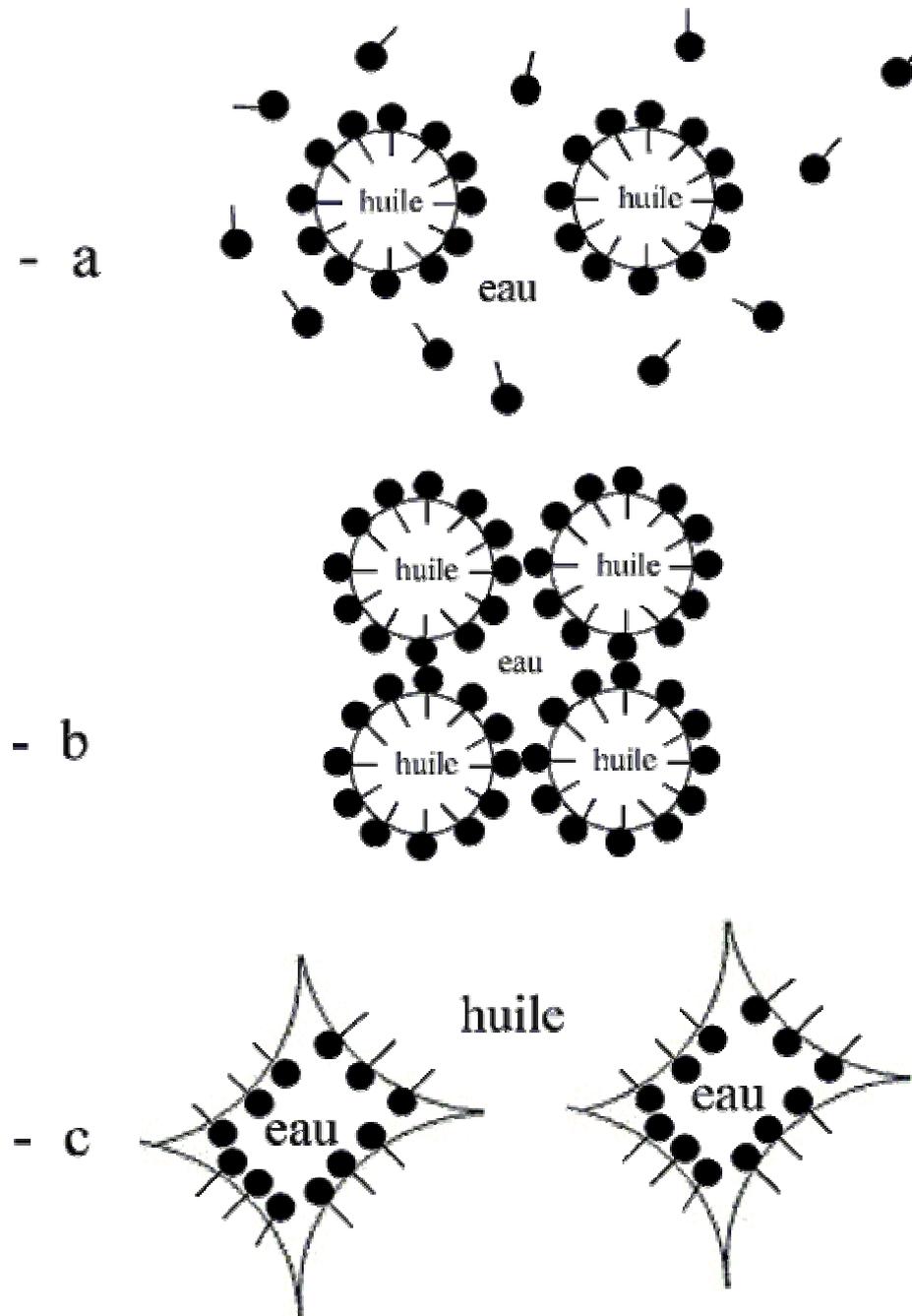


Figure n° 3 : Mécanisme de l'inversion de phase [11, 14, 15]

La figure 3a représente un globule d'huile dispersé dans l'eau et stabilisé par un film de cholestérol et de cétylsulfate de sodium. Les particules portent une charge négative.

L'addition d'un cation multivalent (Ba^{++} ou Ca^{++}) neutralise la charge superficielle (figure 3b). Les globules flocculent, emprisonnent une certaine quantité de phase aqueuse et un film se forme à la surface de cette dernière.

Les globules d'huile (figure 3c) subissent le phénomène de la coalescence et l'huile devient la phase continue.

II.4 Critères de stabilité

En résumé, la stabilité d'une émulsion est favorisée par plusieurs critères : des critères purement géométriques, les propriétés physiques de chacune des phases, les propriétés de l'émulsifiant et les performances du procédé de formulation [5, 15] :

- un faible volume de phase dispersée,
- une faible différence de masse volumique entre les phases,
- des interactions coulombiennes répulsives (potentiel zéta élevé),
- une solubilité préférentielle de l'émulsifiant dans la phase continue,
- une viscosité élevée de la phase continue,
- un film interfacial mécaniquement résistant et élastique,
- une faible tension interfaciale (de très basses tensions interfaciales peuvent toutefois engendrer une instabilité du système).
- Un faible diamètre moyen des gouttelettes et une distribution des tailles des gouttes étroite.

Une élévation de la température conduira souvent à la rupture de l'émulsion, en effet :

- l'agitation thermique multiplie les collisions, rendant plus probables les occasions de coalescence,
- la viscosité diminue,
- l'agent émulsifiant risque d'être désactivé,
- si les masses volumiques des phases ont été prises à une certaine température, une variation de cette dernière ne peut qu'en accroître l'écart.

III. Les agents tensioactifs

III.1. Définition des agents de surfaces

Les surfactifs, encore appelés tensioactifs ou mieux agents de surfaces, sont des substances amphiphiles qui présentent la particularité d'être à la fois polaire et apolaire, c'est-à-dire comportant une partie hydrophobe (compatible avec les huiles) et une partie hydrophile (ayant une affinité pour l'eau).

La figure n°4 représente la façon dont est généralement schématisée une molécule de surfactif.

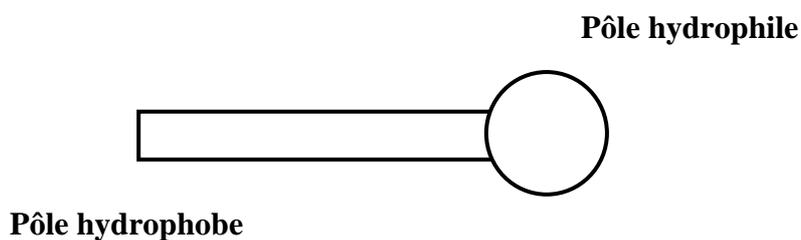


Figure n° 4 : Représentation schématique d'une molécule de tensioactifs [8]

III.2. Propriétés des agents de surfaces

Les surfactifs sont caractérisés par trois propriétés essentielles [6, 8, 11]:

- Ils ont la propriété d'être amphiphile,
- Les surfactifs sont des produits qui grâce à leur structure amphiphile ont la propriété de s'adsorber aux différentes interfaces, ils s'adsorbent notamment aux interfaces gaz-liquides, liquides-liquides ou solides-liquides, et généralement ils forment au niveau de ces dernières des films monomoléculaires.
- Ils sont capables de former des micelles lorsqu'ils sont en solution à partir d'une certaine concentration appelée concentration micellaire critique (CMC), la forme de ces micelles est soit sphérique soit cylindrique (figure n°5).

Grâce à ces propriétés les agents tensioactifs présentent de nombreux pouvoirs [5]:

- pouvoir émulsionnant : En s'adsorbant à l'interface, ils forment un film monomoléculaire qui abaisse la tension interfaciale et favorise l'émulsification.

- pouvoir mouillant : En s'adsorbant à la surface d'un liquide, ils abaissent la tension superficielle et diminuent l'angle de contact liquide - solide favorisant ainsi l'étalement.
- pouvoir moussant : l'abaissement de la tension à l'interface liquide - gaz favorise la formation de mousse (dispersion d'un gaz dans un liquide).
- pouvoir solubilisant : ils sont capables de faire passer en solution des composés normalement insolubles en les insérant dans des micelles (Figure n° 5 et 6).
- pouvoir détergent : ils peuvent éliminer des souillures fixées sur un solide en combinant les deux propriétés précédentes (mouillante et solubilisante).
- Ils sont également bactériostatiques et bactéricides.

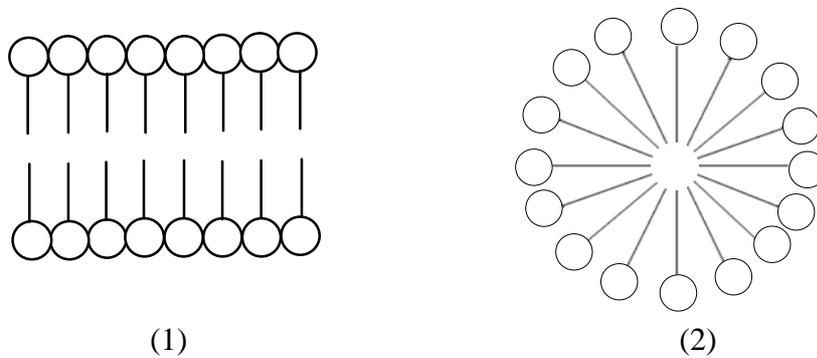


Figure n°5 : Structure des micelles [12, 16] : (1) = lamellaire
(2) = sphérique

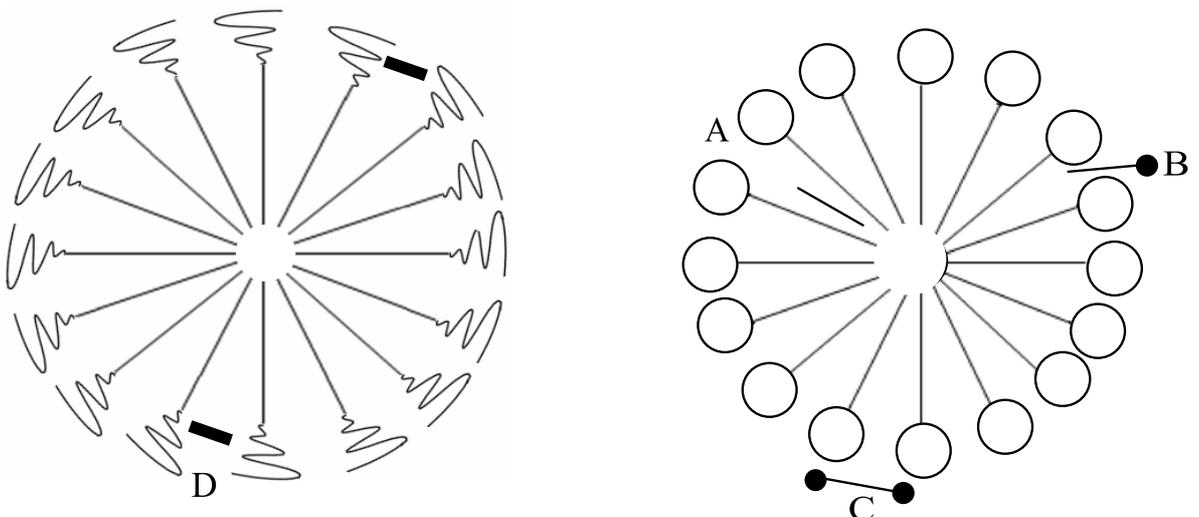


Figure n°6 : Insertion des molécules hydrophobes dans les micelles [12, 16]

- A : profonde pour les hydrocarbures,
- B : moins profonde pour les acides gras,
- C : superficielles pour d'autres molécules hydrophobes telles que le phtalate de méthyle,
- D : dans le cas des surfactifs à chaîne de PEG, l'insertion se ferait uniquement dans les groupements oxyde d'éthylène.

III.3. Classification des surfactifs

Les surfactifs sont généralement classés d'après leur mode d'ionisation dans l'eau. Il est classique de distinguer :

- Les surfactifs anioniques,
- Les surfactifs cationiques,
- Les surfactifs non ioniques,
- Les surfactifs amphotères.

Les surfactifs les plus employés dans le domaine des émulsions sont les surfactifs non ioniques.

Bien que tous les surfactifs soient amphiphiles, leurs propriétés d'agent de surface varient en fonction de l'importance relative de la partie hydrophile et de la partie lipophile de leur molécule.

III.3.1. Les surfactifs anioniques

Ce sont des surfactifs qui s'ionisent dans l'eau et dont l'ion de plus grande dimension, qui est la partie active, est constitué par l'anion hydrophile auquel est associé un cation alcalin [5, 6, 8].

➤ Les savons : ce sont des sels d'acide gras, de formule générale : $R - COOM$

R est le plus souvent un reste :

d'acide laurique : $CH_3 - (CH_2)_{10} - COOH$,

d'acide myristique : $CH_3 - (CH_2)_{12} - COOH$,

d'acide palmitique : $CH_3 - (CH_2)_{14} - COOH$,

d'acide stéarique : $CH_3 - (CH_2)_{16} - COOH$,

d'acide oléique : $CH_3 - (CH_2)_7 - CH = CH - (CH_2)_7 - COOH$.

- Dérivés sulfates: Ce sont des sels d'esters sulfuriques d'alcool. Ils ont pour formule générale :



R est souvent un reste d'alcool laurique :

Lauryl sulfate de sodium : $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{11} - \text{O} - \text{SO}_3\text{Na}$,

Lauryle sulphate de mono ou de triéthanolamine,

- Dérivés sulfonés : ce sont des produits dans lesquels le radical est lié directement à l'atome de soufre :



Ils comprennent :

- Les dialkylsulfosuccinates,
- Les alkylarylsulfonates,
- Les paraffines linéaires sulfonées.

III.3.2. Les surfactifs cationiques

Ils ont la propriété de s'ioniser dans l'eau en donnant une partie hydrophile chargée positivement. La plus part de ces tensioactifs sont des produits azotés dans leur formule, On retrouve une longue chaîne hydrocarbonée R et un atome d'azote de charge positive associé à un anion halogénure [6, 11, 12].

- Des surfactifs cationiques à N - aliphatique

Dans ce groupe, on distingue des composés dont la chaîne hydrocarbonée est d'origine végétale ou animale ou encore d'origine minérale.

R d'origine végétale :

Ce groupe comprend :

- Des sels d'amines : $\text{R R}'\text{R}'' - \text{N} - \text{HX}$
- Des sels de N oxydes d'amines : $\text{R R}'\text{R}'' - \text{N}^+ - \text{O}$
- Des sels d'ammoniums quaternaires : $\text{R R}'\text{R}'' - \text{N}^+ - \text{R}'''\text{X}$

R d'origine minérale :

Ils sont obtenus à partir de dérivés du pétrole comme les paraffines et oléfines, ils comprennent :

- Des amines primaires à C secondaires,



- Des diamines primaires à C secondaires,



- Des sels d'ammoniums quaternaires,



- Des produits éthoxylés.

➤ Des surfactifs cationiques à N hétérocyclique

Ce sont des produits qui dérivent pour la plus part de la pyridine ou de l'isoquinoléine.

III.3.3. Les surfactifs amphotères ou ampholytes

Les surfactifs amphotères sont des produits qui renferment à la fois des groupements acides et des groupements basiques et qui, suivant le pH du milieu dans lequel ils se trouvent, se comportent soit comme des surfactifs anioniques soit comme des surfactifs cationiques. Ce groupe comprend [8] :

- Les alkyls-bétaines et les alkyl amido-bétaines,
- Les alkylimidazolines,
- Les alkylpolypeptides,
- Les lipoaminoacides

III.3.4. Les surfactifs non ioniques

Ce sont des surfactifs qui ne s'ionisent pas dans l'eau. Ils sont généralement classés d'après la nature de la liaison qui unit leur partie hydrophile à leur partie lipophile. [6,8]

➤ Surfactifs non ioniques à liaison ester :



- Ester de glycols

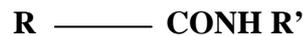
- Ester de glycérol
- Ester de polyoxyéthylène glycols
- Ester de saccharose
- Ester de sorbitanne (spans 20, 40, 60, 80)
- Ester de sorbitanne polyoxyéthylénés (Tween 20, 40, 60, 80)

➤ Surfactifs non ioniques à liaison éther :



- Esters d'alcools gras et de polyoxyéthylène – glycols
- Ester de phénols et de polyoxyéthylène glycols

➤ Surfactifs non ioniques à liaison amide :



- Monoéthanolamides
- Diéthanolamides
- amides polyoxyéthylènes

➤ les copolymères d'oxydes d'alkylènes:

Les copolymères d'oxydes d'alkylènes sont obtenus par addition d'oxydes d'alkylènes différents (oxyde d'éthylène et de propylène) à une substance initiatrice.

IV. Formulation des émulsions

En générale la formulation peut être définie comme l'ensemble des connaissances et des opérations mises en oeuvre lors du **mélange, de l'association ou de la mise en forme d'ingrédients** d'origine naturelle ou synthétique, souvent incompatibles entre eux, de façon à obtenir un produit commercial caractérisé par sa **fonction d'usage** et son aptitude à satisfaire un **cahier des charges** préétabli. Parmi les constituants d'une formule, il faut distinguer les **matières actives** remplissant la fonction principale recherchée et les **auxiliaires de formulation** qui jouent des rôles accessoires.

Formuler une émulsion c'est obtenir une dispersion homogène et stable d'un liquide dans un autre liquide non miscible au premier. Puisque un tel système est réputé fragile, comment dans de telles conditions mettre au point une émulsion et lui assurer les meilleures garanties de demeurer stable pendant toute la durée de conservation?

A l'heure actuelle la classification qui permet de guider le mieux le choix du formateur et d'éviter de nombreux essais préliminaires, est celle proposée par Griffin en 1949, désignée par l'expression anglo - saxonne hydrophile – lipophile balance (HLB). Elle a permis ultérieurement, de développer la notion de HLB critique qui est une caractéristique des phases huileuses [5, 6, 12, 17].

Lors de la formulation des émulsions, le principal problème qui se pose est celui du choix des émulsionnants et, pour faciliter ce dernier, plusieurs méthodes sont actuellement utilisées :

- Méthodes fondées sur les notions de HLB et HLB critique ;
- Méthode fondée sur l'établissement des diagrammes ternaires eau – surfactif – huile.

IV.1. Méthodes fondées sur le HLB et le HLB critique

IV.1.1. Concept HLB

La balance hydrophile lipophile (HLB) est une caractéristique des surfactifs. Elle est censée représenter l'équilibre entre les groupements hydrophiles et lipophiles et sa valeur est fonction directe de la partie hydrophile dans la molécule du surfactif. Elle est élevée lorsque la fraction hydrophile est prédominante et faible si la molécule est plus lipophile qu'hydrophile.

Pour mesurer cet équilibre, on donne au HLB une valeur arbitraire de 0 à 40 (au départ cette valeur allait jusqu'à 20, par la suite avec les progrès de la synthèse organique, on s'est aperçue que certains tensioactifs pouvaient être plus hydrophiles).

