

Université Ibn Khaldoun, Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

en

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.
Filière : Sciences Biologiques.
Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :

M^{elle} AIDI Fatima
M^{elle} BENAZEDDINE Fatima zohra
M^{elle} BENSALD Karima

Intitulé

Etude des propriétés émulsifiantes du sérum albumine bovine

Soutenu publiquement le 02/07/2018 à 08h00.

Devant les membres de jury :

| | | |
|-----------|------------------|-------------------------|
| Président | M. ACHIR Mohamed | Maître de conférences B |
| Examineur | M. KADI Samir | Maître de conférences B |
| Encadreur | M. ACEM Kamel | Maître de conférences A |

Sommaire

| | |
|------------------------|--|
| Remerciement | |
| Liste des abréviations | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Introduction | |

Partie bibliographique

Chapitre I : Les émulsions et les émulsifiants

| | |
|---|----|
| 1. Définition..... | 02 |
| 2. Types d'émulsion..... | 02 |
| 2.1. Emulsion de type aqueux | 02 |
| 2.2.Emulsion de type huileux..... | 02 |
| 2.3.Emulsion multiple..... | 02 |
| 3. Formes d'émulsion..... | 03 |
| 3.1. Les macroémulsions..... | 03 |
| 3.2. Les nanoémulsions | 03 |
| 3.3. Les microémulsions..... | 03 |
| 4. Composition des émulsions..... | 03 |
| 4.1. Phases lipophile..... | 03 |
| 4.2. Phases hydrophile..... | 03 |
| 4.3. Emulsifiants | 03 |
| 5. Réalisation des émulsions..... | 04 |
| 6. Rupture des émulsions..... | 04 |
| 7. Rôles de l'émulsifiant..... | 05 |
| 8. Critères de choix des émulsifiants | 06 |
| 9. Application des émulsifiants..... | 07 |

Chapitre II : Sérum albumine bovine

| | |
|------------------------------|----|
| 1. Définition..... | 09 |
| 2. Composition..... | 09 |
| 3. Structure | 10 |
| 3.1. Structure primaire..... | 11 |

| | |
|--------------------------------|----|
| 3.2. Structure secondaire..... | 11 |
| 3.4. Structure tertiaire..... | 12 |

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| 1. Objectif du travail..... | 13 |
| 2. Lieu du travail..... | 13 |
| 3. Matériel et méthodes | 13 |
| 3.1. Matériel..... | 13 |
| 3.1.1. Huile végétale..... | 13 |
| 3.1.2. Sérum albumine bovine (SAB)..... | 13 |
| 3.1.3. Stabilisant..... | 13 |
| 3.1.4. Tensioactif..... | 13 |
| 3.1.5. Appareillages, verreries et réactifs chimique | 14 |
| 3.1.6. Préparation du stabilisant..... | 15 |
| 3.1.7. Préparation des émulsions..... | 15 |
| 3.2-Méthode d'analyses | 16 |
| 3.2.1-protocole expérimental..... | 16 |
| 3.2.2. Analyse physico-chimiques..... | 17 |
| 3.2.2.1. Densité..... | 17 |
| 3.2.2.2. Viscosité..... | 18 |
| 3.2.2.3. Indice d'acidité | 19 |
| 3.2.2.4. pH..... | 20 |
| 3.2.3. Etude des émulsions..... | 21 |
| 3.2.3.1. Diamètre moyen de globules gras..... | 21 |
| 3.2.3.2. Nombre moyen des globules gras..... | 21 |
| 3.2.3.3. Surface interfaciale..... | 22 |

| | |
|---------------------------------|----|
| 3.2.3.4. Indice de crémage..... | 22 |
|---------------------------------|----|

ChapitreIV :Résultats et discussions

| | |
|--|----|
| 1. Caractérisation des phases d'émulsions..... | 23 |
| 1.1. Densité..... | 23 |
| 1.2. Viscosité..... | 24 |
| 1.3. Indice d'acidité..... | 24 |
| 1.4. pH..... | 24 |
| 2. Caractérisation des émulsions..... | 25 |
| 2.1. Indice de crémage..... | 25 |
| 2.2. Prise des photos..... | 27 |
| 2.3. Diamètre moyen des globules gras..... | 29 |
| 2.4. Nombre moyen des globules gras..... | 31 |
| 2.5. Surface interfaciale..... | 33 |
| 2.6. Prise des photos..... | 35 |

Conclusion

Annexes

Références bibliographiques

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire nous remerciant **ALLAH** qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrant **Mr : ACEM Kamel** pour l'orientation, la confiance, la patience et les conseils qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port, son œil critique nous a été très précieux pour structurer le travail et pour améliorer la qualité des différentes sections. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre responsable de spécialité **Dr.TAIBI Khaled** pour ses efforts et surtout sa responsabilité.

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études.

Nos sincères remerciements vont également à tous les membres de jury **Mr ACHIR Mohamed** et **Mr KADI Samir** qu'ils ont acceptés de juger notre travail.

Un grand merci à toute personne de laboratoire de technologie alimentaire et physiologie végétale de la faculté de la science de la nature et de la vie Tiaret, pour leur disponibilité et pour l'aide qu'il ont bien voulu nous apporter.

Nous tenons à remercier aussi les personnes de la bibliothèque.

Et enfin nous tenons à remercier tous ceux qui, du près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.



Introduction

Introduction

Les émulsions forment la base d'une large gamme de produits manufacturés dans le domaine alimentaire (lait, crème, mayonnaise, beurre etc.), pharmaceutique, agrochimique et cosmétique, elles sont constituées d'au moins deux liquides non-miscibles, l'un étant dispersé dans l'autre sous forme de gouttelettes, dans le cas le plus simple les deux liquides sont de l'huile et de l'eau.

Les émulsions sont par définition des systèmes instables qui peuvent se déstabiliser suivant plusieurs mécanismes réversibles ou non, parmi ces mécanismes, les deux principaux sont le crémage (ou la sédimentation suivant les densités relatives des deux liquides) et la coalescence (**NOVALES et al., 2003**).

Tandis que ce système peut être stable et homogène grâce à l'ajout d'agents tensio-actifs, ce dernier forme un film protecteur autour des gouttelettes, cela permet d'empêcher ces gouttelettes de s'agglomérer et par conséquent permet de maintenir le mélange stable et de l'entreposer pendant un certain temps (**CHRISTINE, 2002**).

Les émulsifiants sont des molécules amphiphiles qui diminuent la tension inter faciale en s'adsorbant aux gouttelettes d'huile, ils peuvent être de nature lipidique tels les phospholipides et les monoacylglycérol, ou encore de nature protéique (**MANGINO, 1994**).

Le Sérum Albumine Bovine (SAB), est l'une des protéines extraites du sérum de bovin largement utilisée en laboratoire de biologie, sa grande utilisation est due à sa stabilité, à son absence d'effets dans de nombreuses réactions biochimiques et à son faible coût (**LAM et NICKERSON 2013**).