0 étant attribué à un surfactif totalement hydrophobe et 40 à un surfactif totalement hydrophile. Aux environs de la valeur 10 il y a équilibre entre les groupements polaires et apolaires. Les valeurs inférieures à 10 donnent des tensioactifs à prédominance lipophile tandis que celles supérieures donnent des tensioactifs à prédominance hydrophiles [6, 8] (figure n° 7)

L'intérêt de cette classification, fondée sur le HLB, est qu'il est aisé de distinguer entre les principales propriétés des surfactifs (tableau n°2).

Tableau n°2 : Propriétés des agents de surfaces en fonction de leurs valeurs HLB [8].

Propriétés des agents de surface	Valeurs HLB
Antimoussants	1,5 – 3
Emulsionnants eau dans l'huile	3 – 6
Mouillants	7 - 9
Emulsionnants huile dans l'eau	8 – 13
Détergents	13 – 15
Solubilisants	15 - 18

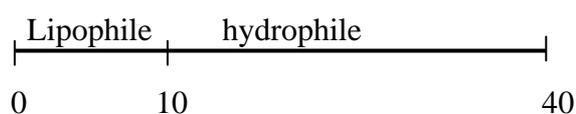


Figure n°7 : Balance hydrophile lipophile

Le HLB est une propriété additive ; Le HLB d'un mélange de plusieurs tensioactifs est le HLB moyen de ces produits, compte tenu des proportions du mélange :

IV.1.2 Détermination de HLB des surfactifs

Le HLB des surfactifs peut être déterminé par calcul selon Griffin, Kawakami, Morre et Bell, Davies et Rimlinger, ou par voie expérimentale lorsque le HLB ne peut pas être déterminé par calcul ; de nombreuses techniques ont été proposées comme la méthode de

Griffin, Dispersion dans l'eau, Titration aqueuse, Méthodes chromatographiques, Mesure de la Concentration micellaire critique, Mesure du coefficient d'étalement, Mesure de la tension interfaciale, la spectrométrie de masse, la mesure de la constante diélectrique, et la résonance magnétique nucléaire du proton [8, 12, 18].

IV.1.3. Notion de HLB critique

IV.1.3. 1. Définition du HLB critique

Contrairement à la notion de HLB qui est une caractéristique des surfactifs, la notion de HLB critique est une caractéristique des phases huileuses.

Le HLB critique d'une phase huileuse correspond au HLB du mélange d'émulsifiants qui, dans des conditions opératoires bien précises, permet d'obtenir avec cette phase huileuse et de l'eau, l'émulsion la plus stable. Il est encore appelé HLB optimale ou requis [8,9].

Comme les valeurs HLB, les HLB critiques sont des valeurs additives, c'est-à-dire des valeurs qui permettent de connaître le HLB critique d'un mélange de deux ou plusieurs huiles en prenant en considération la proportion des différentes huiles dans le mélange.

$$(HLB)_m = \sum (HLB)_i \cdot X_i \quad \dots\dots\dots(5)$$

$(HLB)_m$: HLB optimale du mélange,

$(HLB)_i$: HLB optimale du composé lipophile du rang i,

X_i : proportion dans le mélange du composé.

IV.1.3.2. Détermination du HLB critique

La détermination du HLB critique d'une phase huileuse ne peut se faire que par voie expérimentale. Elle consiste à réaliser une série d'émulsions contenant chacune un mélange de surfactifs. Le HLB du mélange fournissant l'émulsion la plus stable est alors considéré comme le HLB critique de l'huile utilisée.

Pour une détermination aisée, il est essentiel de choisir :

- Une formulation simple,
- Un mode opératoire bien défini,
- Des critères d'appréciation très précis.

IV.1.3.3. Influence de quelques paramètres sur la valeur du HLB critique

La valeur HLB critique varie avec un certain nombre de facteurs :

- Le mode de fabrication n'a que peu d'influence sur la valeur du HLB critique.
- La concentration en émulsifiants a une influence déterminante. Ainsi le HLB optimale croît notablement avec l'augmentation de la teneur en surfactif.
- Le HLB critique de l'huile varie avec la structure chimique des surfactifs. Pour une même huile, la valeur du HLB critique varie de quatre unités HLB selon qu'il s'agit d'éther ou d'ester. Il est plus élevé avec les esters, c'est-à-dire par exemple avec un mélange de Spans et de Tweens qu'avec les éthers comme le Brij.

IV.2. Méthodes fondées sur l'établissement des diagrammes ternaires

eau – surfactif – huile.

Cette méthode consiste à établir expérimentalement le diagramme d'équilibre de trois phases eau – surfactif – huile. Le mode de représentation utilisée est le triangle équilatéral. Les constituants respectifs des trois constituants sont portés pour chacun des trois cotés du triangle.

Ce mode de représentation permet d'avoir une vue d'ensemble des résultats obtenus lorsque sont mélangés en différentes proportions de l'eau, une huile et un surfactant ou un mélange de surfactants.

A titre d'exemple, la figure n° 9 représente le diagramme eau – huile de paraffine – Brij 76. L'étude de nombreux systèmes ternaires eau – surfactifs – huile permet de faire deux constatations importantes.

- Les émulsions sont des systèmes appariés lorsque en mélange de l'eau, de l'huile et un émulsifiant ou un mélange d'émulsifiants.
- Pour une huile donnée, l'examen des diagrammes obtenus avec diverses associations d'un même couple et de proportions différentes de surfactifs, montre que le nombre d'émulsions stables passe par un maximum pour un HLB critique de l'huile émulsionnée.

Ces constatations permettent de concevoir une méthode rationnelle susceptible d'être utilisée dans la formulation des émulsions ; cette méthode peut se concevoir en trois points :

- Détermination de HLB critique de l'huile.
- Etablissement des diagrammes ternaires avec des mélanges de surfactifs de HLB égale au HLB critique de l'huile.
- Recherche, parmi les émulsions obtenues, laquelle présente les caractères souhaités.

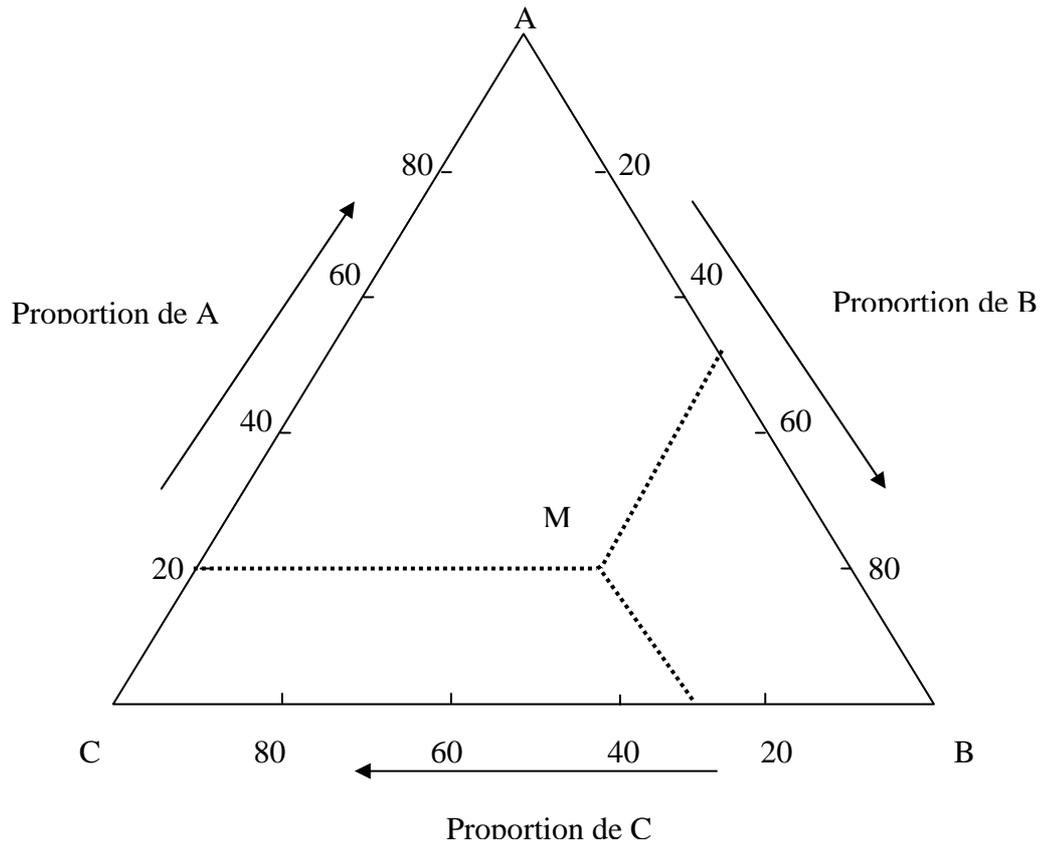


Figure n° 8 : Lecture des proportions des trois constituants selon le triangle équilatérale

M correspond au mélange composé de 20 % de A, 50% de B et 30 % de C.

Brij 76

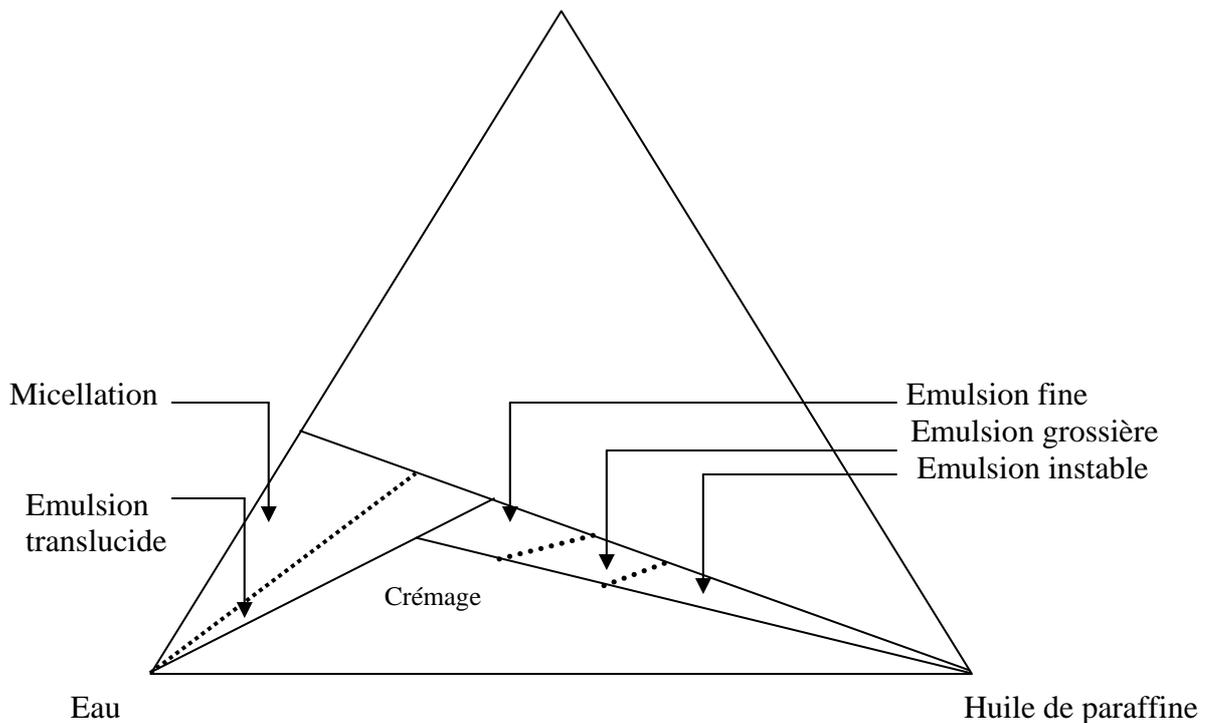


Figure n° 9 : Etude de domaine des émulsions pour le système : eau - huile paraffine – Brij 76

IV.3 Préparations des émulsions pharmaceutiques

Les émulsions pharmaceutiques étant thermodynamiquement instables, leur stabilité dépend non seulement des émulsionnants choisis mais du mode de fabrication.

Le principe général de la préparation d'une émulsion pharmaceutique consiste à disperser l'une des phases dans l'autre par agitation, le ou les émulsionnants ainsi que les autres constituants étant dispersés ou dissous dans l'un ou l'autre liquide.

Chacune des deux phases peut renfermer un ou plusieurs principes actifs et divers adjuvants tels que des substances antimicrobiennes, des conservateurs, des colorants et des aromatisants.

A la fin de l'opération une homogénéisation éventuelle peut être procédée.

Les problèmes qui se posent sont nombreux, Les plus importants concernant :

- Le mode d'introduction des émulsionnants ;
- La température de fabrication ;
- Le mode d'introduction des phases ;
- Le mode de refroidissement ;
- Le choix de l'appareillage.

IV.3.1 Mode d'introduction des émulsionnants

L'introduction des émulsionnants peut se faire de cinq façons différentes :

- Introduction des émulsionnants dans la phase aqueuse;
- Introduction des émulsionnants dans la phase huileuse;
- Introduction des émulsionnants dans leur solvant préférentiel, c'est-à-dire l'émulsionnant hydrophile dans l'eau et l'émulsionnant lipophile dans l'huile;
- Addition aux émulsionnants de façon alternative et par petites fractions de la phase huileuse puis de la phase aqueuse;
- Préparation de l'émulsionnant in situ en introduisant, par exemple, un acide gras dans l'huile et une base dans l'eau.

Les caractères de l'émulsion obtenue varient suivant le mode d'introduction choisi et seuls des essais préliminaires permettent de connaître celui qui est le plus favorable.

IV.3.2 Température de fabrication

Le mélange de deux phases peut être fait à température ordinaire ou bien les deux phases peuvent être chauffées toute les deux à une température comprise entre 50 et 80 °C.

Dans certain cas, l'une des phases est maintenue à température ordinaire tandis que l'autre phase est portée à une température comprise entre 50 et 80 °C.

IV.3.3 Mode d'introduction des phases

Il existe trois possibilités d'introduction de l'une des phases dans l'autre :

➤ Soit introduire la phase dispersée dans la phase dispersante, dans ce cas la phase dispersée est ajoutée progressivement et sous agitation dans la phase externe. L'incorporation de la phase interne doit se faire très lentement au début. Mais lorsque une émulsion suffisamment stable est formée. L'addition de la phase interne se fait plus rapidement.

➤ Soit au contraire la phase externe est introduite dans la phase interne.

Dans le cas de la préparation d'une émulsion H/E, l'eau est incorporée progressivement dans l'huile, au début il y a formation d'une émulsion E/H puis lorsque la quantité d'eau dépasse un certain taux, il y a inversion de phase et formation de l'émulsion désirée, c'est-à-dire une émulsion H/E. toute fois cette technique donne souvent des émulsions plus stable.

➤ Ou bien ajouter les deux phases à incorporer alternativement et par portion aux émulsionnants.

IV.3.4 Mode de refroidissement

Le refroidissement d'une émulsion doit être effectué sous agitation jusqu'à ce que la préparation atteigne la température du laboratoire.

IV.3.5 Choix de l'appareillage

Le choix de l'appareillage est important car l'appareillage influe directement sur la taille des particules et donc sur la stabilité de l'émulsion.

Deux types d'appareils sont utilisés :

- Les agitateurs qui servent à préparer l'émulsion.
- Les homogénéisateurs qui servent à réduire la taille des globules de l'émulsion.

V Les plans d'expériences

V.1 Introduction

Dans ce chapitre nous introduisons une terminologie propre aux plans d'expériences, qui sera l'occasion d'appliquer une méthodologie pour organiser les différentes phases qui interviennent dans la résolution de problèmes scientifiques. Cette méthodologie est divisée en trois parties :

- **La construction du plan d'expériences** : comportent les étapes qui permettent de construire un plan d'expérience, manuellement ou avec l'aide d'un logiciel.
- **La réalisation des expériences** : cette partie nécessite des connaissances spécifiques à chaque spécialité.
- **L'interprétation des résultats d'expériences** : l'interprétation consiste à extraire les faits les plus remarquables qui se dissimulent dans les résultats des essais.

V.2 Préparation du plan d'expériences

Les principales phases de préparation du plan d'expériences sont [23] :

- Description du plan ou du procédé,
- Définition des objectifs de l'étude,
- Choix des réponses pour atteindre l'objectif,
- Choix des facteurs qui peuvent modifier la réponse,
- Définition du domaine de variation de chaque facteur,
- Choix du plan.

V.3 Description de l'étude

Dans notre étude nous allons formuler un système modèle qui est un « placebo » ou bien une émulsion pharmaceutique H/E à 20/75 % contenant 5 % du mélange émulsionnants. Afin d'évaluer la stabilité physique de l'émulsion pharmaceutique, nous allons évaluer les réponses suivantes : aspect, pH, conductivité électrique, viscosité, taille des particules. Nous réaliserons également des tests de vieillissement accéléré. Les facteurs (variables opératoires) sont la température de fabrication, le taux de mélange d'émulsionnant et la vitesse d'agitation. Ces facteurs ont été fait variés dans les domaines suivants :

- Température d'introduction des phases (**Temp** :50-90 °C)
- Vitesse d'agitation (**Vit.** : 300-900 tr/min)
- Taux d'émulsionnants (τ : 3-7 %).

V.4 Plan d'expérience et Surface de réponse

Le choix du nombre et de l'emplacement des points d'expériences est le problème fondamental des plans d'expériences. Donc il faut trouver la solution au problème posé en réalisant le minimum d'expériences et avec quasi-certitude. On atteint ce but en considérant les propriétés mathématiques et statistiques qui relient les réponses aux facteurs.

Si on veut effectuer le moins d'essais possibles, on choisit les points dont les coordonnées sont les niveaux hauts et les niveaux bas des facteurs (ce sont des points situés aux sommets du domaine d'étude). Ce type de plan s'appelle un plan factoriel complet et on le note 2^3 , le 2 représente le nombre de niveaux de chaque facteur, le 3 en exposant représente le nombre de facteurs. Mais c'est très intéressant de rajouter des points au centre de chaque domaine d'un facteur qui servent comme des points de contrôle.

A chaque point du domaine d'étude correspond une réponse et à l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui définit une surface appelée la surface de réponse. Les plans d'expériences permettent de situer avec précision cette surface de réponse en effectuant un minimum d'essais. La connaissance de la surface de réponse permet de résoudre la plupart des problèmes pratiques qui se posent à l'expérimentateur, puisque elle montre le comportement de la réponse quand on fait varier les niveaux des facteurs [23, 27, 28].

Remarque :

Généralement dans les tableaux de plan d'expérience, on utilise les unités codées, qui proviennent d'une transformation des unités d'origine. La transformation consiste à attribuer la valeur -1 au niveau inférieur d'un facteur, 0 pour la valeur au centre et la valeur +1 au niveau supérieur.

Le passage des variables d'origine, notées A, aux variables centrées réduites, notées x est donné par la formule suivante :

$$x = \frac{A - A_0}{Pas} \dots\dots\dots(6)$$

Ou A_0 : est la valeur centrale en unités courantes,

Pas : est le pas d'un facteur.