Notre présente étude vise à évaluer les propriétés émulsifiantes du sérum albumine bovine (SAB) dans le but de le valoriser dans le domaine des émulsions.

Partie bibliographique

Chapitre I

Les émulsions et les

émulsifiants

1. Définition

DICKINSON (1988) définit une émulsion comme un système hétérogène contenant un liquide dispersé dans un autre, sous forme de gouttelettes de taille colloïdale ou microscopique.

Plus généralement, on peut définir une émulsion comme la dispersion d'une phase non miscible dans une autre, quel que soit son état physique (**CAYOT et LORIENT, 1998**).

2. Types d'émulsion

Selon **ALAINE et al., (2008)**, on a trois types d'émulsion :

2.1. Emulsion de type aqueux

Dans ce type d'émulsion, la phase dispersée est huileuse par contre la phase dispersante est aqueuse, ce type d'émulsion est dit lipophile dans hydrophile (huile dans l'eau H/E).

2.2. Emulsion de type huileux

Dans ce type d'émulsion la phase dispersée est aqueuse, et la phase dispersante est huileuse, ce type d'émulsion est dit : hydrophile dans lipophile (eau dans huile E/H).

2.3. Emulsion multiple

Dans ce type d'émulsion peut être eau dans huile dans eau ou (E/H/E), ou bien huile dans eau dans huile ou (H/E/H).

La figure 1 donne deux types d'émulsion (H /E et E/H).

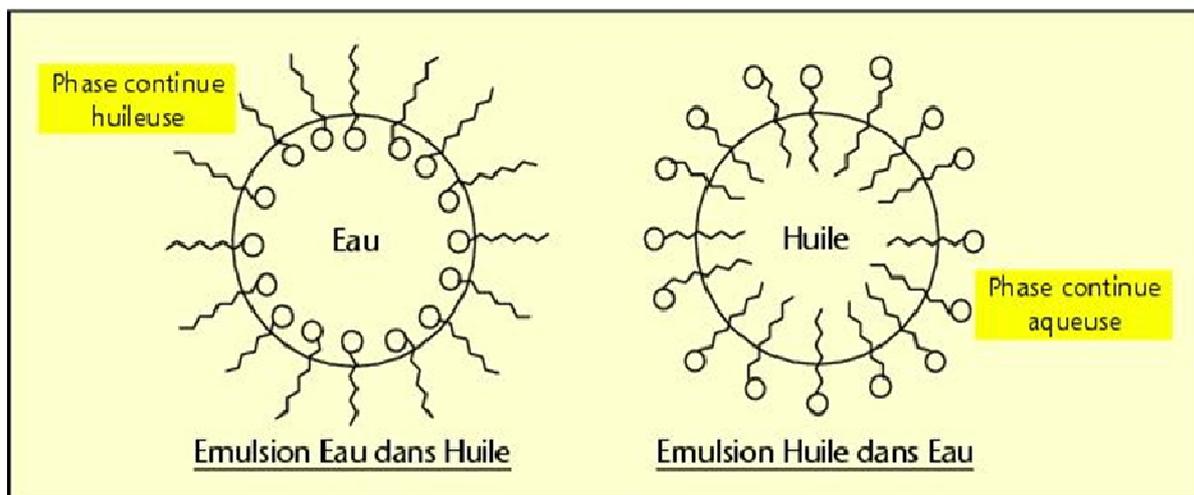


Figure 1 : Schéma des émulsions classiques : huile-dans-eau et eau-dans-huile

3. Formes d'émulsion

3.1. Les macroémulsions

Ce sont des émulsions dont le diamètre des gouttes est de l'ordre du micromètre, elles sont généralement obtenues par agitation mécanique (**BECHER ,1977**).

3.2. Les nanoémulsions

Les nanoémulsions sont des émulsions avec un diamètre de gouttes nanométriques, dites « nano-gouttes ou gouttelettes » et une distribution de taille étroite, les NEs sont des systèmes « métastables », c'est-à-dire hors équilibre thermodynamique (**MASON et al , 2006**).

3.3. Les microémulsions

Ce sont des systèmes dans lesquels un tensioactif particulièrement performant rend possible la coexistence, à l'échelle quasi moléculaire, des phases eau et huile, les microémulsions ne sont donc pas des émulsions avec un diamètre de gouttelettes micronique (**ANTON et VANDAMME, 2011**).

4. Composition des émulsions

La composition des émulsions est essentiellement faite par :

4.1. Phases lipophile

La phase huileuse, appelée également phase grasse, phase lipophile ou phase organique, comporte des huiles, des cires et des graisses d'origine végétale, animale ou minérale, la phase huileuse d'une émulsion est généralement composée d'un mélange d'ingrédients (**GENOT ,2010**).

4.2. Phases hydrophile

La phase aqueuse ou phase hydrophile contient l'eau et divers composants hydrosolubles, les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverse : ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, etc. (**McCIEMENTS ,2007**).

4.3. Emulsifiants

Certaines substances dites émulsifiantes contribuent à la stabilité de l'émulsion. Il s'agit le plus souvent de petites molécules amphiphiles appelées tensioactifs, surfactifs, surfactants ou agents de surface. La schématisation classique des tensioactifs met en évidence un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe.

Pour se faire ces molécules doivent se positionner à l'interface entre les deux phases et donc posséder une affinité pour chacune d'elles, (FLESINKI, 2011).

5. Réalisation des émulsions

Afin que les émulsions puissent se former, il est généralement admis que la tension inter faciale entre deux liquides doit être très faible.

La préparation des émulsions se fait par dispersion de l'une des phases dans l'autre par agitation, mécanique en général, le ou les émulsifiants ainsi que les autres constituants étant dissous ou dispersés dans l'un ou l'autre liquide, l'agitation peut éventuellement être complétée par une homogénéisation (LINDEN et LORIENT, 1994).

6. Rupture des émulsions

Du fait de leur nature, les émulsions sont thermodynamiquement instables, les collisions, lors desquelles les gouttelettes peuvent soit rebondir soit s'agréger, ont des causes diverses selon les conditions dans lesquelles est placée l'émulsion (CAYOT et LORIENT, 1998).