Par exemple si on veut connaître la valeur réduite du niveau 50 de la température de travail :

$$x = \frac{A - A_0}{Pas} = \frac{50 - 70}{20} = -1$$

VI. Caractérisation des émulsions formulées

VI.1 Aspect des émulsions

L'examen est pratiqué à l'œil nu directement sur les émulsions conservées dans des tubes en verre à fond plat avec bouchons en aluminium. Les principaux caractères notés sont les suivants :

- aspect et consistance : émulsion blanche ou jaune, épaisse ou fluide,
- stabilité : absence ou présence d'un crémage, d'une coalescence ou d'une séparation.

Le tableau ci-dessous indique la correspondance entre l'aspect et la dimension moyenne des gouttelettes émulsionnées.

Tableau n° 3 : Correspondance entre l'aspect et la taille des globules [7, 8]

Aspect de l'émulsion	Dimension
Emulsion blanche laiteuse	> 1 μm
Emulsion blanche à reflet bleuté	0,1 – 1 μm
Emulsion grise semi transparente	0,05 – 0,1 μm
Emulsion transparente	< 0,05 μm

VI.2 Mesures de pH

Etant donné que certains médicaments ont une stabilité maximale à une valeur spécifique du pH, une légère fluctuation de ce dernier peut avoir des effets indésirables. La mesure de ce paramètre peut s'avérer très importante pour le suivi et le contrôle du procédé de fabrication. D'autant plus importante pour les émulsions car toute dérive du pH pourrait engendrer des variations des propriétés rhéologiques de celles-ci et compromettre leurs stabilités.

VI.3 Mesure de la conductivité (sens de l'émulsion)

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer le sens d'une émulsion, nous citons entre autres la méthode par dilution, la méthode aux colorants et la méthode par conductimétrie qui est la plus utilisée. Une émulsion huile dans l'eau est plus conductrice qu'une émulsion eau dans l'huile.

La conductivité électrique de l'émulsion et celle de sa phase aqueuse sont mesurées séparément. Une émulsion de type L/H est plus conductrice tandis que celle de type H/L est beaucoup moins conductrice, étant donnée la nature pratiquement isolante de la phase huileuse.

VI.4 Mesure de la viscosité

Une mesure de la viscosité et de son évolution dans le temps, ou mieux, un examen de son comportement rhéologique, montre si l'émulsion est suffisamment visqueuse, « collable » ou facile à étaler, selon l'usage qui en sera fait.

Le viscosimètre utilisé dans notre travail est de type CANNON – FENSKE utilisé pour mesurer la viscosité cinématique des liquides opaques newtoniens (figure n° 10).

- Procédure de mesure de viscosité : la procédure est décrite dans la norme française AFNOR NF T 60-100

Le viscosimètre tenu à l'envers, le tube A est immergé dans l'échantillon porté à 40 °C, quand l'air est aspiré à partir du tube L, l'échantillon traverse le tube A et le réservoir B jusqu'à la ligne C, ensuite le viscosimètre est retourné. Lorsque le liquide arrive au repère F, le chronomètre est déclenché pour mesurer le temps écoulé de F à H (réservoir G) ou du repère H à K c'est-à-dire le temps écoulé pour remplir le réservoir J. Ce viscosimètre permet d'effectuer des mesures entre 0,4 et 16 000 c St [19].

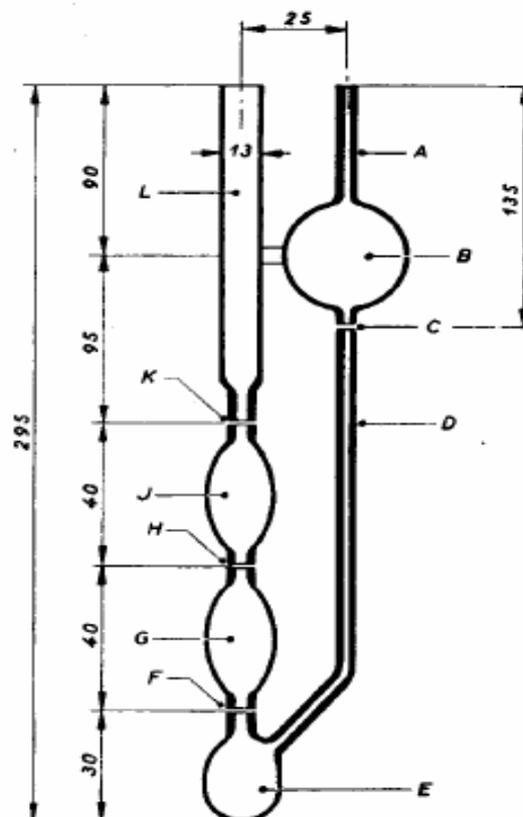


Figure n°10 : viscosimètre CANNON – FENSKE [19]

VI.5 Etude de la stabilité

Il n'est pas possible de relier de façon sûre une durée de stabilité dans des conditions choisies à une durée de stabilité dans des conditions accélérées. Cependant si une émulsion résiste à ces conditions sévères, elle aura de fortes chances de rester stable jusqu'à son utilisation.

Parmi les tests utilisés, citons [5] :

- Les stockages à chaud vers + 40 °C et à froid entre +5 et +10 °C,
- La centrifugation,
- Les cycles chaud et froid (16h à froid et 8 h à chaud),
- Les cycles gel dégel entre -10 et + 23°C.

Dans notre étude nous avons examiné l'effet du stockage à + 40 °C et + 10 °C pendant 7 jours et de la centrifugation à une vitesse de 1800 tr /min.

VI.6 Examen microscopique ou taille des gouttelettes

La dimension des particules de la phase dispersée, qui fait l'objet d'une étude granulométrique, est une partie très précieuse, recommandée pour un discernement complet d'une dispersion. En outre la connaissance de la taille moyenne des particules suspendues peut aider le formulateur à prévoir les tendances et les caractéristiques d'arrangement, donc savoir si les particules vont disperser ou flocculer et par voie de conséquence utiliser d'autres alternatives, telle que l'homogénéisation, pour modifier la distribution des particules et pour améliorer, de ce fait, la qualité du produit, son efficacité, et sa stabilité.

De nombreux facteurs influence la taille et la distribution des globules au cours de l'émulsification. Parmi les plus importants, signalons :

- la nature et la concentration du surfactif ;
- le mode d'addition des phases, et des émulsifs lors de l'émulsification ;
- l'intensité et la durée d'agitation ;
- La température.

Généralement cet examen est effectué en utilisant un microscope électronique mais selon nos moyens nous avons utilisé un microscope optique type HERTEL et RESSUS optic – Kassel 55976 -.

Cet examen s'effectue en plaçant une goutte d'émulsion entre lame et lamelle et nous estimons la taille des gouttelettes par le microscope.



*Partie
Pratique*

I. Introduction

Dans le présent travail, nous nous proposons de formuler un placebo, qui est une émulsion pharmaceutique sans principe actif et d'étudier l'influence de quelques paramètres opératoires, (température de fabrication, vitesse d'agitation) et de la concentration en agents émulsionnants sur la stabilité physique du système.

Dans une première étape, nous avons commencé par la sélection du meilleur mélange de tensioactifs (agents émulsionnants) pour formuler une émulsion d'huile de soja dans l'eau.

Après avoir sélectionné le bon couple d'émulsionnants, nous avons recherché le HLB critique de l'huile à émulsionner, pour déterminer la composition du mélange d'agents tensioactifs qui se rapproche le plus de cette valeur de HLB.

La dernière partie est consacrée à l'optimisation de quelques paramètres en utilisant un plan d'expériences qui a permis de modéliser les propriétés étudiées en vue de cette optimisation. Ce plan d'expérience (plan composite centré) prévoit la variation des paramètres dans le domaine d'étude de manière à recueillir un maximum d'informations tout en utilisant un nombre réduit d'essais.

II. Choix du mélange émulsionnant

La première étape de l'étude expérimentale consiste à choisir quelques agents émulsionnants. La définition des conditions optimales de préparation ne sera possible que dans une deuxième étape après avoir déjà effectué cette sélection de tensioactifs. Dans cette première étape nous avons recouru à un test très simple qui consiste à placer dans un tube à essai ou dans une éprouvette bouchée, la phase lipophile plus la phase hydrophile dans les proportions retenues, après dissolution des émulsionnants dans l'une des phases, ce mélange est agité manuellement par secousses verticales pendant quelques secondes. L'essai réalisé avec deux ou trois tensioactifs de HLB différents permet d'évaluer la facilité de dispersion de l'une des phases dans l'autre [5].

II.1 Matières premières utilisées

Nous résumons dans le tableau suivant toutes les matières premières utilisées :

Tableau n° 4 : Les matières premières utilisées

Matière première	Rôle
Monolaurate de sorbitanne polyoxyéthylène (Span20)	Emulsifiant
Monostéarate de sorbitanne polyoxyéthylène (Span60)	Emulsifiant
Monooléate de sorbitanne polyoxyéthylène (Span80)	Emulsifiant
Monolaurate de sorbitanne (Tween 20)	Emulsifiant
Monostéarate de sorbitanne (Tween 60)	Emulsifiant
Monooléate de sorbitanne (Tween 80)	Emulsifiant
Lécithine de soja	Emulsifiant
Huile de soja	Phase dispersée
Eau déminéralisée	Phase dispersante

➤ Les sorbitanes polyoxyéthylénés et les sorbitanes

C'est des tensio-actifs non ioniques, lipophiles ou hydrophiles respectivement, utilisés en pharmacie pour construire des émulsions huile dans l'eau et des suspensions ainsi dans l'industrie cosmétique et alimentaire.

Leur concentration ne doit pas dépasser 15 % lorsqu'ils sont utilisés comme émulsifiant, elle est comprise entre 1 et 15 % si le tensio-actifs est seul et entre 1 et 10 % si le tensio-actifs est combiné avec d'autres émulsifiants [20].

▪ **Caractéristiques des sorbitannes polyoxyéthylénés**

pH : varie de 6,0 à 8,0 dans une solution aqueuse à 5 % m/v,

D'autres caractéristiques des sorbitannes polyoxyéthylénés sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau n° 5 : Caractéristiques physico-chimiques des sorbitannes polyoxyéthylénés [20, 21]

Nom	HLB	Formule empirique	Tension superficielle (mN/m) de 1% solution aqueuse	Aspect	Viscosité (mPa s) à 20 °C
Tween 20	16,7	C ₅₈ H ₁₁₄ O ₂₆	/	huile jaune	400
Tween 60	14,9	C ₆₄ H ₁₂₆ O ₂₆	42,5	huile jaune	600
Tween 80	15,0	C ₆₄ H ₁₂₄ O ₂₆	42,5	huile jaune	425

▪ **Caractéristiques des sorbitannes**

Le tableau suivant regroupe les caractéristiques physico-chimiques des sorbitannes :

Tableau n° 6 : Caractéristiques physico-chimiques des sorbitannes [20, 21]

Nom	HLB	Formule empirique	Tension superficielle (mN/m) de 1% solution aqueuse	Aspect	Viscosité (mPa s) à 20 °C
Span 20	8,6	C ₁₈ H ₃₄ O ₆	28	Liquide jaune visqueux	970
Span 60	4,7	C ₂₄ H ₄₆ O ₆	46	Poudre grise claire	solide
Span 80	4.3	C ₂₄ H ₄₄ O ₆	30	Liquide jaune visqueux	970

➤ **Lécithine de soja**

La lécithine de soja sécrétée par le foie est présente dans notre corps à des taux souvent insuffisants pour lutter contre le cholestérol. Des études scientifiques ont démontrées que la lécithine de soja soutient l'action de la lécithine présente dans notre organisme face à une alimentation trop riche en graisses saturées, prévenant et aide à traiter l'hypercholestérolémie, l'une des causes des maladies cardio-vasculaires. Elle contribue à émulsifier les graisses freinant ainsi leur absorption. Elle lutte ainsi contre le stress et la fatigue et stimule la mémoire. De plus elle constitue un apport en phosphore et en vitamine A et E [20].

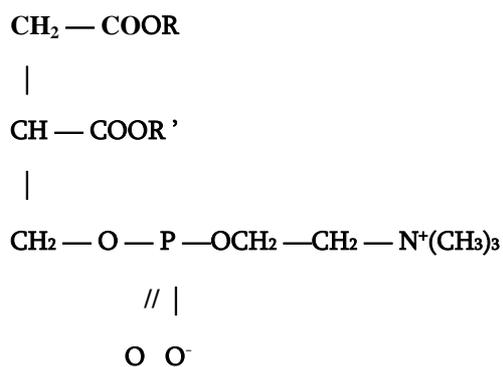


Figure n° 11 : Formule chimique de la lécithine de soja [8, 20]

Cette substance se présente sous la forme d'une molécule : La phosphatidylcholine, c'est un phosphoglycéride (phospholipide dérivé du glycérol), elle peut être utilisée comme émulsifiant ou solubilisant dans plusieurs formes pharmaceutiques (injectable, orale ou dermique), en cosmétologie et en alimentation.

Tableau n°7 : Concentration utilisée dans différentes formes pharmaceutiques [20]

Utilisation	Concentration (%)
Inhalation aérosol	0.1
Injection IM	0,3 – 2,3
Suspensions et émulsions orales	0,25 - 10

L'aspect physique de la lécithine de soja est variable d'un semi - liquide visqueux à une poudre qui dépend de l'abondance des acides gras, la couleur est marron à jaune claire ; cette substance se décompose à des pH extrêmes, elle doit être stockée dans des récipients fermés et à l'abri de la lumière.

▪ **Mécanisme d'action de la lécithine de soja**

La phosphatidylcholine agit favorablement sur l'action des enzymes qui dégradent les lipides tout en évitant sa réabsorption.

▪ **Effet de la lécithine de soja**

La phosphatidylcholine présente d'excellents résultats en cas de graisse localisée, difficile à éliminer par un régime alimentaire ou d'exercices physiques.

➤ Huile de soja

Extraite des graines du soja, l'huile de soja est fluide, son goût est accentué et sa couleur est variable. Elle est très riche en vitamine A, D et E, ce qui lui donne la propriété d'être hypocholestérolémiant. En effet, la vitamine E est un excellent antioxydant qui empêche la formation d'agrégats lipidiques et qui équilibre le taux de cholestérol. L'huile de soja contient également de l'acide linoléique et de la lécithine de soja, lesquels interviennent dans le métabolisme des graisses et réduisent les risques d'hypertension. L'huile de soja protège aussi le système nerveux. Elle est préconisée en cas de nervosité, de diabète, fatigue, pour réduire les risques de problèmes cardio-vasculaires. Et pour contribuer à la protection des systèmes nerveux et cérébral.

Le tableau n°8 illustre les différents composants d'huile de soja [20]

Tableau n° 8 : Composant de l'huile de soja

Composant de l'huile de soja	Pourcentage (%)
Acide linoléique	50 - 57
Acide oléique	17 - 26
Acide palmitique	9 - 13
Acide alpha linoléique	5 - 10
Acide stéarique	3 - 6

Il existe d'autres acides qui se trouvent à l'état de trace dans la composition de l'huile de soja.

L'huile de soja doit être stockée dans des récipients en verre fermés, à l'abri de la lumière, à une température ne dépassant pas 25 °C.

Le stockage prolongé de l'huile de soja à des températures élevées provoque la formation des acides gras par consécutive réduction de pH de l'émulsion. [20]

Remarque : L'huile de soja utilisée dans ce travail est de nature pharmaceutique (Provenance : Saïdal – Complexe antibiotical).

➤ Eau déminéralisée

Obtenue par distillation.

II.2 Test de sélection du mélange de tensioactifs

Les tests réalisés sont résumés dans le tableau présenté ci-dessous:

Tableau n° 9 : Composition des formules en vue de la sélection de l'agent émulsifiant.

Ingrédients	Composition des différentes formules (F _i) %							
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Huile de Soja	20	20	20	20	20	20	20	20
Lécithine de soja	5	2,5	2,5	2,5		2,5	2,5	2,5
Tween 80		2,5						
Tween 60			2,5		2,5			
Tween 20				2,5				
Span 80						2,5		
Span 60					2,5		2,5	
Span 20								2,5
Eau déminéralisée	75	75	75	75	75	75	75	75

A l'issu de ces tests de sélection d'agents émulsionnants, un examen macroscopique de la stabilité au stockage a été effectué.

Après sept jours de stockage à température ambiante, nous avons observé que l'émulsion la plus stable est celle correspondant à la formule n° 5.

III. Recherche du HLB critique

III.1 Proportion des phases et des tensioactifs

Si pour un système phase hydrophile – phase lipophile défini, on cherche les proportions donnant l'émulsion la plus stable, on peut avoir recours à la méthode de diagramme des phases qui permet de définir la zone de formation de l'émulsion la plus stable en fonction des proportions des phases et de l'agent émulsionnant.

Par contre si l'utilisation prévue permet de fixer à l'avance les proportions des phases, la méthode HLB est très largement utilisée pour le choix des émulsionnants, surtout pour les tensioactifs non ioniques.

D'un point de vue pratique, trois groupes d'émulsions sont généralement distingués [5]:

- Les émulsions à faible teneur en phase interne contenant jusqu'à 20 % de phase dispersée, ce sont des émulsions fluides, de faible viscosité, généralement de comportement rhéologique newtonien. Ce sont dans la majorité des cas des émulsions huile dans l'eau.
- Les émulsions à teneur moyenne en phase interne contenant de 20 % à 60 % de phase dispersée. Elles sont beaucoup plus visqueuses que les précédentes et ne sont généralement pas newtoniennes. Comme pour les précédentes, c'est le plus souvent des émulsions huile dans l'eau, citons par exemple les cas des crèmes de soins, des mayonnaises et des sauces pour salades.
- Les émulsions à teneurs élevés en phases internes contenant plus de 60 % de phase dispersée. Ces émulsions correspondent à des cas très particuliers, relativement peu fréquents.

Pour les émulsions à faible teneur en phase interne, la quantité de tensioactif représentera environ 10 % de la phase à émulsionner ; pour les émulsions à teneur moyenne en phase interne, le tensioactif représentera 5 % de l'émulsion finale.

La viscosité de la phase à disperser a une influence sur la facilité d'émulsification et peut orienter le choix de la méthode de mise en émulsion :

- Si l'huile est très fluide, sa dispersion dans l'eau est plus facile et nous pourrions adopter la méthode suivante : l'émulsifiant est dissous dans la phase où il est soluble ou plus facilement dispersible dans le cas de non solubilité. La phase lipophile est additionnée en mince filet dans la phase aqueuse maintenue sous agitation mécanique modérée.

- Si le composé lipophile est moyennement à très visqueux, l'émulsifiant est additionné dans la phase où il est soluble ou le plus facilement dispersible, le meilleur résultat est obtenu si on utilise la **méthode par inversion de phase**. Une agitation plus énergique est nécessaire. Au début, l'émulsion est un système eau / huile généralement fluide. L'eau est ajoutée d'abord par petite quantité en un mince filet jusqu'à l'obtention d'une émulsion blanchâtre. Le reste de l'eau peut alors être ajoutée plus rapidement et sous plus faible agitation. Il est important, pendant la première étape d'ajouter l'eau très lentement et sous agitation efficace de manière à ce que l'eau soit émulsionnée aussi finement que possible.

- Si la phase lipophile est solide, il convient de préparer l'émulsion à chaud de manière à rendre les phases de départ liquides et un très bon résultat est obtenu lorsque les deux phases hydrophile et lipophile sont mélangées à la même température.

Lors des essais d'orientation, il importe de déterminer la zone englobant le HLB optimal et de retenir le mélange des émulsifiants se trouvant dans cette zone [18]. Les proportions des phases hydrophile et lipophile sont fixées à l'avance ainsi que l'ordre d'addition des phases, l'énergie nécessaire et la température de dispersion.

III.2 Formulation et matériel utilisé

- **Formule**

La formule générale adoptée, correspondant à l'essai n° 5 (test de sélection, section II) est la suivante :

Huile de soja	20 g	20 %
Monostéarate du sorbitane (Span 60)	x g	5 %
Monostéarate du sorbitane polyoxyéthyléné (Tween 60)	(5-x)g	
Eau déminéralisée	75 g	qsp 100 %

Les masses respectives de chaque émulsifiant ont été calculées de façon à obtenir 5g d'un mélange ayant le HLB désiré, grâce à la formule suivante :

$$HLB_m = \frac{HLB_l \cdot x}{5} + \frac{HLB_h \cdot (5-x)}{5} \dots\dots\dots(7)$$

HLB_m : HLB du mélange d'émulsifiants,

HLB_l : HLB du monostéarate de sorbitane (span 60),

HLB_h : HLB du monostéarate du sorbitane polyoxyéthyléné (Tween 60),

x : est le poids exprimé en grammes de l'émulsifiant lipophile (span 60).

Au totale une série de treize émulsions est préparée avec des mélanges d'émulsifiants.

Les masses exprimées en grammes d'émulsifiants dans chaque mélange et les HLB_m correspondants sont donnés dans le tableau n° 10.

Tableau n° 10 : Masses respectives des émulsifiants lipophile et hydrophile dans le mélange

HLB_m	x (g)	5 – x (g)
8	3,4848	1,5151
8,5	3,2323	1,7676
9	2,9797	2,0202
9,5	2,7272	2,2727
10	2,4747	2,5252
10,5	2,2222	2,7777
11	1,9696	3,0303
11,5	1,7171	3,2828
11,75	1,5909	3,4091
12	1,4646	3,5353
12,25	1,3383	3,6616
12,5	1,2121	3,7878
12,75	1,0858	3,9141

• **Matériel utilisé**

- Deux thermomètres,
- Deux plaques chauffantes avec agitation magnétique de marque IKA THERM HCT,
- Des béchers de 500 ml de diamètre de 8,5 cm,
- Cristalliseur de diamètre 11,5 cm,
- Agitateur Heidolph type RZR1, à hélice (4 pales, Ø 6,2 cm),
- pH mètre WTW modèle 197,
- Conductimètre de marque EUTECH Instruments, modèle Cyberscan 200,
- Viscosimètre de type CANNON – FENSKE,
- Etuve de marque CBM Torre Picenardi, Mod Panacea, TIPO 430 Classe 1,
- Balance de marque SCALTEC,

- Centrifugeuse HETICH (Modèle EB4III),
- Microscope optique marque HERTEL et RESSUS optic – Kassel 55976 - muni d'un oculaire avec une échelle millimétrique (graduations en $1/100^{\text{ème}}$ de mm).

III.3 Mode opératoire

Les émulsions lipophiles / hydrophiles sont préparées selon la méthode d'inversion de phase. 200 g d'émulsion sont préparés pour chaque formule (figure n° 10).

Le couple Span 60 – Tween 60 est dissous dans l'huile de soja à une température d'environ 70 °C. L'eau, préalablement chauffée à 70°C est ensuite introduite progressivement dans l'huile sous agitation mécanique à l'aide de l'agitateur à hélice, tournant à 300 tr / min. Après 10 min d'agitation, on refroidit en ajoutant un peu de glace dans le bain. Au bout de 25 min d'agitation, la température du mélange est de l'ordre de 50 °C. Le bain est encore refroidi par de la glace, la température de l'émulsion après 30 min d'agitation est de l'ordre de 25 °C (température ambiante) [6].

L'opération terminée, l'émulsion est stockée dans des tubes et flacons en verre pour les différentes caractérisations. Ces échantillons sont stockés dans un endroit sec, à l'abri de la lumière pendant une semaine.

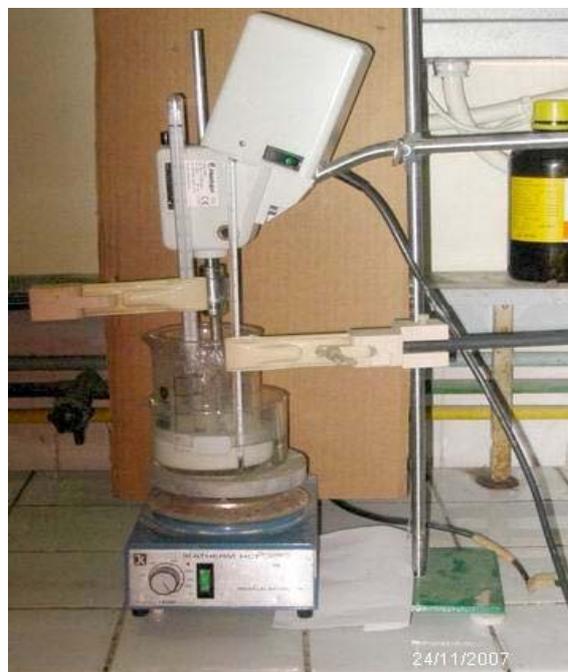


Figure n°12 : Mode opératoire de l'émulsification.

III.4 Essais réalisés sur les émulsions de différents HLB_m

Les émulsions sont caractérisées par un certain nombre de propriétés plus ou moins liées les unes aux autres : l'aspect visuel (macroscopique) ; pH ; conductivité électrique ; viscosité et l'étude de la stabilité (test de vieillissement accéléré et centrifugation).

III.5 Résultats et discussions

Essais préliminaires pour la détermination du HLB critique

L'aspect visuel de la gamme obtenue avec le système choisie (huile de soja, monostéarate de sorbitane polyoxyéthyléné et non, eau déminéralisée) permet de distinguer trois groupes d'émulsions :

- Premier groupe : les émulsions obtenues aux HLB = 8 – 8,5 sont des émulsions blanches très épaisses, lisses homogènes ne présentant au bout d'une semaine aucune séparation de phase.
- Deuxième groupe : les émulsions obtenues aux HLB = 9 – 9,5 sont des émulsions blanches plus au moins fluides, homogènes et très stables.
- Troisième groupe : les émulsions obtenus aux HLB = 10 – 10,5 – 11 – 11,5 – 11,75 – 12 – 12,25 – 12,5 – 12,75 sont des fluides non homogènes, nettement instables. Toutes sont caractérisées par le phénomène de clarification (présence à la partie inférieure d'une couche aqueuse).

L'émulsion au HLB = 9,5 est plus blanche et plus homogène que celle à un HLB = 9.

Les résultats de conductivité montrent que les deux premiers groupes (stables) sont conducteurs du courant, elles sont donc du type huile / eau (tableau n°11).

Tableau n°11 : valeurs de conductivité, viscosité et pH pour les deux premiers groupes d'émulsions après une semaine de stockage à température ambiante.

HLB	Conductivité (μs)	Viscosité (cSt)	pH
8	67,3	229,32	6,01
8,5	67,8	218,4	6,1
9	76,1	91,0	6,33
9,5	70	76,44	6,20

La conductivité cependant varie pour ces émulsions de 67,3 à 76,1 μs , ceci pourrait être expliqué par la viscosité puisque, plus l'émulsion est fluide, plus la conductivité est élevée (la proportion de la phase aqueuse est dominante par rapport à la phase huileuse)

Dans notre système le pH ne varie pas vraiment pour les quatre émulsions.

Les résultats de stabilité (évaluation d'après l'aspect visuel) au stockage à + 40 °C et + 10 °C montrent :

- Pour le premier groupe : les émulsions aux HLB = 8 – 8,5 sont instables (séparation de phases).
- Pour le deuxième groupe : les émulsions aux HLB = 9 – 9,5 restent stables.
- Pour le troisième groupe : les émulsions aux HLB = 10 – 10,5 – 11 – 11,5 – 11,75 – 12 – 12,25 – 12,5 – 12,75 qui sont déjà instables à la température ambiante le sont aussi à + 40 °C et + 10 °C.

La résistance à la centrifugation à 1800 tr/min pour les deux groupes d'émulsions stables à température ambiante est illustrée dans le tableau n° 12.

Tableau n° 12 : Stabilité à la centrifugation

HLB	t = 2min	t = 4min	t =10 min	t = 16min
8	Stable	Stable	Stable	Stable
8,5	Stable	Début d'instabilité	Aspect identique	Aspect identique
9	Stable	Début d'instabilité	Aspect identique	Aspect identique
9,5	Stable	Stable	Début d'instabilité	Aspect identique

Les évaluations de la résistance à la centrifugation sont faites toutes les deux minutes ; on arrête la centrifugation avant l'examen de l'émulsion.

Les émulsions présentent une stabilité différente, toutes sont stables après 2 min de centrifugation, seule l'émulsion au HLB = 8 résiste à la centrifugation jusqu'à 16 min, cette résistance due à sa viscosité qui est la plus élevée.

III.6 Conclusion de l'étude préliminaire

Pour une huile donnée, il existe une valeur privilégiée du HLB du mélange d'émulsifiants qui est appelée HLB critique et pour laquelle les propriétés d'émulsion présente un aspect homogène et stable, un minimum de viscosité, un maximum de stabilité au stockage à la chaleur, au froid et une bonne résistance à la centrifugation.

Dans le cas de l'huile de soja la valeur privilégiée du HLB correspondant au HLB critique se situe entre 9 et 9,5.

Dans la suite de cette étude elle sera considérée comme égale à 9,5 car l'émulsion obtenue à ce HLB présente l'aspect visuel le meilleur, une viscosité la plus faible et une résistance à la centrifugation la plus élevée.

IV. Formulation de l'émulsion et optimisation

Une fois le HLB critique repéré, nous avons fixé la composition du mélange d'émulsifiants qui présente précisément ce HLB critique ($HLB_c = 9,5$). Et nous avons étudié l'effet de trois paramètres (température d'introduction des phases, vitesse d'agitation et taux d'émulsifiants) sur les différentes caractéristiques de l'émulsion citées précédemment (aspect, pH, conductivité électrique, viscosité, taille des particules, test de vieillissement accéléré et résistance à la centrifugation).

IV.1 Méthodologie

Afin d'étudier l'influence des paramètres opératoires sur les propriétés citées plus haut, nous avons mis en évidence une démarche expérimentale basée sur les plans d'expériences. L'objectif est également d'élaborer des modèles propriété-composition en vue d'une optimisation de la formule.

Les plans de surface du type composite central constituent une méthodologie efficace - Méthodologie des Surfaces de Réponse- qui permet d'aller plus loin dans la modélisation des phénomènes que les plans factoriels, en fournissant à l'expérimentateur les lois de variation précises des paramètres de l'étude [22, 23].

La construction du plan d'expériences est facilitée par l'utilisation de logiciels spécifiques. Parmi ces nombreux logiciels, nous avons utilisé *STATISTICA* [24] et *MODDE 6* [25] aussi bien pour la génération du plan que pour l'analyse des résultats.

Les facteurs ont été fait variés dans les domaines suivants :

- Température d'introduction des phases (50-90 °C)
- Vitesse d'agitation (300-900 tr/min)
- Taux d'émulsifiants (3-7 %).

Les tableaux 13 et 14 donnent les plans composites centrés générés par le logiciel utilisé (Statistica). Le tableau 13 est donné en valeurs réelles, tandis que le tableau 14 est donné en valeurs réduites (-1 pour le niveau inférieur, 0 pour la valeur au centre et +1 pour la valeur supérieure et 1, 6817 pour les points étoiles).

Points « étoile » : on ajoute $2k$ points sur les axes. Les coordonnées sont données par [22] :

$$\alpha = (\mathbf{F})^{1/4} \dots \dots \dots (8)$$

Où F est la partie factoriel du plan, c'est-à-dire $F = 2^k = 2^3 = 8$ (essais)

Dans notre cas $k = 3$, donc $\alpha = 8$ puissance $0,25 = 1,681792830507429\dots$ [22]

Tableau n° 13 : Plan composite centré en variables réelles

N° d'essai	Facteurs étudiés		
	Température (°C)	Vitesse d'agitation (tr/min)	Concentration (% massique)
1	50	300	3
2	50	300	7
3	50	900	3
4	50	900	7
5	90	300	3
6	90	300	7
7	90	900	3
8	90	900	7
9	36,36	600	5
10	103,64	600	5
11	70	95	5
12	70	1105	5
13	70	600	1,64
14	70	600	8,36
15 (C)	70	600	5
16 (C)	70	600	5
17 (C)	70	600	5

Tableau n° 14 : Plan composite centré en variables réduites

N° d'essai	Facteurs étudiés		
	Température	Vitesse d'agitation	Concentration
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	1
3	-1	1	-1
4	-1	1	1
5	1	-1	-1
6	1	-1	1
7	1	1	-1
8	1	1	1
9	-1,6817	0	0
10	1,6817	0	0
11	0	-1,6817	0
12	0	1,6817	0
13	0	0	-1,6817
14	0	0	1,6817
15 (C)	0	0	0
16 (C)	0	0	0
17 (C)	0	0	0

IV.2 Résultats expérimentaux et Discussions pour les tests d'optimisation

C'est les mêmes essais réalisés au cours de la recherche de HLB critique sauf que nous avons rajouté l'examen microscopique en utilisant un microscope optique.

Les valeurs mesurées enregistrées chaque semaine serviront à évaluer l'évolution du système (cinétique de déstabilisation dans ce cas).

IV.2.1 Aspect visuel

La couleur des différents échantillons est blanche.

L'aspect visuel des différentes émulsions est traduit aussi par le pourcentage de la hauteur clarifiée sur la hauteur totale de l'émulsion comme l'indique le tableau n°15.

Nous rappelons que le pourcentage de clarification est l'inverse de celui de crémage.

Tableau n° 15 : Le pourcentage de la hauteur claire sur la hauteur totale des émulsions à température ambiante.

	Temps (semaines)									
	0,1428	1	2	3	4	5	7	9	11	14
essai 1	47,5	49,36709	48,71795	50	42,16868	42,16868	45	44,3038	47,4359	46,75325
essai 2	0	0	0	0	0	0	0	0	1,29871	1,29871
essai 3	1,316	43,1045	11,11112	20	26,47059	27,77778	32,5	40	40	41,66667
essai 4	0	3,22581	4,91804	3,75	26,47059	7,5	10,25642	10,38962	12,0482	12,5
essai 5	9,091	10,38962	10,52632	12,5	12,98702	7,5	14,47369	16	15	15,58442
essai 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
essai 7	1,175	9,67742	12,90323	16,66667	19,35484	17,91045	22,58065	24,19355	23,80953	24,19355
essai 8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
essai 9	57,143	56,16439	54,05406	56,16439	58,33334	54,054006	52,11268	51,42858	51,35136	51,35136
essai10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
essai 11	0	7,46269	7,14286	7,14286	7,46269	8,57143	8,82353	8,82353	10,29412	10,29412
essai 12	1,45	11,26761	14,08451	15,49296	2,28986	19,71831	28,57143	34,8572	34,28572	35,71429
essai 13	16,66667	34,28572	35,71429	39,43662	30,55556	39,43662	40,57972	40,57972	40,57972	39,91417
essai 14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
essai 15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
essai 16	0	0	0	3,07693	3,07693	3,07693	3,07693	4,61539	4,61539	2,0619
essai 17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,1288

D'après le tableau n° 15 nous remarquons que à t_0 toutes les émulsions ont un pourcentage de clarification très faible ou nul seules les expériences n°1 et 9 ont un pourcentage très remarquable.

Cependant, il apparaît que seules les émulsions 2, 6, 8, 10, 11, 14, 15, 16 et 17 sont stables au bout de 14 semaines soit trois mois et demi. L'émulsion 16 montre dès la 3^{ème} semaine une légère clarification qui n'a pas évolué durant le reste de l'étude.

Les émulsions 1, 3, 4, 5, 7, 9, 12 et 13 ont quant à elles montré des signes d'instabilité dès la première semaine. D'autre part, l'évolution de ce taux de clarification donne une indication sur la cinétique de déstabilisation de l'émulsion.

IV.2.2 Mesure de pH

Nous rappelons que dans les études des systèmes dispersés la mesure du pH est très indispensable pour les raisons suivantes : toute modification du milieu va se traduire par un changement du pH. Autrement dit, lorsque l'huile se dégrade, elle donne des acides gras (donc acidification du milieu).

Le pH également peut être à l'origine de chute ou augmentation de la viscosité du milieu.

De façon générale, la mesure du pH va nous renseigner sur la stabilité chimique de la préparation.

Les mesures de pH ont été effectuées à l'aide d'un pH mètre WTW modèle pH 197.

Le tableau n° 16 regroupe les résultats des mesures de pH des dix sept essais au cours de stockage à la température ambiante.

Tableau n°16 : Variation de pH avec le temps

N° d'essai	t ₀ = 24 h	temps (semaine)							
		1	2	4	6	8	10	12	14
1	6,14	6,3	5,96	5,46	5,5	5,25	5,22	5,55	5,41
2	6,23	6,3	6,22	5,96	5,32	5,52	5,65	6,01	6,14
3	6,14	5,88	5,66	5,43	5,16	5,36	5,46	5,45	5,5
4	6,09	6,31	6,08	5,45	5,5	5,58	5,66	5,7	5,85
5	6,04	6,11	5,94	5,61	5,2	5,42	5,5	5,53	5,49
6	6	5,93	6,1	6,23	5,1	5,48	5,96	6,09	6,17
7	6,17	5,89	5,82	5,6	5,3	5,48	5,64	5,7	5,67
8	5,87	6,1	6,04	6,03	5,78	5,28	5,8	5,87	6,08
9	6,16	6,32	6,33	6,26	5,22	5,4	6,23	6,03	6,13
10	5,95	6,31	6,01	5,88	5,8	5,84	5,82	5,98	5,96
11	6,27	6,26	6,28	6,02	5,92	5,8	5,83	5,74	5,92
12	5,99	5,9	6,08	5,98	5,72	5,5	5,82	5,82	5,93
13	6,43	5,8	6,04	5,99	6,17	5,15	5,4	5,4	5,42
14	6,18	6,24	6,03	5,82	5,83	6,06	5,59	5,79	6
15	6,02	6	5,92	5,9	5,68	5,8	5,7	5,8	5,76
16	6,09	6,24	6,27	6,2	6,15	5,98	6,01	5,76	5,76
17	6,01	6	6,02	6,02	6,015	5,98	6,02	5,89	5,865

D'après le tableau n°16 le pH ne varie pas vraiment en fonction du temps ; pour toutes les expériences effectuées, il varie de 5,1 à 6,33 seulement donc la variation de pH en fonction du temps est presque linière.