Les phénomènes de déstabilisation fréquemment rencontrés dans les émulsions sont relativement nombreux et bien décrits dans la littérature (Figure2) :

- **Le crémage** ou la sédimentation provoquent une séparation gravitationnelle en fonction de la densité de la phase dispersée,
- **La floculation** est le passage d'un système dispersé à un système non-dispersé dans lequel existent des agrégats appelés flocs (BEAULIEU, 1997), elle peut être due :
 - aux forces attractives présentes dans le système ;
 - à un déficit en tensioactif, par exemple, ce qui induit une séparation de phase, encore appelée floculation par pontage ;
 - à l'écoulement du solvant hors de la région entre deux gouttelettes du fait d'une différence de pression osmotique, c'est la floculation par déplétion.
- **La coalescence** consiste en la rupture du film présent entre deux gouttelettes au point de contact et la formation d'une plus grosse gouttelette.
- **Le mûrissement d'Ostwald** (TAYLOR, 1998) représente la diffusion du contenu des petites gouttelettes vers les plus grandes gouttelettes via la phase externe, à cause d'une tension interfaciale élevée, d'une phase dispersée soluble ou d'une différence de pression de Laplace élevée, jusqu'à disparition complète des petites gouttelettes qui entraîne une augmentation de la taille moyenne des gouttelettes dispersés dans l'émulsion,

- **L'inversion de phase** pour laquelle une émulsion E/H se transforme en H/E et inversement due à un mauvais choix de matières premières et notamment de tensioactif ou à une augmentation de la température.

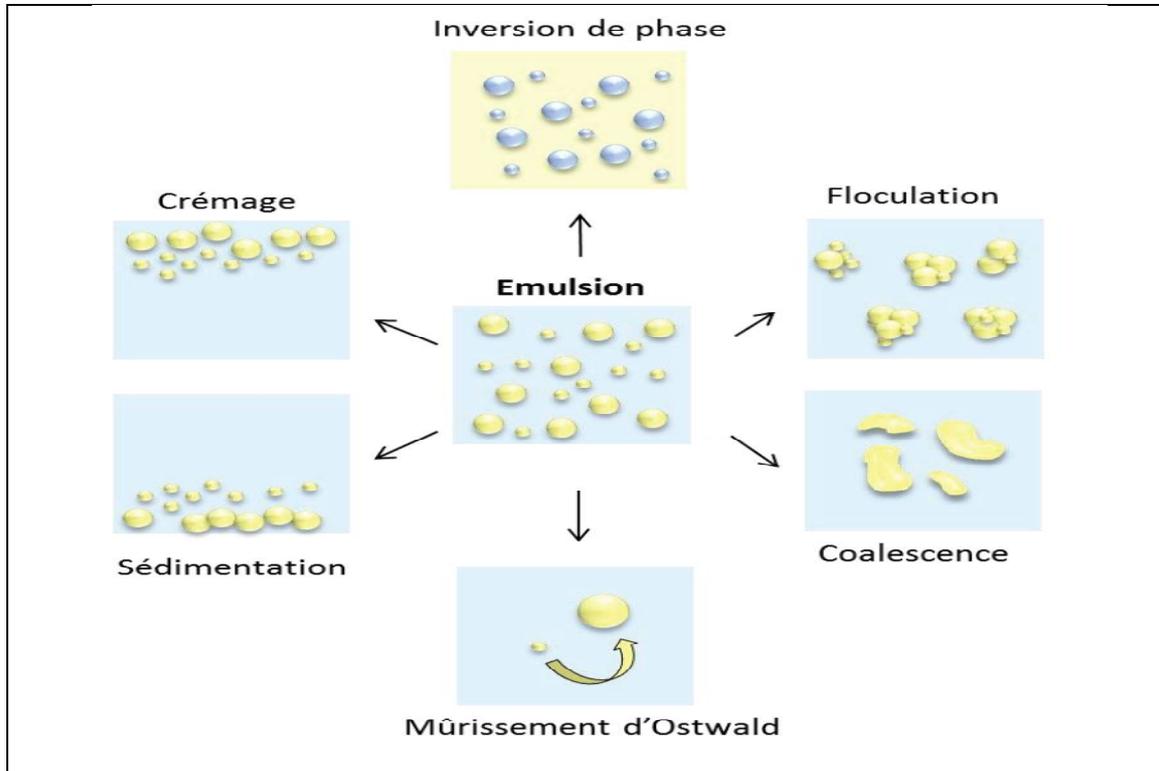


Figure 2 : Représentation schématique des divers procédés de déstabilisation d'après **TADROS (2013)**

7. Rôles de l'émulsifiant

Selon **JEANTET et al., (2006)**, les principaux rôles sont :

- **Abaissement de la tension interfaciale**

C'est la première fonction d'un tensioactif lors de l'émulsification.

- **Action sur le mode de déformation**

Le tensioactif empêche le mouvement tangentiel de l'interface, et donc l'écoulement des liquides le long de cette interface, en absence de tensioactif, le mouvement du fluide est continu de part et d'autre de l'interface.

➤ **Prévention de la coalescence**

La plupart des phénomènes importants dans la formation d'une émulsion, c'est-à-dire la création de l'interface, l'adsorption, l'étalement de l'émulsifiant, et la collision des gouttelettes, se reproduisant en l'espace de quelques millisecondes ou moins.

8. Critères de choix des émulsifiants

➤ **Stabilité**

C'est un critère fondamental d'une émulsion, elle est dépendant des facteurs suivants : granulométrie, des gouttes d'émulsion, rapport des densités des deux phases, concentration des deux phases, apport en énergie mécanique, température, pH et présence d'électrolytes, cependant ces derniers ne peuvent à eux-seuls assurer cette stabilité, car ce système en équilibre subit une évolution plus au moins rapide qui se traduit par une séparation des deux phases (**PAOUOT,2003**).

Pour réaliser une émulsion inverse (eau dans huile), il est nécessaire d'utiliser un tensioactif à tendance lipophile, à l'inverse pour réaliser une émulsion directe (l'huile dans l'eau), le tensioactif repuis est a tendance hydrophile (**BERILLANT ,1989**).

➤ **Température de dénaturation**

Le chauffage abaisse habituellement la viscosité et la rigidité du film protéique, la gélification à chaud d'un film protéique inter facial fortement hydraté accroît sa viscosité de surface et sa rigidité, ce qui stabilise l'émulsion.

L'augmentation de la température peut conduire à une insolubilisation de certaines protéines et leur fait perdre leur pouvoir émulsifiant (**CHEFTEL et al, 1985**).

9. Application des émulsifiants

Le tableau 1 donne les applications possibles des émulsifiants.

Tableau 1 : Applications des émulsifiants.

| Emulsifiants | | Application |
|--------------------------------|--|--|
| Synthèse (JEANTET, 2006) | -Monoglycérides et dérivés des monoglycérides (E471 ,E472) | -Utilisés en panification anglo-saxonne pour améliorer la texture de la mie et le volume du pain -Acétoglycérides très utilisés pour stabiliser des mousses. -Dérivés des polyoxydes d'éthylène (très hydrophiles) utilisés comme agent conditionnant et agent émulsifiant dans les crèmes glacées et les crèmes fouettés. |
| | -Phospholipide (lécithine) (322) | -Utilisations alimentaires des phospholipides naturels très divers : produits de boulangerie, chocolaterie, produit instantes, margarinerie, etc. -Les phospholipides sont réputés pour leurs propriétés antioxydants qui proviendraient de la présence de traces de tocophérols dans l'huile support. |

| | | |
|-------------------|--|---|
| Biologique | <p>Origine animale :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Les protéines du lactosérum -Jaune d'œuf -Sérum albumine bovine(SAB) -Caséines | <p>-Sont largement utilisées dans le domaine alimentaire pour la production des émulsions (LAM et NICKERSO, 2013).</p> <p>-Les importantes propriétés émulsifiantes du jaune d'œuf ont été attribuées au phospholipide (BOURGEOIS et al., 1994).</p> <p>-Produits laitiers (par exemple : Fromage fondu, crème glacées, desserts).</p> |
| | <p>Origine végétale : (UZZAN et DEFLY ,1996).</p> <ul style="list-style-type: none"> -farine | <ul style="list-style-type: none"> -Panification ; -Pâtisserie ; -Vernoiserie. |

Chapitre II
Sérum albumine
bovine

1. Définition

D'après **JEANTET (2006)**, le sérum albumine bovine (SAB) présente une forme ellipsoïdale dont la surface est constituée des poches hydrophobes permettant la fixation d'acide gras à long chaîne.