IV.2.3 Conductivité électrique

La conductivité électrique est un moyen de vérifier s'il y a inversion de phase au cours du temps, Une émulsion H/E a une conductivité élevée tandis qu'une émulsion E/H présente une très faible conductivité [6].

Nous signalons, que la conductivité de l'eau distillée est de l'ordre de 100 μSc et celle de l'huile de soja est de 0,1 μSc (la conductivité électrique de l'eau distillée est 1000 fois plus grande que celle de l'huile).

Les valeurs de la conductivité électrique des émulsions en μSc sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau n°17 : Variation de la conductivité électrique en fonction du temps

N° d'essai	$t_0 = 24$ h	temps (semaine)							
		1	2	4	6	8	10	12	14
1	24,60	49,10	56,46	42,00	25,50	41,00	26,30	35,80	28,8
2	60,80	53,00	52,20	43,50	26,30	25,60	23,00	28,40	40,8
3	54,00	54,90	71,50	53,00	34,00	28,50	27,50	28,80	32,7
4	76,60	72,90	78,90	55,00	56,90	58,80	47,00	60,00	42,8
5	40,80	27,60	28,40	39,52	15,00	27,80	26,00	25,00	24
6	46,20	28,40	40,00	28,70	14,36	14,61	27,00	24,00	33,8
7	37,80	45,60	43,60	43,50	33,10	36,00	34,40	41,00	33,4
8	57,30	66,70	64,50	48,00	29,50	48,00	35,00	36,50	40
9	54,40	40,00	66,90	54,70	25,00	48,80	28,00	24,00	32,1
10	37,70	32,50	40,10	23,90	36,40	32,20	28,00	40,20	46,2
11	54,50	35,50	36,80	26,20	22,70	13,00	35,00	39,40	34
12	78,00	63,10	73,50	44,00	34,20	28,00	32,40	44,90	45
13	25,40	28,20	31,00	28,05	21,20	12,00	17,00	26,80	23
14	40,70	46,90	50,60	51,40	39,00	25,00	32,00	30,00	52,2
15	40,60	44,50	40,40	30,10	34,50	34,70	32,70	36,60	28
16	46,60	45,70	41,00	30,50	34,40	30,00	35,00	33,50	28
17	43,00	45,20	41,12	30,02	34,10	35,60	33,22	34,54	29

Nous remarquons d'après le tableau n°17 que la conductivité électrique en fonction du temps n'est pas stable pour les dix sept essais ; à t_0 varie dans un intervalle de [23,00 – 52,20] ;

Nous remarquons aussi à partir de t_0 (0,1428 semaine) jusqu'à la deuxième semaine, la conductivité électrique varie légèrement avec le temps surtout pour les essais restant stable au test macroscopique.

Cependant les émulsions n'ont pas changé de sens, ils restent toujours des émulsions huiles dans l'eau surtout pour les essais qui n'ont pas subit le phénomène de clarification.

IV.2.4 Viscosité cinématique

En utilisant un viscosimètre de type CANNON – FENSKE, les valeurs de la viscosité cinématique en fonction du temps sont illustrées dans le tableau n° 18.

Tableau n° 18 : Variation de la viscosité cinématique en fonction du temps

N° d'essai	t ₀ = 24 h	temps (semaine)						
		1	2	3	5	9	12	15
1	24,052	24,7478	34,7431	23,5184	20,5	42	25	32
2	72,45	323,178	672,5775	235,155	227,01	123,165	144,57	103,845
3	9,0866	8,0176	12,2937	8,0176	9	14	18	12
4	27,26	29,0773	80,9782	40,0882	48	26,5	36	34
5	8,0176	27,5272	45,9678	32,0706	27,5	38,5	21,5	17,5
6	995	242,133	1147,125	997,35	1017,48	847,665	111,63	60,375
7	22,4494	29,398	32,6051	18,7078	26	39,5	16	18
8	289,8	272,67	889,9275	292,215	169,05	294,63	67,62	48,3
9	7,48314	22,4494	26,3513	23,5184	19,5096	19	21	50
10	193,2	70,035	132,825	72,45	77	41	46,5	40
11	261,9099	367,08	367,08	114,375	130,41	203,13	106,26	72,45
12	6,1468	7,4831	7,4831	8,0176	7,4831	8,0176	12,5	6,5
13	6,4141	14,4317	14,699	12,2937	14	15	13	17
14	489,6111	28,98	1357,23	327	435	608,58	398,475	103,845
15	55,9836	48,5184	42,7608	26	23,5	26,5	26,565	22,5
16	68,4173	58,7961	70,0208	51,75	46	85	37,5	40
17	65,6534	55,6542	53,981	52,5312	45,43	34,432	31,5	30,9843

D'après le tableau n° 18 nous observons que l'intervalle de variation de la viscosité est un peu large, il est de 6,14 cSt pour l'essai 12 à t₀ jusqu'à 1357,23 pour l'essai 14 après deux semaines du temps.

Nous remarquons aussi que les émulsions les plus visqueuses sont les émulsions n° 2, 6, 8, 14 contenant un taux de couple émulsionnant élevé. Ainsi les émulsions les moins visqueuses sont les émulsions n° 1, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 16 et 17. L'émulsion n° 11 est de viscosité moyenne par rapport aux deux groupes cités ci-dessus.

IV.2.5 Stabilité à chaud et à froid

L'aspect des émulsions stockées, à chaud et à froid est regroupé dans le tableau suivant :

Tableau n° 19 : Pourcentage de la hauteur clarifiée sur la hauteur totale à chaud et à froid.

N° d'essai	6 semaine à T= +10°C	14 semaine à T= +10°C	6 semaine à T= +40°C	14 semaine à T= +40°C
1	50,0000	50,0000	67,1875	79,0001
2	5,5556	9,7223	13,3334	65,6250
3	64,5162	49,1804	56,2500	73,0159
4	19,3549	22,5807	38,5715	43,9394
5	19,1180	10,2942	40,6250	67,7420
6	0,0000	0,0000	9,4340	23,0770
7	31,1476	31,0345	55,3572	64,9123
8	0,0000	0,0000	31,0345	36,3637
9	45,1220	76,8293	64,6667	72,7273
10	0,0000	0,0000	17,4604	38,7097
11	10,3449	15,5173	17,4604	31,7461
12	28,5715	33,9286	58,3334	64,2857
13	32,2581	36,5080	58,1819	76,7858
14	0,0000	0,0000	12,5000	20,0000
15	0,0000	0,0000	18,8680	9,6154
16	0,0000	8,3334	12,6985	27,8689
17	0,0000	4,4561	16,5679	24,4502

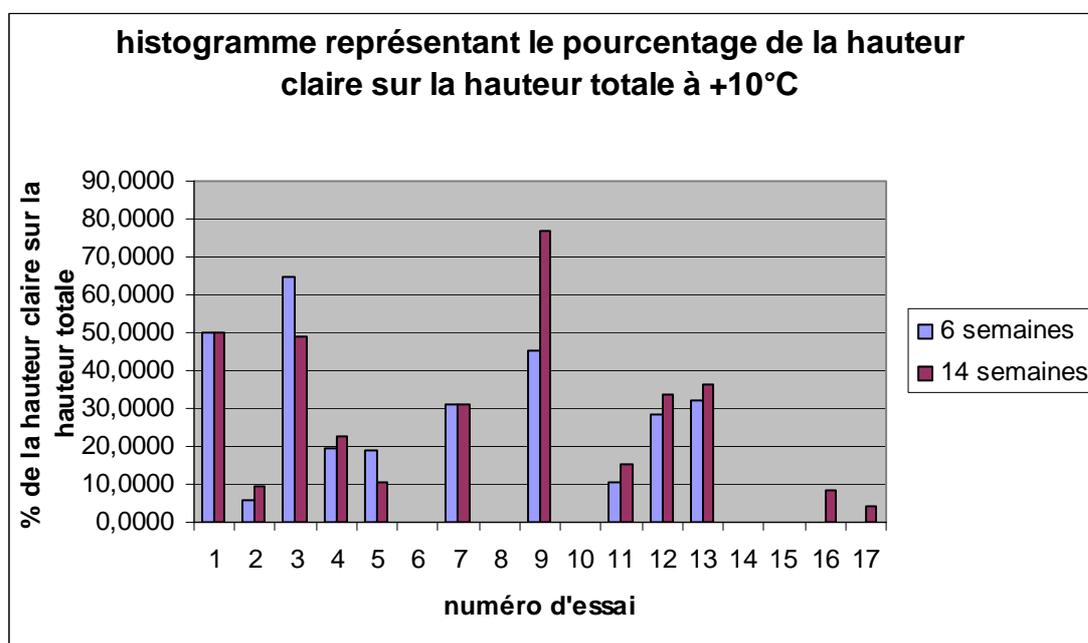


Figure n°13 : Pourcentage de la hauteur clarifiée sur la hauteur totale à + 10°C

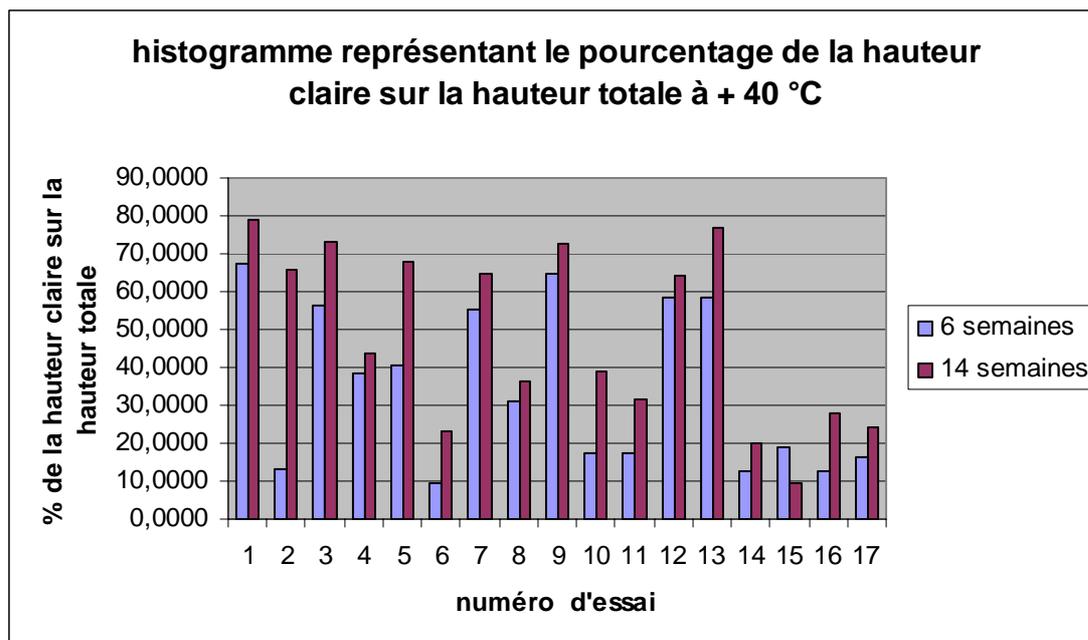


Figure n°14: Pourcentage de la hauteur clarifiée sur la hauteur totale à + 40°C

D'après le tableau n°15 et la figure n°13 nous observons que les émulsions restant déjà stables à l'aspect visuel après plus de trois mois de stockage à température ambiante, sont très stables après 6 semaines de stockage à + 10 °C, leur pourcentage de clarification est nul sauf pour l'essai n° 2 qui présente un pourcentage très faible

Après trois mois et demi c'est-à-dire 14 semaines de stockage à + 10°C, ces derniers essais restent encore stables, leur pourcentage de clarification reste nul sauf pour les essais n° 2, 16 et 17 il ,est très faible.

Pour le deuxième histogramme (figure n°14), toutes les émulsions présentent le phénomène de clarification qui s'accroît en fonction du temps.

A partir de ces deux histogrammes nous concluons que l'ensemble des émulsions résiste bien aux basses températures qu'aux températures élevées.

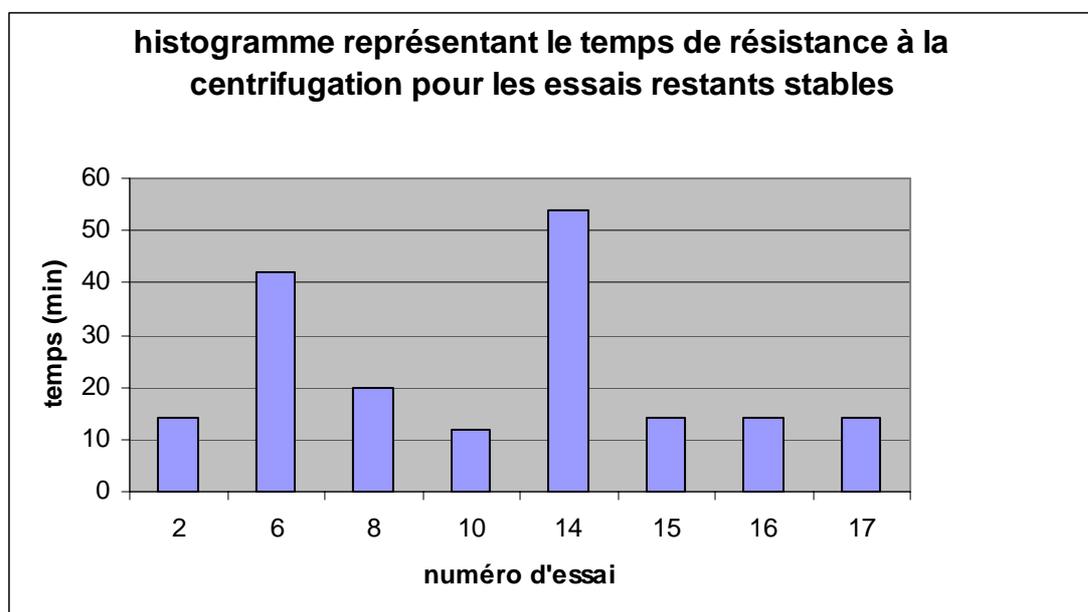
IV.2.6 Stabilité à la centrifugation

Après trois mois et demi de stabilité à la température ambiante, la résistance à la centrifugation est effectuée uniquement pour les tubes restant stables.

Tableau n° 20 : Le temps de résistance à la vitesse de centrifugation de 2000 tr / min

N° d'essai	Le temps de résistance à la centrifugation (min)
2	14
6	42
8	20
10	12
14	54
15	14
16	14
17	14

La figure n° 15 illustre le temps de résistance à la centrifugation des expériences restants stables au test macroscopique.

**Figure n° 15**: temps de résistance à la vitesse de centrifugation à 2000 tr / min.

D'après la figure n° 15 nous remarquons que l'émulsion qui résiste plus à la centrifugation est l'émulsion n°14, elle résiste à 2000 tr / min jusqu'à 54 min, vient en deuxième position l'émulsion n° 6 avec un temps de résistance de 42 min, suivie par l'émulsion n° 8 qui résiste jusqu'à 20 min. pour le reste des émulsions, le temps de résistance à la vitesse de centrifugation de 2000 tr / min est aux alentours de 14 min.

A partir de ces résultats nous constatons dans l'ensemble que le temps de résistance à la centrifugation est en fonction de pourcentage de mélange émulsionnant c'est-à-dire en augmentant le pourcentage de couple émulsionnant, le temps de résistance à la centrifugation augmente.

IV.2.7 Taille des particules

L'analyse granulométrique de l'émulsion peut être faite par deux techniques :

- La première consiste à mesurer la taille d'un nombre suffisant de particules à l'aide d'un microscope muni d'un micromètre oculaire,
- La deuxième consiste à utiliser un compteur de particules du type COUTLER COUNTER.

Durant notre étude les mesures des tailles des particules sont effectués à l'aide d'un microscope oculaire de marque HERTEL et RESSUS optic – Kassel 55976 - muni d'un oculaire avec une échelle millimétrique (graduations en 1/100^{ème} de mm).

Nous représentons dans le tableau ci-dessous la moyenne des tailles des particules en μm pour les dix sept échantillons.

Tableau n°21 : Moyenne des tailles des gouttelettes au cours du temps.

n °d'essai	t ₀ = 24 h	temps (semaines)							
		1	2	3	4	5	7	10	14
1	75	160	110	55	60	30	/	175	105
2	≤10	≤15	15	15	≤20	30	15	15	20
3	40	90	105	55	65	60	55	100	25
4	110	<15	20	7,5	<15	≤10	≤10	≤10	10
5	125	110	110	155	60	60	/	40	60
6	10	20	20	20	20	30	30	25	25
7	15	30	<20	30	30	<30	≤30	20	25
8	260	<15	<15	<15	<20	<20	<20	≤15	5,5
9	200	160	15	105	105	/	/	25	55
10	35	20	15	105	15	30	20	20	15
11	275,0000	160	155	105	55	55	≤30	175	110
12	210	5,5	≤10	≤10	≤15	≤10	≤10	≤10	≤10
13	62,48	160	110	105	55	55	30	160	30
14	12,5	≤15	15	105	20	<20	≤15	20	<15
15	229,13	25	30	30	15	<30	<25	3	<15
16	17,5	30	30	30	15	30	≤20	20	25
17	35	30	30	30	15	30	30	25	20

D'après le tableau n° 21 nous remarquons que la taille des particules ne dépasse pas 275 μm . et les émulsions qui ont l'aspect visuelle le plus stable sont celles qui présentent les tailles les plus petites, en particulier les émulsions contenant un pourcentage d'émulsifiants plus au moins élevé comme l'émulsion n° 2, 6, 8, et 14.

IV.3 Analyse des résultats expérimentaux par le logiciel Statistica

Le tableau n°22 donne le plan composite centré généré par le logiciel utilisé (Statistica). Ce tableau est donné en variables réelles. Les réponses étudiées sont les suivantes :

FT25 : le taux de clarification à Température ambiante (% de la hauteur claire sur la hauteur totale) ; le **pH** ; la conductivité électrique (**CE**) ; la viscosité cinématique (**Visc**) ; **FT10 et FT40** : les taux de clarification respectivement à 10 et 40°C et **R_{centr}** la résistance à la centrifugation.