L'albumine de sérum est la protéine plasmatique la plus abondante chez les mammifères, l'albumine de sérum bovin BSA (bovine sérum albumine) est une protéine globulaire composée de 583 acides aminés avec une masse molaire de 66 000 g/mol, et contient 17 liaisons disulfures et un groupement thiol libre (**MAJOREK ,2012**).

2. Composition

Les tableaux 2 et 3 montrent les compositions du SAB.

Tableau 2 : Composition atomique du SAB.

| Nombre d'atomes | C | N | O | S |
|-------------------------------|------|-----|-----|----|
| BROWN et al.,(1975) | 2926 | 779 | 897 | 39 |
| HIRAYAMA et al.,(1990) | 3030 | 842 | 947 | 40 |

Tableau 3 : Composition en acides aminés du SAB.

| Acide aminé | Nombre des résidus selon BROWN et <i>al.</i>, (1975) | Nombre des résidus selon HYRAMAYA et <i>al.</i>, (1990) |
|--------------------|--|--|
| Acide Aspartique | 41 | 41 |
| Arginine | 23 | 26 |
| Asparagine | 13 | 14 |
| Acide Glutamique | 59 | 58 |
| Glutamine | 20 | 21 |
| Histidine | 17 | 16 |
| Lysine | 59 | 60 |
| Sérine | 28 | 32 |
| Thréonine | 34 | 34 |
| Alanine | 46 | 48 |
| Isoleucine | 14 | 15 |
| Leucine | 61 | 65 |
| Méthionine | 04 | 05 |
| Phénylalanine | 27 | 30 |
| Tryptophane | 02 | 03 |
| Tyrosine | 19 | 21 |
| Valine | 36 | 38 |
| Cystéine | 35 | 35 |
| Glycine | 16 | 17 |
| Proline | 28 | 28 |
| Total | 582 | 607 |

3. Structure

3.1. Structure primaire

La SAB est une macromolécule d'un poids moléculaire de 66,5 KDa, sa structure primaire est constituée par une chaîne polypeptidique unique de 582 résidus d'acides aminés (**BROWN, 1976**).

L'albumine du sérum bovin présente 76 % de similitude de séquence avec la sérum albumine humaine (SAH) (**PETERS, 1985**), la principale différence entre les deux protéines réside dans le fait que le SAB possède deux résidus tryptophane (W131 et W214) (**PETERS, 1995**), alors que le SAH n'en a qu'un seul (W214), la molécule ne contient qu'une seule cystéine (Cys34) libre (**MIN HE et CARTER, 1992**), peu de méthionine (4 pour le SAB contre 6 pour le SAH), et des résidus chargés comme l'arginine (23 pour le SAB contre 24 pour le SAH), la lysine, l'acide aspartique (41 pour le SAB contre 36 pour le SAH), et l'acide glutamique (59 pour le SAB contre 62 pour le SAH) (**PETERS, 1985**).

On dénombre 35 résidus cystéine dans la molécule de SA, dont 34 sont impliqués dans des ponts disulfure. La Cys34 est entourée des résidus Pro35, His39, Val77, Try84 qui l'empêchent, à pH neutre, de contracter des liaisons disulfure avec des cystéines d'autres protéines (**SUGIO et al, 1999**), mais elle peut s'oxyder à la longue et créer des polymères de la SA (**CARTER, 1994**).

La molécule est très soluble : ceci est dû à sa charge totale élevée qui est environ 185 ions par molécule à pH 7 (**PETERS, 1985**).

3.2. Structure secondaire

La structure secondaire de la SA est formée par environ 70 % d'hélices- α , à pH neutre. Elle possède 17 ponts disulfures qui lui confèrent une stabilité remarquable. Cette propriété en fait une molécule très résistante à la dénaturation, même dans les conditions les plus sévères (par exemple 8 moles/litre d'urée ou à pH 2) (**CARTER, 1994**).

3.3. Structure tertiaire

la structure tertiaire de la SAB n'est toujours pas connue et, en raison de sa similitude avec l'albumine de sérum humain (HAS en anglais) (le pourcentage d'homologie de séquences entre la SAB et la SAH est de 76%, un acide aminé hydrophobe étant remplacé par un autre acide aminé hydrophobe, un acide aminé hydrophile étant remplacé par un autre acide aminé hydrophile de même charge), les chercheurs supposent que les deux protéines possèdent une structure tridimensionnelle très proche (HUANG et *al.*, 2004).

La SAH a été cristallisée dans l'espace, en 1989. La structure tridimensionnelle de la SAH a été déterminée pour la première fois par analyse cristallographique aux Rayons X, d'abord à faible résolution (6 Å) (CARTER et *al.*, 1989), ensuite sa structure a été définie avec une résolution de 2,5 Å par SUGIO et *al.*, 1999.

La connaissance précise de la structure est absolument nécessaire pour tenter de comprendre toutes ses propriétés fonctionnelles et pour identifier les sites de liaison de divers ligands. Ce travail a été accompli par CURRY et *al.*, 2006.

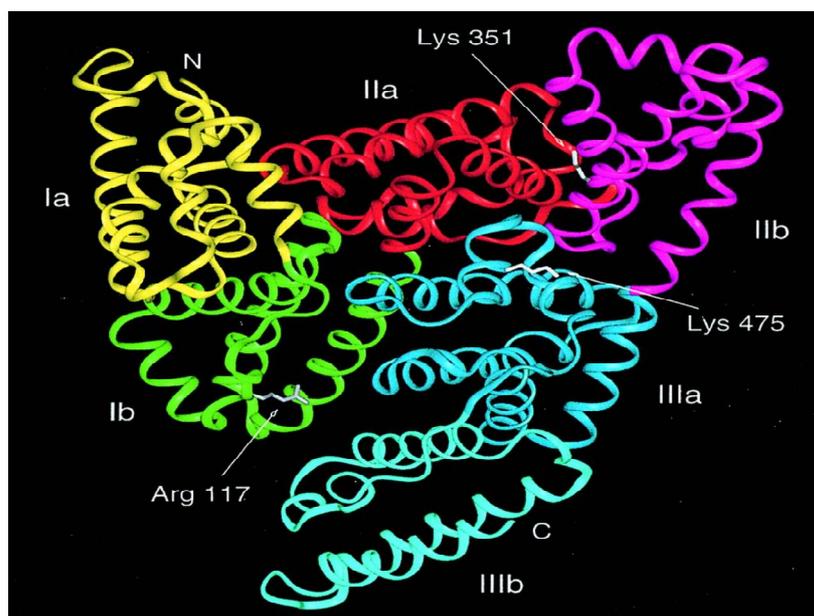


Figure 3 : Structure tertiaire du sérum albumine bovine.

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériel et Méthodes

1. Objectif du travail

Notre étude a pour objectif d'estimer les propriétés émulsifiantes du sérum albumine bovine (SAB) et ce après avoir caractérisé du point de vue physique et chimique les phases des émulsions (huile d'olive vierge et l'eau distillée).

2. Lieu du travail

Notre travail expérimental a été effectué au niveau du laboratoire de technologie alimentaire et physiologie végétale de la faculté des sciences de la nature et de la vie de Tiaret.

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Huile végétale

Nous avons utilisé huile d'olive vierge, sa marque CHIALI produite en 2018 par le groupe CHIALI zone industrielle Sidi Bel Abbès, Algérie.

3.1.2. Sérum albumine bovine (SAB)

C'est un produit provenant du commerce ;

SIGMA-ALDRICH

Heat shock fraction –pH 7, $\geq 98\%$.

3.1.3. Stabilisant

Lors de la préparation des émulsions, le stabilisant utilisé est la caséinate de sodium.

3.1.4. Tensioactif

Nous avons utilisé Tween 80 comme agent de surface, sa marque FLUKA, produit de France.

3.1.5. Appareillages, verreries et réactifs chimiques

Le tableau 4 donne le matériel du laboratoire utilisé durant notre expérimentation.

Tableau 4 : matériel du laboratoire utilisé.

| Appareillages | Verreries | produit utilisés |
|---|---|--|
| -Agitateur magnétique chauffant : IKA, LAMBOTECHNIK type RCTB. -Bain-marie MEMMER type WB7T. -Balance de précision : SARTORIUS type BA 110S. -Blinder: BOMANN (powerful 180watt motor) ELECTROCORPORATION). -Etuve MEMMERT. -Microscope optique: B-350 Optika . -pH mètre : SCHOTT GERATE type CG822. -Viscosimètre « THERMO » ELECTRON CORPORATION) | -Béchers de : 25, 50, 100 ml. -Entonnoir. -Eprouvettes de : 10, 50, 100 ml -Fioles jaugées de 20,50 ml. -Lames et lamelles. -Micropipette. -Pipettes graduées de : 1, 5, 10, 20 ml. -Pipettes pasteur. -Pycnomètre. -Tubes à essais. | -Acétone. -Carbonate de sodium (Na_2CO_3). -Caséine. -Ethanol 1%. -Hydroxyde de potassium -Phénolphtaléine 1%. KOH(0.1 N). -Indicateur colorés : Rouge de soudan 1%. Bleu de méthylène 1%. |

3.1.6. Préparation du stabilisant

La caséinate de sodium est obtenue par un mélange de 5g de Na_2CO_3 et 1g de caséine dans 100 ml de l'eau distillée.

3.1.7. Préparation des émulsions

Le tableau montre la composition des émulsions étudiées.

Tableau 5 : composition des émulsions.

| Emulsions Composition(%) | Emulsion1 | Emulsion2 | Emulsion3 | Emulsion4 | Emulsion5 |
|---|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Huile d'olive | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Eau distillée | 95 | 95 | 95 | 95 | 95 |
| Emulsifiant | 0 | 0.25 | 0.5 | 0.75 | 1 |
| Stabilisant | 1 | 0.75 | 0.5 | 0.25 | 0 |

Emulsifiant 1 : Sérum albumine bovine.

Emulsifiant 2 : Tween 80.

Stabilisant : Caséinate de sodium.

Chaque mélange est alors homogénéisé à vitesse 18000 tr/min pendant 1 min à 25 °C/1min à l'aide d'agitateur (Mixeur).

3.2-Méthode d'analyses

3.2.1-protocole expérimental

La figure 4 indique le protocole expérimental de notre étude.