Tableau n°22 : Plan composite centré et résultats expérimentaux

Essai N°	Les variables de l'étude			Les réponses étudiées							
	Temp (°C)	Vit (tr/min)	τ (% m.)	pH	CE (μ s)	Visc (cSt)	Taille (μ m)	FT25 (%)	FT10 (%)	FT40 (%)	R _{centr} (min)
1	50	300	3	5,4	28,8	32	105	46,75	50,00	79,00	-
2	50	300	7	6,1	40,8	104	20	1,29	9,72	65,62	14
3	50	900	3	5,5	32,7	12	25	41,67	49,18	73,01	-
4	50	900	7	5,8	42,8	34	10	12,50	22,58	43,94	-
5	90	300	3	5,5	24,0	17	60	15,58	10,29	67,74	-
6	90	300	7	6,2	33,8	60	25	0,00	0,00	23,08	42
7	90	900	3	5,7	33,4	18	25	24,19	31,03	64,91	-
8	90	900	7	6,1	40,0	48	5,5	0,00	0,00	36,36	20
9	36,36	600	5	6,1	32,1	50	55	51,35	76,83	72,72	-
10	103,64	600	5	6,0	46,2	40	15	0,00	0,00	38,71	12
11	70	95	5	5,9	34,0	72	110	10,29	15,52	31,74	-
12	70	1105	5	5,9	45,0	6	10	35,71	33,93	64,28	-
13	70	600	1,64	5,4	23,0	17	30	39,91	36,51	76,78	-
14	70	600	8,36	6,0	52,2	104	15	0,00	0,00	20,00	54
15	70	600	5	5,8	28,0	22	15	0,00	0,00	9,61	14
16	70	600	5	5,8	28,0	40	25	2,06	8,33	27,86	14
17	70	600	5	5,9	29,0	31	20	1,13	4,45	24,45	14

(Valeurs mesurées au bout de 3 mois et demi).

IV.3.1 Analyse du pH

Au seuil de signification de 5 %, seul τ , le taux de l'émulsifiant a un effet significatif sur le pH comme le montre le diagramme de Pareto (figure 16). Les tensioactifs apportent une certaine basicité à l'émulsion, ce qui explique l'augmentation du pH avec la concentration en agent émulsifiant.

Le pH est un paramètre important, étant donné que certains médicaments ont une stabilité maximale dans un domaine de pH donné. Dans le cas où certains des composants risquent de s'hydrolyser, la mesure du pH permet également de vérifier la stabilité de l'ensemble.

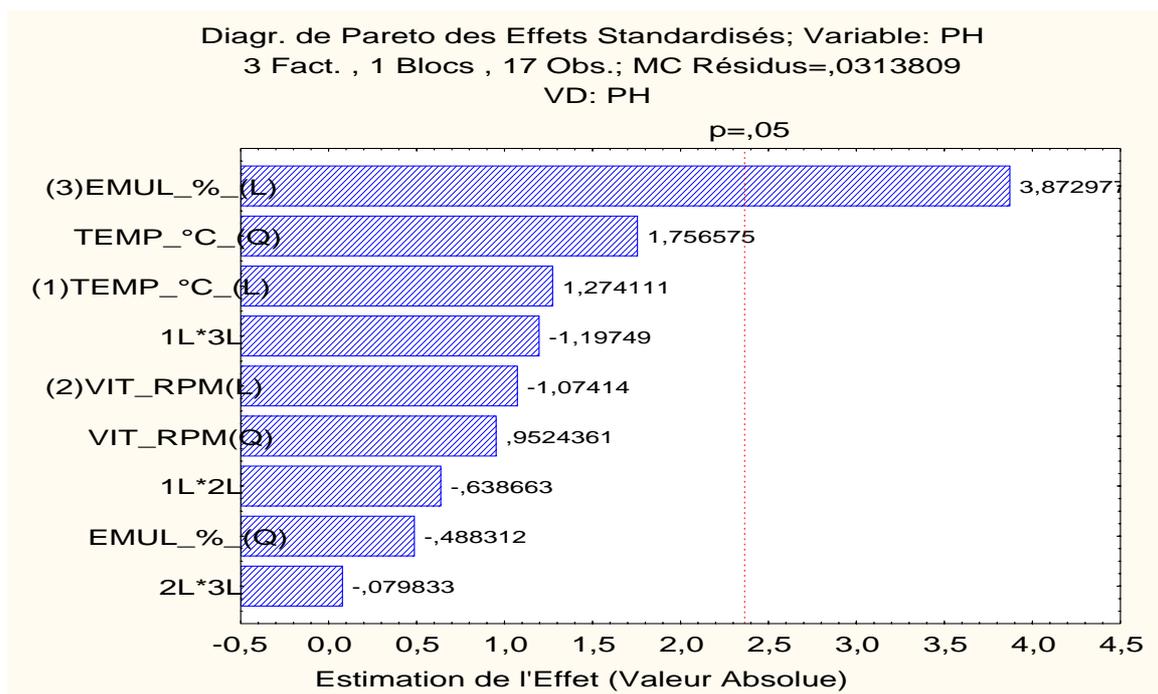


Figure n° 16 : Diagramme de Pareto pour le pH.

En excluant du modèle tous les facteurs non significatifs, nous obtenons le modèle linéaire suivant :

$$pH = 5,856 + 0,186 \tau \dots\dots\dots(9)$$

Avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,479$. (R^2 est faible donc les facteurs n'ont pas d'effet sur le pH).

IV.3.2 Analyse de la conductivité électrique

De même que pour le pH, seule la concentration en agent émulsifiant a un effet significatif sur la conductivité (figure 17).

En excluant du modèle tous les facteurs non significatifs, nous obtenons le modèle linéaire suivant pour la conductivité :

$$CE = 34.87 + 6.415 \tau \dots\dots\dots(10)$$

Avec un coefficient de corrélation multiple $R^2 = 0.506$, (là aussi R^2 est faible donc les facteurs n'ont pas d'effet sur la conductivité).

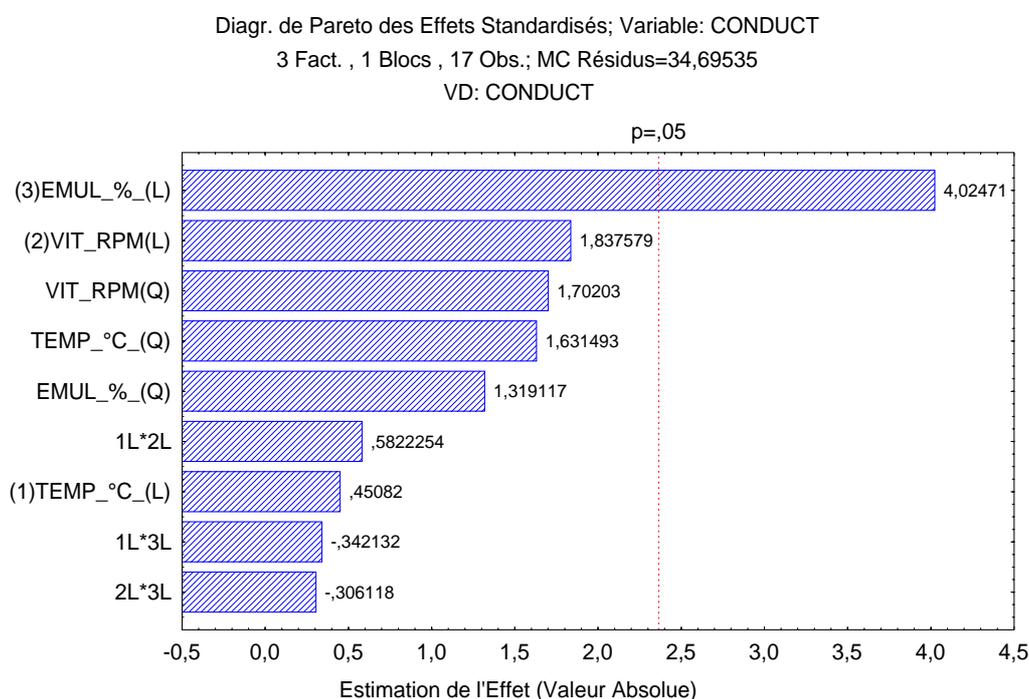


Figure n° 17 : Diagramme de Pareto pour la conductivité électrique

Commentaire :

Les modèles pour le pH et la conductivité ont peu d'intérêt pratique. Ces deux réponses sont contrôlées périodiquement au cours du temps essentiellement pour détecter de possibles dérives qui sont très souvent le signe d'une dégradation du système dispersé. Dans le cas de la conductivité, c'est un moyen de vérifier s'il y a inversion de phase au cours du temps, la conductivité mesurée étant toujours celle de la phase continue. Pour l'ensemble des formules évaluées, nous n'avons noté aucune variation de la conductivité susceptible pouvant être attribuée à une inversion de phase.

IV.3.3 Analyse de la viscosité

La viscosité est en revanche une propriété déterminante pour la stabilité physique de l'émulsion et est généralement bien corrélée avec la composition. D'un autre côté, une dégradation chimique peut conduire à une modification de la viscosité donnant automatiquement des répercussions sur la stabilité physique. La viscosité doit être maintenue dans une fourchette raisonnable, pas trop élevée pour permettre la prise à la cuillère par exemple et pas trop basse pour freiner au maximum les phénomènes de coalescence.

Au seuil de signification de 5%, les facteurs suivants : taux d'émulsifiant, vitesse d'agitation et température ont des effets significatifs sur cette réponse.

En excluant du modèle les facteurs non significatifs, nous obtenons le modèle suivant :

$$V_{isc} = 42,548 + 22,924 \tau - 15,548 V_{it} + 9,784 V_{it} \cdot Temp \dots\dots\dots(11)$$

Avec un coefficient de corrélation multiple $R^2 = 0.831$

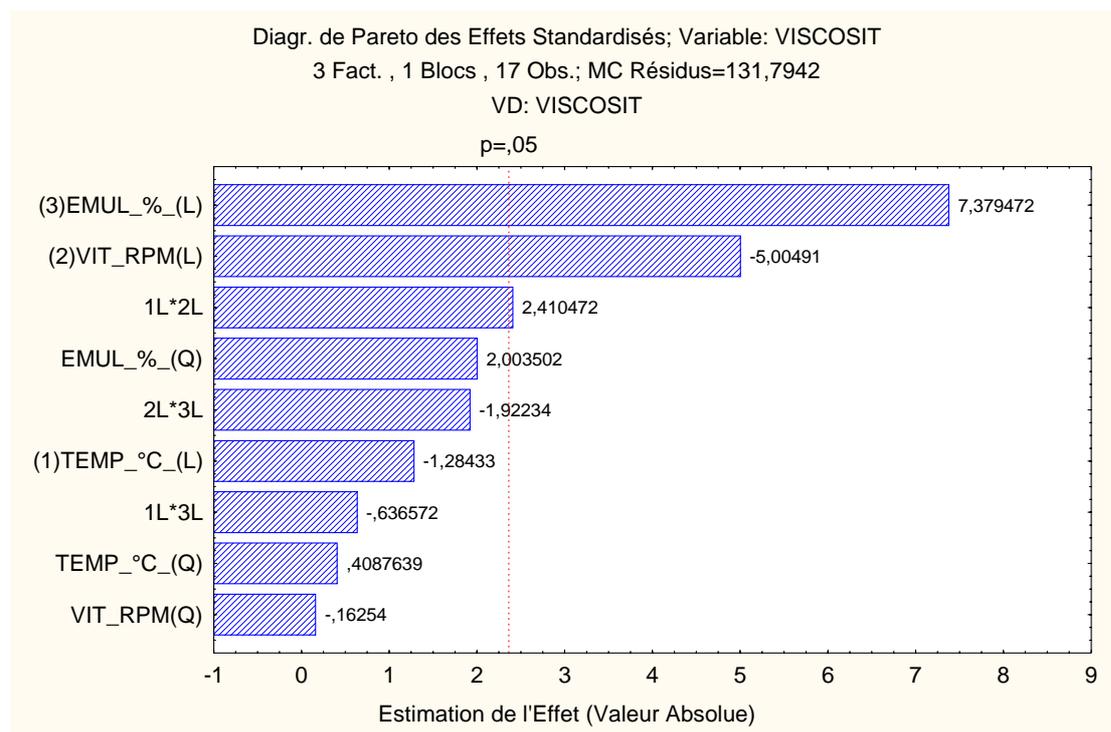
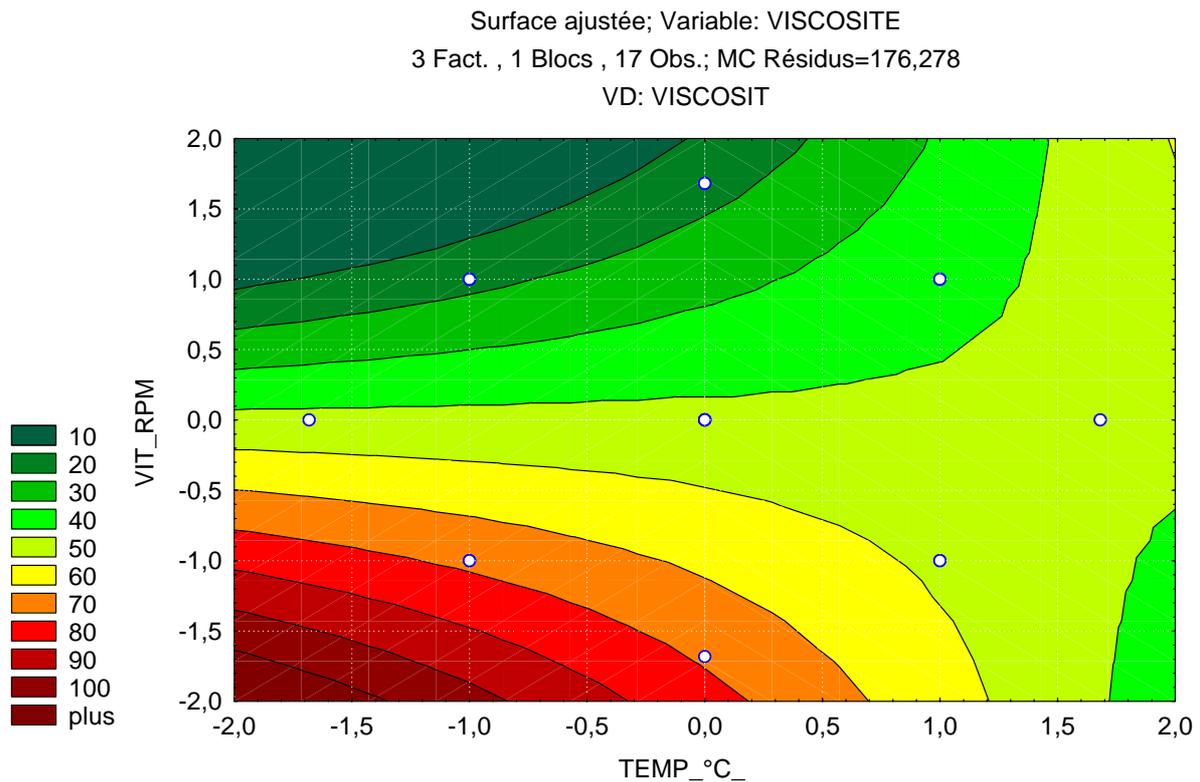


Figure n° 18 : Diagramme de Pareto pour la viscosité cinématique

Il convient de signaler qu'une élévation de température (de fabrication) favorise l'émulsification en diminuant la tension interfaciale et en augmentant la solubilisation d'une phase dans l'autre. L'effet de la vitesse d'agitation est plus délicat à interpréter. Dans la littérature, il est indiqué que l'intensité de l'agitation mécanique est un facteur essentiel pour l'obtention de particules de petites tailles. Il n'y a pas d'avantage à tirer d'une agitation lente

sur une plus longue durée. La taille des particules est dans une large mesure déterminée par la quantité d'énergie mise en jeu par unité *de temps et de volume*. Ainsi une brève et forte agitation est plus efficace qu'une agitation modérée qu'on prolonge dans le temps. A l'échelle laboratoire, une méthode efficace pour obtenir des particules de faibles tailles consiste à réaliser l'émulsion dans une fraction de la phase continue et procéder ensuite à la dilution [9,10].

La surface de réponse pour la viscosité est donnée par la figure n°19 ci-dessous :



Nous remarquons que les viscosités les plus fortes, celles qui assurent une meilleure stabilité en ralentissant les mouvements des particules, sont situées dans le quart inférieur gauche de la surface de réponse, c'est-à-dire aux faibles températures et vitesses d'agitation.

IV.3.4 Analyse de la taille des particules

L'examen de l'évolution des tailles de particules au sein d'une émulsion est sans doute celui qui permet le mieux d'évaluer la stabilité physique du système.

Au seuil de signification de 5%, seuls la vitesse d'agitation (termes L et Q), le % d'émulsifiant ont un effet significatif sur la taille des particules (figure n° 20).

En excluant les termes non significatifs, nous obtenons le modèle suivant :

$$\text{Taille} = 23,903 - 22,895 \text{ vit} + 12,020 \text{ vit}^2 - 13,160 \tau \dots\dots\dots(12)$$

Avec $R^2 = 0,726$

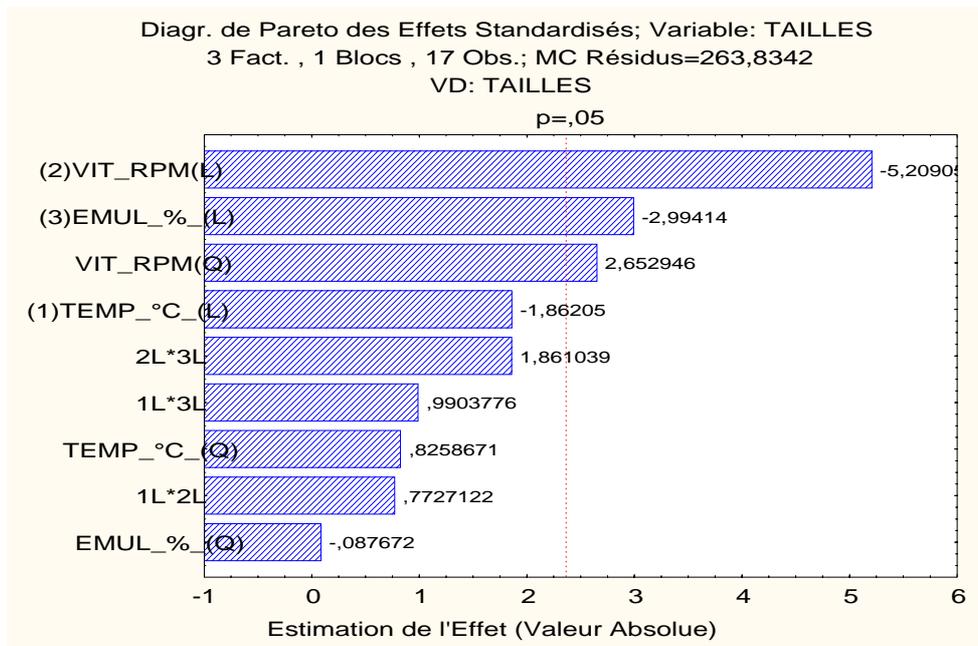


Figure n°20 : Diagramme de Pareto des effets pour la taille des particules

La surface de réponse est donnée sur la figure n° 21.