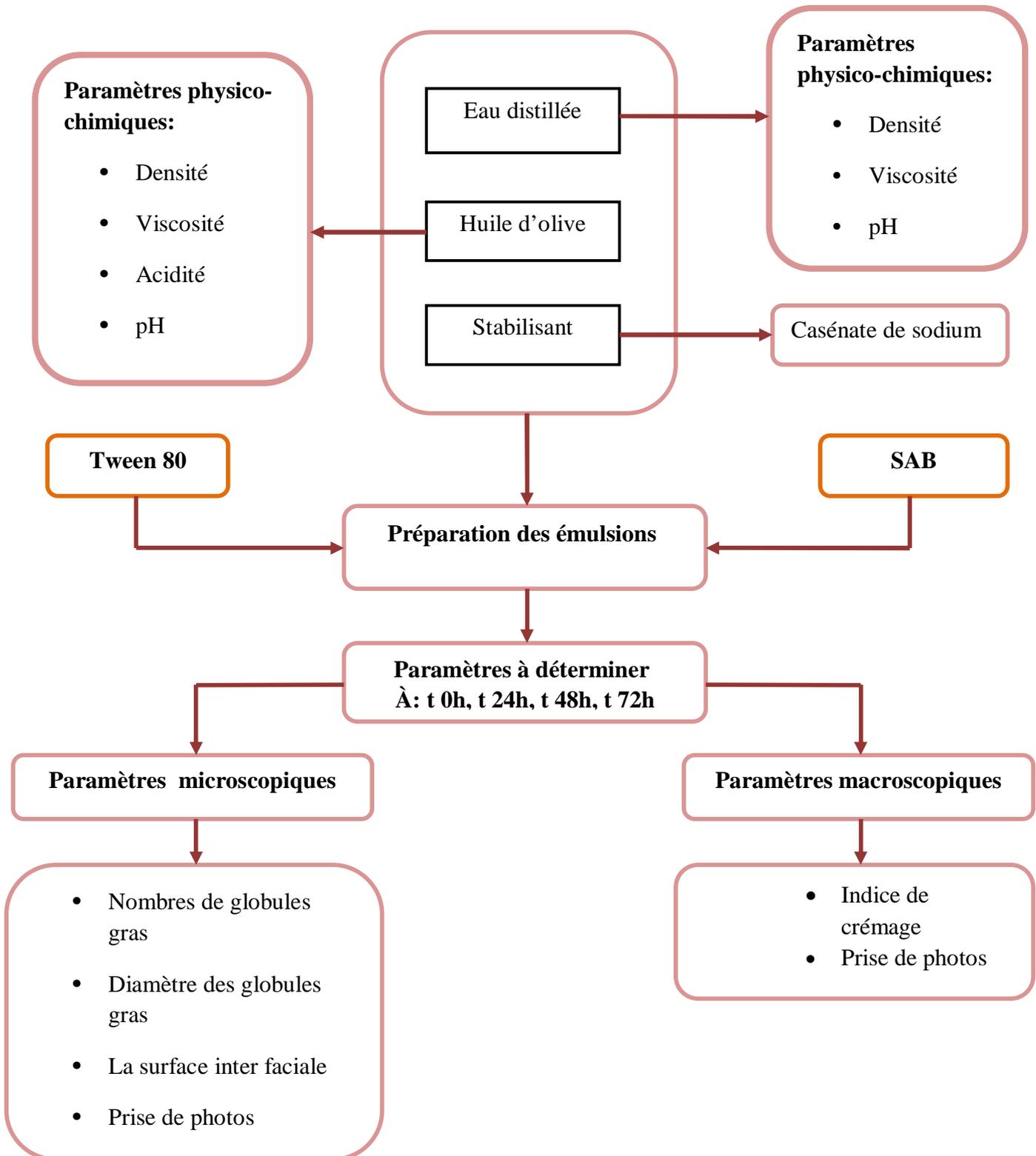


Figure 4 : Le protocole expérimental.

3.2.2. Analyse physico-chimiques

3.2.2.1. Densité

➤ Principe

Selon **CROSS (1968)**, la détermination de la densité d'une huile repose sur la mesure de celle-ci à l'aide d'un pycnomètre, à une température parfaitement déterminée.

➤ Mode opératoire

La détermination précise de la densité se fait par la méthode de **HARDY, (1987)**.

Sous la température du laboratoire (25 °C) ; nous avons suivi les étapes suivantes :

- Peser le pycnomètre parfaitement propre, vide et sec ;
- Peser le pycnomètre remplie de l'eau distillée ;
- Vider le pycnomètre, le sécher soigneusement à l'alcool ;
- Peser le pycnomètre remplie de l'échantillon désiré (dans ce cas nous avons l'huile et de l'eau distillée).
- Vider le pycnomètre, le sécher soigneusement à l'alcool.

➤ Mode de calcul

La détermination de la densité est donnée par la formule suivante :

$$D = (P2 - P0) / (P1 - P0)$$

Où :

P : Le poids du pycnomètre vide (g).

P₀ : Le poids du pycnomètre plein d'eau distillée (g).

P₁ : Le poids du pycnomètre plein de l'échantillon (g).

D : la densité de l'échantillon à température ambiante 25 °C du laboratoire.

3.2.2.2. Viscosité

➤ Principe

Selon **CROSS (1968)**, la viscosité des acides gras et des triglycérides est liée à leur structure et en particulier à la longueur des chaînes et à leur insaturation.

➤ Mode opératoire

- Remplir le flacon porte tube avec l'échantillon considéré ;
- Fixer la température désirée (dans ce cas nous avons fixé la température à 25 °C pour les différents échantillon) ;
- Lorsque l'équilibre de la température soit atteint, choisir une bille pour laquelle son écoulement à travers l'échantillon dans le tube viscosimétrique doit être aussi lent que possible ;
- Laisser ensuite la bille s'écouler librement et mettre le chronomètre en marche lorsque la bille atteint le repère supérieur du tube viscosimétrique, et l'arrêter lorsqu'elle atteint le repère situé à la partie inférieure du tube viscosimétrique ;
- Déterminer le temps de chute de bille.

➤ Mode de calcul

$$\eta = t. (D1 - D2).k$$

Où :

η : Viscosité en centipoise (cP).

t : Temps de chute de la bille en secondes (s).

D1 : Densité de la bille.

D2 : Densité de l'échantillon à la température de masse.

K : Constant d'étalonnage par gravité du tube.

Le tableau ci-dessous donne la relation poids, densité de la bille et constant d'étalonnage par gravité du tube.

Tableau 6 : Relation poids, densité de la bille et constant d'étalonnage par gravité du tube.

| Poids de la bille | Densité de la bille | Constant k |
|-------------------|---------------------|------------|
| 14,8942 | 8,126 | 0,71558 |
| 4,4280 | 2,228 | 0,10277 |

3.2.2.3. Indice d'acidité de l'huile d'olive

➤ Principe

On définit l'indice d'acidité comme étant le nombre de milligramme de **KOH** nécessaire pour neutraliser les acides gras libres d'un gramme de corps gras (**BENABID ,2009**).

➤ Mode opératoire

L'indice d'acidité des huiles est évalué à l'aide de la méthode **d'AFNOR « FN60. 1204, (1984) »**.

- Peser 0.5 à 1g de corps gras ;
- Ajouter 10 ml d'éthanol et 2 gouttes de phénolphtaléine ;
- Titrer avec la solution de KOH (0.1 N) jusqu'au virage à la couleur rose persistante.
- Lire le volume de KOH versé.

➤ **Mode de calcul**

L'acidité est déterminée selon la formule suivante :

$$I_A = V.56.1/E$$

Où :

I_A : Indice d'acidité (%).

V : Volume de KOH versé.

E : Prise d'essai en ml.

3.2.2.4. pH

➤ **Principe**

D'après **GEOFFREY, (2011)**, La mesure du pH a été déterminée par un pH mètre dont sa valeur est en fonction de la concentration des ions d'hydronium présents dans la solution.

Mode opératoire

- Etalonner le pH mètre à l'aide de solution tampon (pH=5, pH=08) ;
- L'électrode doit être rincée par l'acétone et nettoyée avec du papier absorbant ;
- Tremper l'électrode du pH mètre dans le volume suffisant de l'échantillon préalablement chauffé à 20°C ;
- Lire la valeur du pH indiqué sur l'écran d'affichage du pH mètre.

3.2.3. Etude des émulsions

3.2.3.1. Diamètre moyen des globules gras

D'après **TOURAINÉ et DRAPRON, (1987)**, il faut se déplacer au hasard sur la surface du rectangle et réaliser 10 déterminations successives pour avoir une répartition statistique.

La détermination du diamètre est donnée par la formule suivant :

$$\phi = K/10 \left[\sum_{t=1}^{t=10} D_i \right]$$

Où :

ϕ : Diamètre moyen des globules gras à temps t en (μm).

K : Coefficient oculaire constant (**K=1.33**).

i : Nombre des globules gras au hasard.

D : Diamètre des globules gras en (μm).

3.2.3.2. Nombre moyen des globules gras

Il repose sur le comptage microscopique des globules; on prélève à l'aide d'une pipette de pasteur au fond de l'émulsion une goutte que l'on dépose sur la lame et on ajoute une goutte de bleu de méthylène et une goutte de rouge soudan,

Nous avons calculé le nombre moyen des globules gras contenu dans la quantité de la prise d'essai à partir de la formule suivante (**REGNAUIT, 1992**) :

$$N = F \cdot n / f \cdot a$$

Où :

N : nombre de globules gras contenus dans le volume de la suspension examinée (mm).