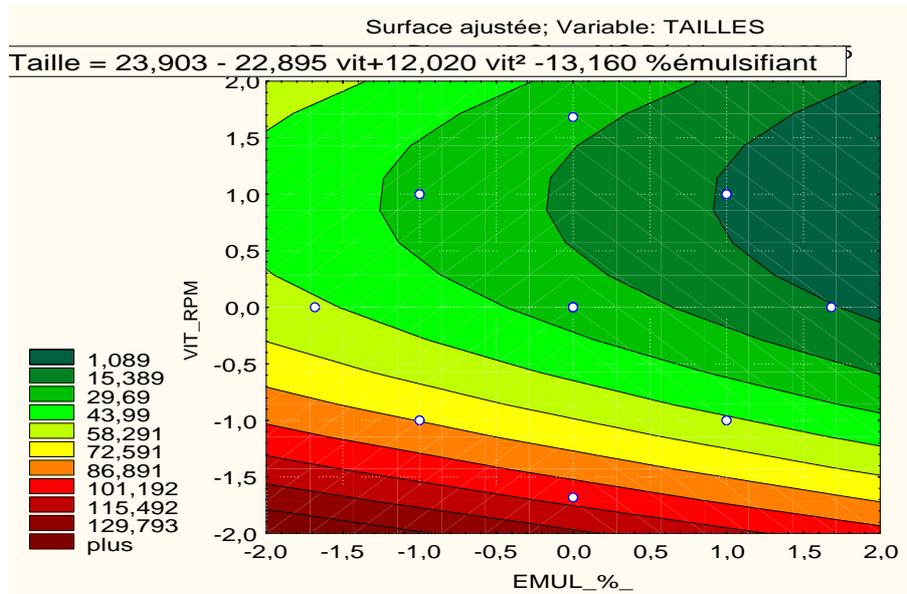


Figure n° 21: Surface de réponse pour la taille des particules

Les plus faibles tailles de particules se trouvent dans le quart supérieur droit du domaine, c'est-à-dire aux fortes valeurs de la vitesse d'agitation et de la concentration en agent émulsifiant. Ce résultat, contrairement au précédent (concernant la viscosité) est prévisible. Les fortes vitesses d'agitation favorisent la dispersion en fines gouttelettes de la phase dispersée, tandis que l'agent émulsifiant agit comme protecteur en empêchant ces gouttelettes de se rapprocher les unes des autres au point de coalescer.

Les tailles des particules sont comprises dans un domaine allant de 5 à 110 μm . Ces tailles de particules sont acceptables et respectent le cahier des charges d'une émulsion devant être administrée par voie orale. Dans le cas des émulsions parentérales, les restrictions sur la taille sont plus draconiennes, des tailles supérieures à 5 μm risquant de provoquer une embolie [31]. Notons que l'utilisation d'un homogénéiseur haute pression aurait permis d'obtenir des tailles de particules submicroniques.

IV.3.5 Analyse de taux de Clarification à température ambiante (FT25)

La détermination de taux de crémage ou de clarification se fait par des mesures périodiques de la hauteur claire / hauteur totale dans des éprouvettes graduées. Dans le cas de notre étude, nous avons exprimé le phénomène de clarification en utilisant la valeur du rapport : Hauteur claire / hauteur originale de la préparation à un temps donné soit :

$$F = H_c / H_0$$

Une valeur nulle signifie une bonne stabilité, plus cette valeur augmente, moins bonne est la stabilité. Nous pouvons voir que seuls les échantillons 2, 6, 8, 10, 14, 15, 16 et 17 n'ont pas subi de phénomènes de déstabilisation après une période de 3 mois et demi (figure 22).



Figure n° 22 : Aspect des émulsions après 3 mois et demi de stockage à température ambiante

Au seuil de signification de 5%, les facteurs suivants ont un effet significatif sur le taux de clarification (figure n° 23)

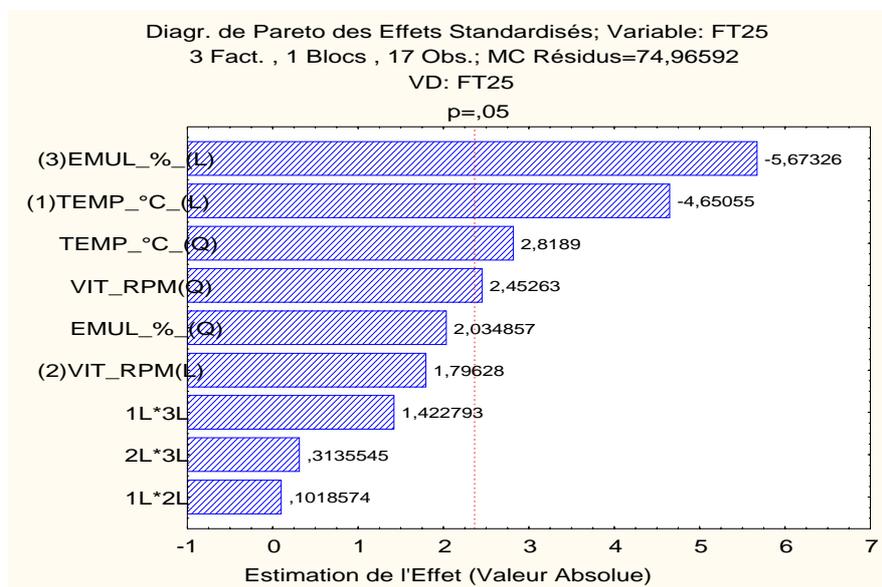


Figure n° 23 : Diagramme de Pareto pour le taux de clarification à température ambiante

En excluant les termes non significatifs du modèle, nous obtenons l'équation :

$$FT25 = 8,185 - 10,89 \text{ Temp} + 5,72 \text{ Temp}^2 + 4,77 \text{ Vit}^2 - 13,29 \tau \dots\dots\dots(13)$$

Avec un coefficient de détermination multiple $R^2 = 0,788$

La surface de réponse pour le taux de clarification à température ambiante (environ 25°C) est donnée sur la figure n° 24. D'après cette surface, on voit que les meilleurs résultats (faibles valeurs de FT25) sont obtenus dans le quart supérieur droit, c'est-à-dire aux concentrations élevées en agent émulsifiant et température de fabrication élevée, ce qui est tout à fait prévisible.

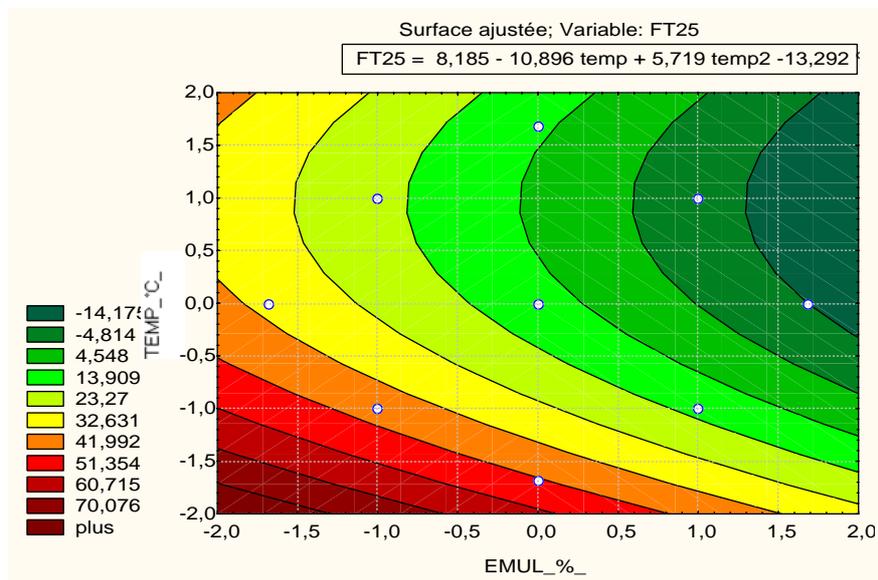


Figure n° 24: Surface de réponse pour le taux de clarification à température ambiante (Vit=0)

IV.3.6 Analyse de taux de Clarification à + 10 °C (FT10)

Un modèle analogue est obtenu pour le taux de clarification pour les échantillons conservés à 10°C :

$$FT10 = 13,696 - 16,063 \text{ Temp} + 8,462 \text{ Temp}^2 - 12,419 \tau \dots\dots\dots(14)$$

$$(R^2 = 0,803)$$

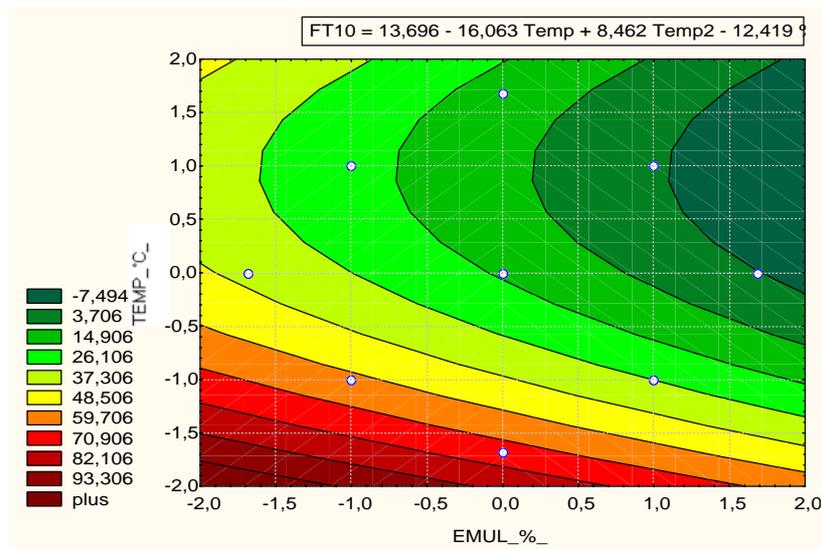


Figure n° 25 : Surface de réponse pour le taux de clarification à 10°C (Vit=0).

Les plus faibles valeurs du taux de clarification sont situées dans le quart supérieur droit du domaine exploré.

IV.3.7 Analyse de taux de Clarification à + 40 °C (FT40)

Un examen rapide du tableau n° 19 nous indique que tous les échantillons conservés à 40°C sont dégradés et de manière plus prononcée que les échantillons conservés à température ambiante et à 10°C. La stabilité à haute température est donc manifestement insuffisante. Les basses températures favorisent une élévation de la viscosité, ce qui ralentit les mouvements des particules et améliore la stabilité.

Au seuil de 5 %, les facteurs suivants ont une influence significative sur le taux de clarification des échantillons conservés à 40°C (figure n° 26) : la température (termes L et Q) ; la vitesse d'agitation (terme Q) et la concentration en agent émulsifiant (termes L et Q).

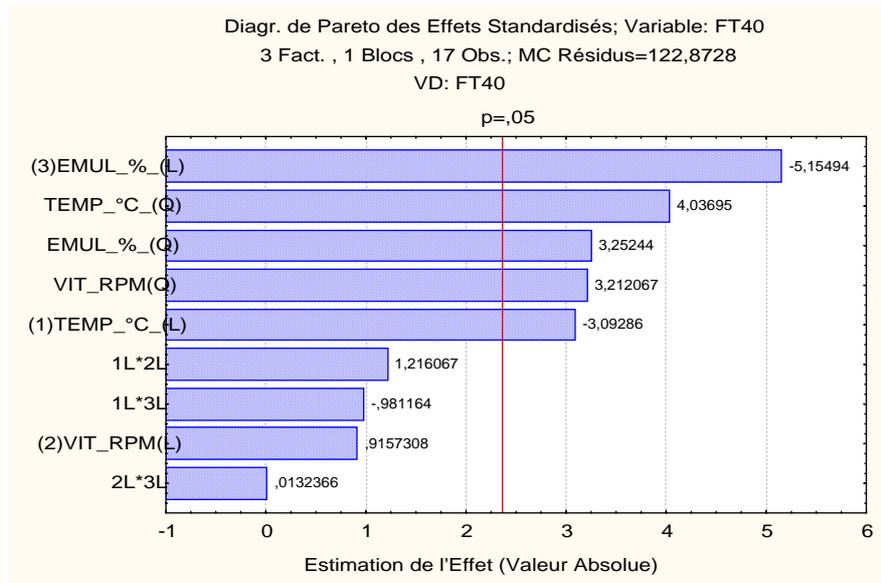


Figure n°26 : Diagramme de Pareto pour le taux de clarification à 40 °C

Le modèle pour cette réponse est donné par la relation :

$$FT40 = 20,376 - 9,277 \text{ Temp} + 13,328 \text{ Temp}^2 - 15,462 \tau + 10,738 \tau^2 \dots\dots(15)$$

Avec $R^2 = 0,853$

Et la surface de réponse, qui a une allure différente des deux précédentes, est donnée sur la figure n°27.

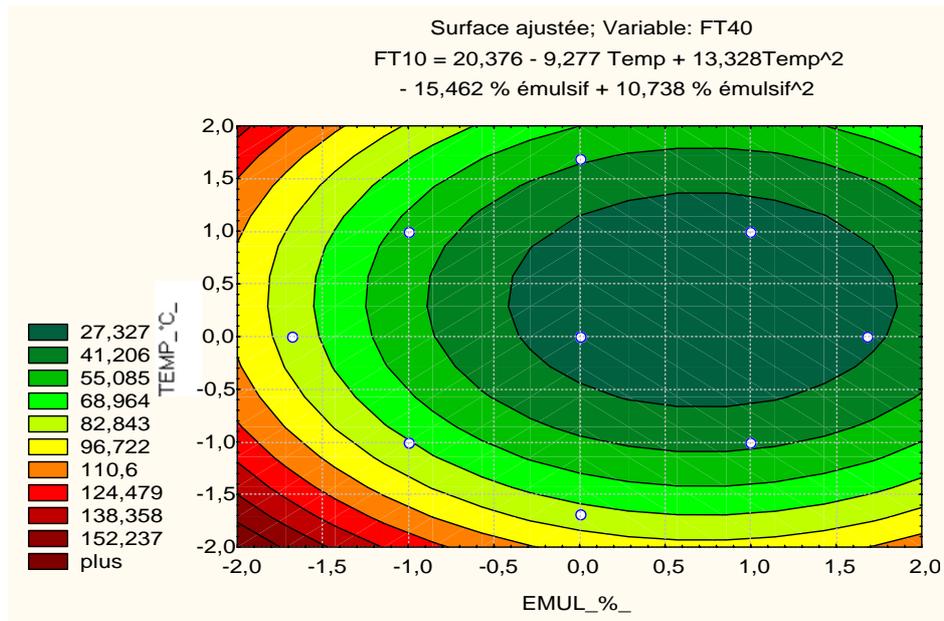


Figure n° 27 : Surface de réponse pour le taux de clarification à 40 °C (Vit = 0)

Cette surface présente un minimum égal à 13 % aux coordonnées suivantes :

$\tau = 0,72$; Temp = 0,35 ; vit = 0,13, en variables réduites, ce qui correspond, à :

$\tau = 6,44 \%$; Temp = 77 °C ; vit = 639 tr/min , en variables réelles.

IV.3.8 Analyse de la résistance à la centrifugation

Les échantillons 2, 6, 8, 10, 14, 15, 16 et 17 qui n'ont pas subi de phénomènes de déstabilisation ont été soumis à une centrifugation de 2000 tr/min. Les tubes sont examinés toutes les minutes et le temps (en minutes) au bout duquel on note une rupture de phase représente la « résistance à la centrifugation de l'échantillon testé. La figure n° 28 représente un histogramme de la résistance à la centrifugation, la viscosité, la taille et le taux d'émulsionnants des échantillons stables au bout de trois mois et demi de stockage au environ de 25°C.

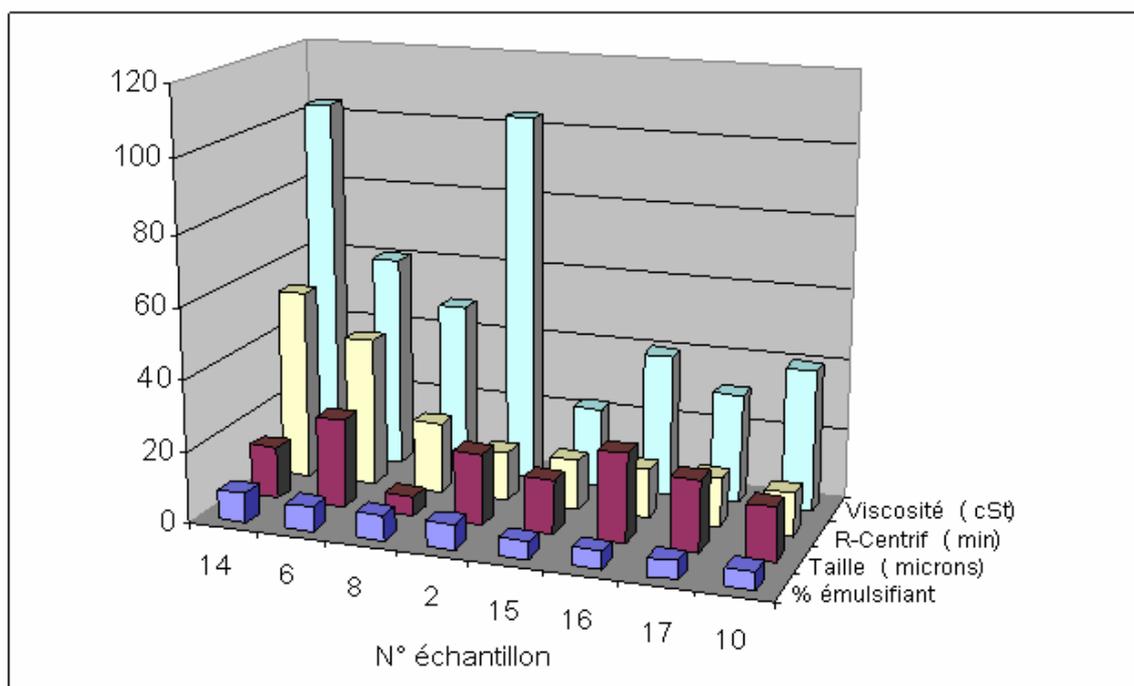


Figure n°28: Histogramme représentant la viscosité, la résistance à la centrifugation, la taille des particules et le taux d'émulsifiants des échantillons stables au bout de 3 mois et demi de stockage à température ambiante.

D'après la figure n° 28, nous remarquons que l'émulsion qui résiste le plus à la centrifugation est l'émulsion n°14. Cette émulsion est celle qui présente la viscosité la plus élevée (104 cSt), une taille de particules relativement faible (15 μm) et la concentration en agent émulsifiant la plus élevée (8,36 %). En deuxième position vient l'émulsion n° 6 avec une concentration en agent émulsifiant légèrement inférieure (7%). D'une manière générale, nous constatons que la résistance à la centrifugation augmente avec le taux d'émulsifiant et la viscosité mais ne paraît pas être corrélée avec la taille des particules.

Il faut noter qu'aucune corrélation fiable n'a été établie à ce jour pour justifier l'utilisation de la centrifugation pour l'évaluation de la stabilité à long terme du système dispersé. Néanmoins, la résistance à la centrifugation demeure un excellent outil pour contrôler la variation qu'il peut y avoir bien d'un lot à un autre.