F : surface de la lame sur laquelle on a étalé le volume de la suspension examinée (4 cm).

f : surface d'un champ en mm^2 .

N : nombre des globules gras dénombrés sur l'ensemble des champs examinés.

a : nombre des champs examinés.

Pour objectif 10, la surface d'un champ est $8,86 \text{ mm}^2$.

3.2.3.3. Surface interfaciale

La surface interfaciale repose sur la détermination du diamètre moyen des globules gras (DRAPRON, 1987).

Lorsqu'on connaît le diamètre moyen (ϕ) on peut alors calculer la surface interfaciale (SI) selon l'équation suivante :

$$SI (m^2) = \frac{6V}{\phi}$$

ϕ : Diamètre moyen des globules gras en μm .

V: Volume de la phase émulsifiée en ml.

3.2.3.4. Indice de crémage

selon SEAN et *al.*, (2004) , l'indice de crémage donne de l'information indirecte sur l'état de floculation d'une émulsion.

Pour l'estimation de l'indice de crémage, on a procédé les étapes suivantes :

- 10 ml d'émulsion a été transféré dans un tube à essai et stockée à 25 °C.
- Remarquer les phénomènes de déphasage, qui peuvent se manifester ;
- Mesurer l'hauteur de la couche huileuse et d'émulsion ;

l'indice de crémage a été calculé selon la relation suivante :

$$IC = H(h)/H(E) * 100$$

Où:

IC : indice de crémage en %.

H(h) : Hauteur de la couche huileuse.

H(E) : Hauteur de la couche d'émulsion.

Chapitre IV

Résultats et discussions

1. Caractérisation des phases d'émulsions

Le tableau 7 donne les différents paramètres physico-chimiques moyens de l'huile d'olive et de l'eau distillée.

Tableau 7 : Paramètres physico-chimiques moyen de l'huile d'olive et de l'eau distillée.

| Paramètres physico-chimiques à 25 °C Echantillon | Densité | Viscosité (cP) | Indice d'acidité (%) | pH |
|---|----------------|-----------------------|-----------------------------|-----------|
| Huile d'olive vierge | 0.913 | 77.4221 | 0.98 | 6.55 |
| Eau distillée | 1 | 1.20 | nd | 6.65 |

nd : non déterminé

1.1. Densité

Nous constatons que la densité de l'huile d'olive est légèrement inférieure à celle de l'eau distillée.

La valeur de la densité de l'huile d'olive vierge est conforme à la norme citée par **CODEX (1989)**, où la densité d'huiles végétales est comprise entre 0.910 – 0.916.

1.2. Viscosité

Nous avons remarqué que la viscosité de l'huile d'olive vierge est supérieure que celle trouvée dans l'eau distillée (77.4221 contre 1.2 cP).

1.3. Indice d'acidité

Nous constatons que la valeur de l'indice d'acidité de l'huile d'olive vierge est inférieure de 1%, ce qui confirme sa qualité dite vierge.

L'indice d'acidité des corps gras dépend étroitement de leur composition, mode d'extraction et leurs conditions du stockage (**MATHIEU ,1998**).

1.4. pH

La valeur du pH de l'huile d'olive étudiée à l'état frais, est légèrement inférieure à celle de l'eau distillée.

Le pH de l'huile d'olive est ainsi conforme à celle indiquée par **EBERHARD** et *al.*, (**2005**).

Le pH de l'eau distillée est inférieur à celui trouvée par **MCARDEL** et *al.*, (**2004**) qui rapportent qu'une eau chimiquement pure (distillée) se rapproche de la neutralité.

2. Caractérisation des émulsions

2.1. Indice de crémage

La figure 5 indique l'évolution de l'indice de crémage des émulsions préparées à partir du Tween 80 (a) et le sérum albumine bovine (b) à 25°C au cours du temps.

L'ensemble des courbes ont présenté des allures décroissantes au cours du temps, sauf l'émulsion composée de 0.25 % du stabilisant et de 0.75 % d'émulsifiant qui tend à croître au cours du temps (figure a et b).

D'après **SEAN et al., (2004)** l'indice de crémage est inversement proportionnel à la stabilité des émulsions.

Les émulsions qui ont marqué une stabilité (figure a) sont celles formées respectivement de :

- >1% de CS et 0% de Tween 80.
- >0.75% de CS et 0.25% de Tween 80.
- >0.5% de CS et 0.5% de Tween 80.
- >0% de CS et 1% de Tween 80.

Or la figure (b) a montré les résultats suivants :

- >0.75% de CS et 0.25% de SAB ;
- >0.5% de CS et 0.5% de SAB ;
- >1% de SAB ;
- >1% de CS.

Selon les travaux de **LORIENT et al., (1991)**, les protéines sont des excellents stabilisants des émulsions.