IV.4 Optimisation de la stabilité de l'émulsion par le logiciel Mode 6

En utilisant les options offertes par le module d'optimisation du logiciel Modde© 6, une procédure d'optimisation multi-objectifs a été entreprise.

Les propriétés désirées (objectifs assignés ou encore désirabilité) pour l'émulsion à formuler sont les suivantes :

- une viscosité suffisante pour ralentir les mouvements des particules, de l'ordre de 110 cSt ;
- une taille des particules comprise entre 1 et 2,5 μm ;
- un taux de clarification minimal, n'excédant pas 1 %.

Les autres réponses ont été « exclues » du processus d'optimisation.

La désirabilité globale est une moyenne pondérée des désirabilités individuelles. Les « poids » de chaque désirabilité vont de 0,1 à l'unité et sont fixés par le formulateur en fonction de l'importance relative accordée aux réponses.

Une fois ces poids choisis, le module d'optimisation fournit un ensemble de solutions possibles précisant un paramètre (Log D) qui mesure la distance (ou l'écart) globale avec la réponse ciblée (Target). Dans notre simulation, nous avons fixé les poids 0,75, 1 et 0,80 respectivement pour la viscosité, la taille des particules et le taux de sédimentation. Ces trois réponses sont les mieux modélisées et sont celles qui traduisent le mieux la stabilité physique du système.

L'optimiseur utilise une procédure simplexe de Nelder Mead avec les modèles calculés pour chaque réponse pour optimiser la fonction désirabilité globale en tenant compte des désirabilités individuelles de chaque réponse (contraintes du système).

Le tableau n° 23 donne les solutions possibles en tenant compte des valeurs des poids associés à chaque désirabilité ainsi que les critères d'optimisation choisis (max, min ou valeurs cibles).

La solution est à choisir parmi celles qui présentent un Log (D) le plus négatif, c'est-à-dire qui correspond à la plus faible distance à la désirabilité globale.

Sur le tableau n°24 nous avons mis en gras l'optimum qui donne les valeurs les plus proches de la désirabilité et les valeurs que doivent prendre les différents facteurs, ici, la température, la vitesse d'agitation et la concentration en émulsifiant.

La solution renvoyée par le calculateur suggère qu'il y a lieu d'envisager des concentrations en agent émulsifiant plus élevées que celles qui ont été ciblées dans le cadre de l'étude.

Tableau n° 23 : Critères d'optimisation et possibles solutions du problème.

Réponse	Critère	poids	Min	Cible	Max
Viscosité (cSt)	Maximiser	0,75	80	110	
Taille (µm)	Minimiser	1	1	1	2,5
FT25 (%)	Minimiser	0,8		0,1	1

Tableau n° 24: Solution et valeurs que doivent prendre les différents facteurs

Temp	Vit	τ	Visc (cSt)	Taille (µm)	FT25 (%)	iteration	Log(D)
1,15	0,25	2,18	107	2,0	0,28	666	-0,82
1,11	0,26	2,22	109	1,9	0,52	612	-0,75
1,20	0,80	0,82	50	2,4	0,88	529	-0,13
1,02	0,22	2,30	114	1,9	0,55	501	-0,73
1,09	0,27	2,21	108	1,9	0,50	604	-0,76
1,13	0,21	2,27	112	1,9	0,47	438	-0,78
1,11	0,36	2,08	101	2,0	0,56	656	-0,66
1,11	0,36	2,08	101	2,0	0,56	656	-0,66



***Conclusion
Générale***

Conclusion Générale

L'objectif de ce travail était de formuler une émulsion pharmaceutique H/E, qui est un modèle (placébo) destinée à être administrée par voie orale. Du point de vue pratique, il est fondamental, lors de l'utilisation, de délivrer des doses reproductibles de principe actif. Le principe actif est une substance liposoluble, dissoute dans la phase huileuse dispersée. Il est capital que l'émulsion pharmaceutique préparée soit physiquement stable pendant une durée de temps compatible avec la durée de péremption du produit.

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes limité à étudier la stabilité physique du placebo durant une période de temps de 3 mois et demi. Celle-ci a été évaluée par différentes mesures physicochimiques.

Dans une première étape, nous avons testé le mélange d'émulsifiants qui donnait la meilleure stabilité. La méthode est basée sur le HLB critique. Une fois le mélange -en proportions définies- d'émulsifiants identifié, nous avons procédé à la formulation de l'émulsion en suivant un protocole opératoire susceptible de conduire à des émulsions stables. Parmi les facteurs ayant une incidence notable sur les qualités de l'émulsion, nous avons étudié les effets de la température de fabrication, de la vitesse d'agitation lors de la préparation et de la concentration de mélange émulsifiant.

Des considérations théoriques sur les phénomènes naturels de déstabilisation par clarification ou crémage des émulsions permettent de prévoir qu'il est possible d'agir sur un certain nombre de paramètres pour ralentir ces phénomènes. Il s'agit, en premier lieu, de la taille des particules que l'on aura intérêt à maintenir aussi faible que possible, de la viscosité de la phase liquide que l'on aura intérêt à maintenir aussi élevée que possible tout en veillant à ce que celle-ci soit compatible avec les conditions d'utilisation, notamment en autorisant la prise à la cuillère. D'autres facteurs, notamment les conditions opératoires des différentes phases de préparation de l'émulsion peuvent aussi influencer sur sa stabilité.

Une méthodologie basée sur la planification d'expériences a été mise en œuvre et les effets des facteurs cités précédemment sur les réponses étudiées en relation avec la stabilité physique ont été recherchés.

Les résultats ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- D'une manière générale, les émulsions qui présentent une bonne stabilité sont celles qui ont une teneur élevée en agents émulsifiants et ont été préparées à haute température.

- Les faibles tailles de particules sont favorisées par les fortes vitesses d'agitation et fortes concentrations en agent émulsifiant. Les tailles de particules enregistrées lors des essais sont grandes. L'utilisation d'un homogénéiseur dans la dernière phase de préparation de l'émulsion buvable est indispensable pour l'obtention de gouttelettes de faibles diamètres ;
- Les échantillons conservés à +10 °C ont montré une meilleure stabilité que ceux conservés à température ambiante. Les échantillons conservés à + 40°C ont tous connu des phénomènes de déstabilisation, ce qui paraît assez normale puisque l'huile de soja doit être conservé à une température ne dépassant pas 25 °C;
- D'une manière générale, nous constatons que la résistance à la centrifugation des échantillons stables augmente avec le taux d'émulsifiant et la viscosité mais ne paraît pas être corrélée avec la taille des particules.

A travers toutes ces constatations, on peut affirmer qu'il est difficile de prévoir dans quelle mesure une émulsion sera stable. De nombreux paramètres liés au mode de préparation de l'émulsion ou à la nature même du système émulsionné interviennent également dans le comportement futur du système soumis à diverses contraintes. C'est pour cela qu'il n'existe pas de méthode universelle qui garantisse un résultat satisfaisant. Le formulateur est toujours appelé à une démarche d'essais et erreurs pour cerner les paramètres les plus déterminants pour un système donné.

D'autre part, le produit fini doit être évalué dans sa totalité. Dans l'émulsion pharmaceutique H/E étudiée ici (placebo), il n'est pas fait mention du principe actif lipophile qui serait dissout dans la phase dispersée huileuse. Or cette substance peut aussi avoir des effets sur le comportement du système à long terme.

Ce travail ouvre ainsi de vastes perspectives de recherche dans le domaine des systèmes dispersés et a permis de mettre au point et de tester des méthodes simples d'investigation de ces systèmes.

Références Bibliographiques

- [1] M. Jumaa, B.W. Müller, Parenteral emulsions stabilized with a mixture of phospholipids and PEG-660-12-hydroxy stearate : Evaluation of accelerated and long term stability", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 54, (2002) pp 207-212
- [2] M. Jumaa, B.W. Müller, "The effect of oil components and homogenization conditions on the physicochemical properties and stability of parenteral fat emulsions", International Journal of Pharmaceutics 163 (1998) pp 81-89
- [3] M.Claude Martini, G. Piyrefitte, «Cosmétologie», Tome 2, Masson, Paris (2002).
- [4] B.Cabane, « Formulation des dispersions», Technique de l'ingénieur, Génie de la Formulation, J2 185 (2003).
- [5] F. Puisieux, M. Seiller, « Galenica 5, Les systèmes dispersés, Agents de surface et émulsions », Ed Technique & Documentation, Lavoisier, (1983).
- [6] R< Denine, F.Z Ghanassi, S. Jeraba, M. Nouas, «Cours de Pharmacie Galénique», Université d'Alger, (2002).
- [7] B. Abismail, "comparaison de procédés d'émulsification par agitation mécanique et par ultra cent de puissance", Thèse de doctorat de l'INP de Toulouse, (Décembre, 1999).
- [8] J. Poré, « Émulsions, micro- émulsions, émulsions multiples», Ed Techniques des Industries des Corps Gras, France, (1992).
- [9] Herbert A. Lieberman, Martin M. Rieger, Gilbert S. Banker, « Pharmaceutical Dosage forms: Dispers systems», Volume 1, Seconde Ed, Marcel Dekker, Inc./New York. Basel. Hong Kong (1996).
- [10] Herbert A. Lieberman, Martin M. Rieger, Gilbert S. Banker, « Pharmaceutical Dosage forms: Dispers systems», Volume 2, Seconde Ed, Marcel Dekker, Inc./New York. Basel.Hong Kong (1996).
- [11] F. Puisieux, « Les surfactifs et les émulsionnants », Labo - Pharma Problème et Techniques,Centre d'étude pharmaceutique,Paris XI (Chatenay, Malabry), N° 227, (Décembre1973).
- [12] D. Kassa, « Etude d'une émulsion avisée anti - inflammatoire destinée á la voie orale: obtention, absorption, toxico-tolérance», Thèse de doctorat d'état en pharmacie, Université d'Alger, (1991).
- [13] F. Puisieux « Les émulsions », Labo Pharma Problèmes et Techniques, Paris N° 224 (Septembre 1973).

- [14] F. Puisieux, J. Paris, Vu Thien Dac, « Les émulsions, Leurs principales formes d'instabilité», Labo Pharma Problèmes et Techniques, Paris N° 257- (Septembre 1976).
- [15] J.Sjoblom, « Emulsions and emulsion stability», Surfactant science series, Volume 61, Marcel Dekker, Inc, New York.Basel, (1996).
- [16] D. Attwood, A.T. Florence, « Surfactant systems», Chapman and Hall. Ltd London, (1983).
- [17] R. Perrin, J. Pierre Scharf, « cours Chimie industrielle», 2e éd Masson, Paris, (2003).
- [18] F.Z. Beghdadi née Ghanassi, « Rationalisation d'une émulsion huile dans l'eau, étude de l'influence des électrolytes sur la stabilité de l'émulsion», Thèse de doctorat d'état en pharmacie, Université d'Alger, (1998).
- [19] " Recueil de Normes Françaises: Agents de Surface, Détergents, Savons "; AFNOR, Paris-la-Défense, (1986).
- [20] Aimley Wade, Paul. J. Weller, « Handbook of Pharmaceutical Excipients », 2ieme Ed, American pharmaceutical Association, Washington et Royal Pharmaceutical Society of Greet Britain, (1994)
- [21] K.S. Birdi «Handbook of Surface and Colloid Chemistry», CRC Press, Boca Raton New York, (1997).
- [22] Douglas C. Montgomery, «Design and Analysis of Experiments», Wiley, (1984)
- [23] Jaques Goupy, « Plans d'Expériences pour Surfaces de Réponse », Dunod, (1998)
- [24] STASTICA Software, kernel version 5.5, Stat Soft France ed. (1984-2000)
- [25] MODDE Software, version 6, Umetrics AB (1993-2001).
- [26] J.P. Treguier, H. Gillieron, I.Lo et M. Seiller, « Les émulsions, Notion sur le HLB et le HLB critique», Labo Pharma Problèmes et Techniques, Paris N° 224 (Septembre 1973).
- [27] M. Pillet, « Les plans d'expériences par la méthode TAGUCHI», Edition d'organisation, (1997).
- [28] J. Goupy,« Plans D'expériences: Les mélanges», DUNOD, Paris. (2000).
- [29] C.E.Chitour, « Cours de PG, Les interfaces liquides - liquides », Alger, (2004).
- [30] C.E.Chitour, « Les agents tensioactifs et l'industrie pétrolière», Séminaire ENP- CRD/SH, Alger, (Mai, 2000).
- [31] K. Shinoda, H. Saito, H. Arai, The effect of the size and the distribution of the oxyethylene chain lengths of non-ionic emulsifiers on the stability of emulsions, J. Colloid Interface Sci. 35 (1971) pp 624-6630
- [32] K.Mebrouk, F.Benkhoucha «Formulation et étude de stabilité d'une suspension buvable», PFE de l'ENP d'Alger, (2006).
- [33]A. Sautter, E. Doelker, P.Buri et D. Mordier,« Étude du transport de principe actifs incorporés dans des émulsions de type huile dans l'eau», J. Pharm. Belg., (1976).

- [34] B.R. Guihot, et J. Cotte, « Les émulsions en pharmacie: Pourquoi? », Labo Pharma Problèmes et Techniques, Paris N° 224 (Septembre 1973).
- [35] C. Washington, « Stability of lipid emulsions for drug delivery », University of Nottingham NG7 2RD, UK, Elsevier Science, (1996).
- [36] F. Cournairie, E. Lechaptois, Z.Ghanassi, « Les émulsions, Nouveaux vecteurs de principes actifs pour la voie orale?», STP Pharma Pratiques 12(4) 184- 195 (2002).
- [37] F. El Guendouz, W. Ferrat, « Etude de pouvoir stabilisant des co - tensioactifs le PEG 400 et le propylène glycol dans les émulsions parentérales en absence de micro - fluidiseur», USTHB, Alger, (Octobre 2006).
- [38] M.Y. Nedonchelle, « Brèves notions de rhéologie appliquée aux émulsions», Labo Pharma Problèmes et techniques N° 771, (Septembre 1973).
- [39] F. Nielloud et coll, « Formulation of oil - in - water submicron emulsions in the dermatological feild using experimental design», Faculté de pharmacies, Montpellier, France, Polym Int 52:610 - 613, (2003).
- [40] H. Berradj née Bougherra, « Etude de la stabilité d'une suspension aqueuse d'oxyde de zinc», Mémoire de Magister, ENP d'Alger, (Février 2006)
- [41] H. Osmane-Gardabbou et coll, « Thickening of hydrophilic / lipophilic and lipophilic / hydrophilic micro emulsions», STP Pharma Sciences, Cedex France, 10 (3) 220-223 (2000).
- [42] J. Deluhery, N. Rajagopalan, « A turbidimetric method or the rapid evaluation of MWF emulsion stability», Elsevier, USA, (December, 2004).
- [43] J. Sjoblom, « Emulsion - A fundamental and practical approach», NATO, Scientific Affairs Division, Kluwer Academic Publishers, USA, (1991).
- [44] J. Louis Salager,«Guidelines for the formulation, composition and stirring to attain desired emulsion properties (type, droplet size, viscosity and stability)», Ecole d'ingénieur en chimie, Université de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela, (1995).
- [45] M. de Luca, C. Vaution, A. Rabarron et M. Seille, « Classification et obtention des émulsions multiples», Sciences pharmaceutiques, Université de paris Sud, (juin 1988).
- [46] N. Saito et coll « In vitro evaluation of deforming action of dimethyl polysiloxane emulsion for oral use», Kissei pharmaceutical Co. Ltd., Nagano Hoshi University, Tokyo, STP Pharma Sciences 2 (5) 425-430 (1992).
- [47] N.Farah, M. Rollet, et A. Berthod, « Étude d'une émulsion adsorbée sèche á base d'huile de silicone et de l'effet de la libération d'un principe actif hydrosoluble», Université Claude Bernard, Lyon, STP Pharma 3 (9/10) 752 - 752- 757 (1987).
- [48] R. Aveyard , B. P. Binks, J. H. Clint, « Emulsions stabilised solely by colloidal particles», The University of Hull, Hull HU6 7RX, UK, Elsevier Science, Advances in Colloid and Interface Science, 100 –102 (2003) 503–546

- [49] Rampurna P. Gullapalli, Bhogi B. Sheth, « Effect of methylcellulose on the stability of oil - in- water emulsions: influence of the disperse phase», University of Tennessee USA, Elsevier, International journal of pharmaceutics, 140 (1996) 97 109.
- [50] Rampurna P. Gullapalli, Bhogi B. Sheth, « Effet of methylcellulose on the stability of oil - in-water emulsions: influence of the disperse phase», University of Tennessee USA, Elsevier, International journal of pharmaceutics, 151 (1997) 249 253 .
- [51] Rampurna P. Gullapallia, Bhogi B. Shethb, « Influence of an optimized non-ionic emulsifier blend on properties of oil-in-water emulsions», Elsevier Science, University of Tennessee, Memphis, TN, USA, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 48 (1999) 233 - 238.
- [52] S. Tamilvanan et coll, « Ocular delivery of cyclosporin A», STP Pharma Sciences, The Hebrew University of jerusalem 91120, Israel, 11 (6) 421-426 (2001).
- [53] S.C. Yu, A. Bochot et sont coll, « Design and evaluation of an original O/W/O multiple emulsion containing natural cyclodextrins as the emulsifier», STP Pharma Sciences 9 (3) 273 - 277 (Mars 1999).
- [54] Shan-Yang Lin, Wen-Hsiu Wu, « Physical parameter and Release Behaviours of W/O/W Multiple emulsions containing Co surfactants and different specific of oil», Pharm ACTA HELV.66, Nr.12 (1991).
- [56] T.R.R Kurup, Lucy S.C. Wan et L.W. Chan, « Preservative requirements in emulsions», University of Singapore, Pharm. ACTA HELV.67,Nr. 7(1992).
- [57] U.T. Lashmar, J.P. Richardson, A. Erbod, « Correlation of physical parameters of an oil in water emulsion with manufacturing procedures and stability», , Royal Danish school of pharmacy, Copenhagen, Denmark, Elsevier, International journal of pharmaceutics, 125 (1995) 315 325 .
- [58] V.N. Izmailova, G.P. Yampolskaya, «Concentrated emulsions stabilized by macromolecules and the contributions of Hans Sonntag to this scientific field», A colloids and surfaces, Elsevier Science, Lomonosov Moscow State University, Russia, (1998).
- [59] L. Ho Tan Tai, « Détergents et produits corporels», Dunod, Paris, (1999).
- [60] L.L. Schramm, « Emulsions Fundamentals and Applications in the Petroleum Industry», American Chemical Society, Washington, DC (1992).
- [61] P. Becher, « Encyclopaedia of emulsions technology», Volume 4, Marcel Dekker, Inc, New York. Basel, Hong Kong, (1996).
- [62] H. Mollet, A. Grubenmann, « Formulation Technologies, Emulsions, suspensions, Solid forms», WILEY-VCH, Germany, (2001).
- [63] P. Hiemenz, R. Rajagopalan, « Principles of colloid and surface chemistry», Marcel Dekker, Inc, New York. Basel,Hong Kong, (1997).