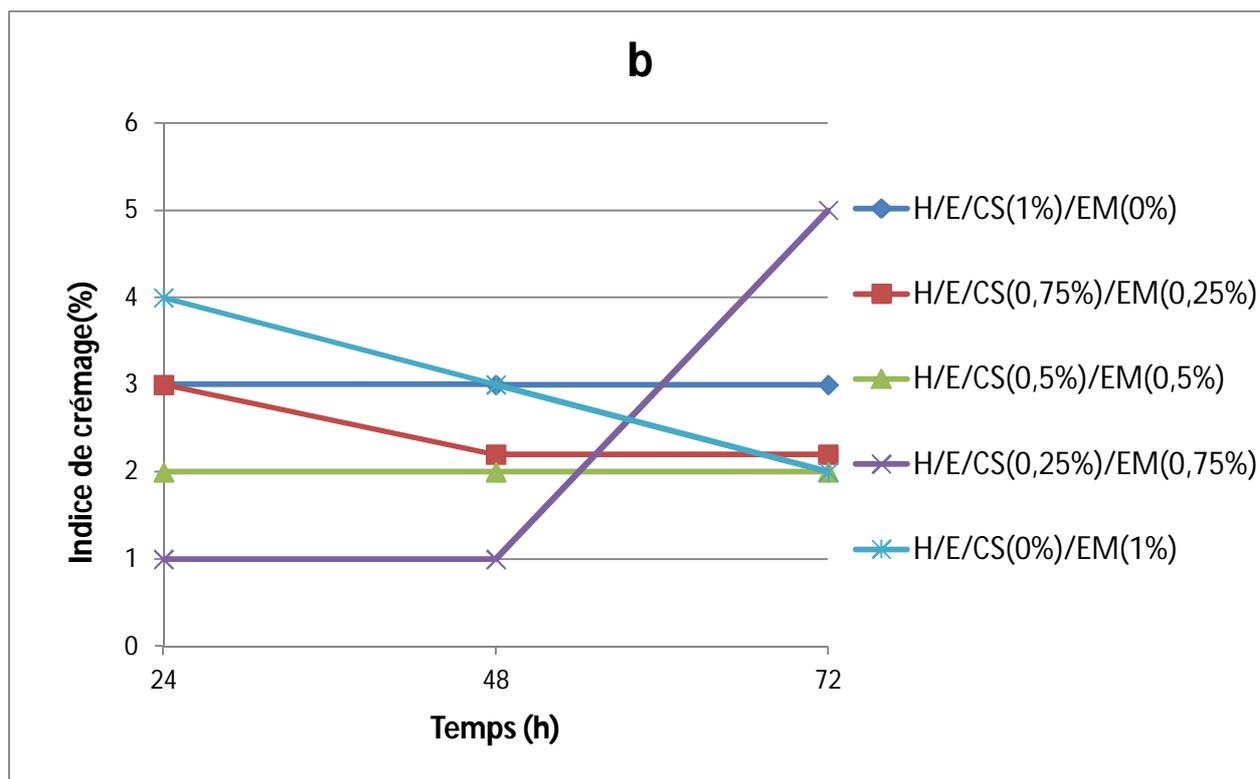
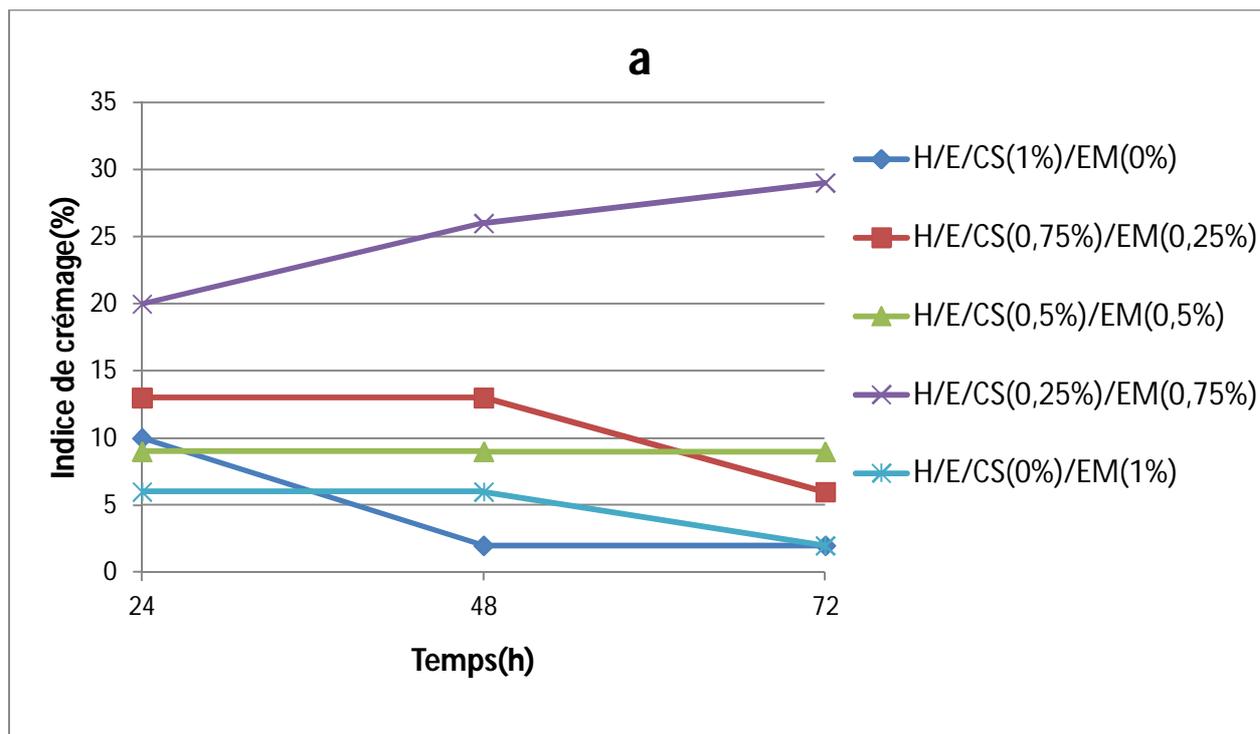


Figure 5 : Evolution de l'indice de crémage des émulsions étudiées :

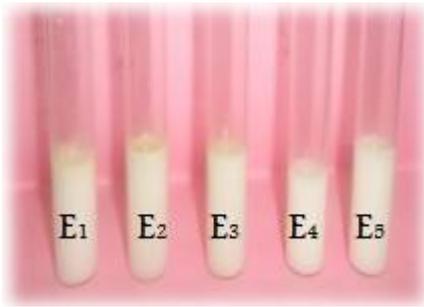
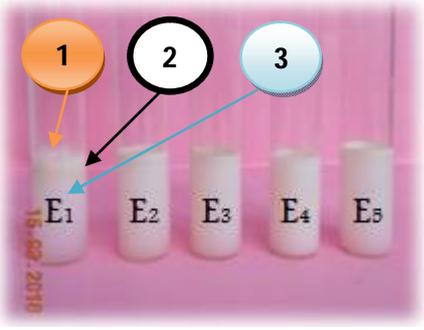
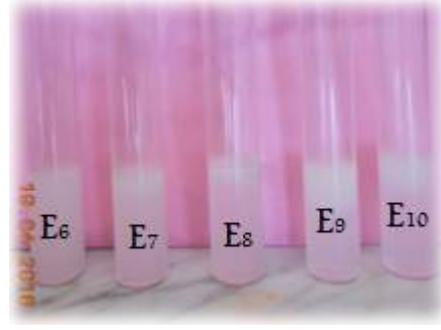
a-Emulsion de type : H/E/CS /T80.

b-Emulsion de type : H/E/CS/SAB.

2.2. Prise des photos

Le tableau 8 donne l'aspect macroscopique des émulsions et évolution de leur indice de crémage au cours du temps.

Tableau 8 : Aspect macroscopique des émulsions stockées à 25°C au cours du temps

| Temps (h) | Emulsions préparées à base du Tween 80 | Emulsions préparées à base du SAB |
|-----------|---|--|
| t 24 |  |  |
| t 48 |  |  |
| t 72 |  |  |

E₁ : H/E/CS (1%)/EM (0%).

E₂ : H/E/CS (0.75%)/EM (0.25%).

E₃ : H/E/CS (0.5%)/EM (0.5%).

E₄ : H/E/CS (0.25%)/EM (0.75%).

E₅ : H/E/CS (0%)/EM (1%).

E₆ : H/E/CS (1%)/EM (0%).

E₇ : H/E/CS (0.75%)/EM (0.25%).

E₈ : H/E/CS (0.5%)/EM (0.5%).

E₉ : H/E/CS (0.25%)/EM (0.75%).

E₁₀ : H/E/CS (0%)/EM (1%).

1 : Couche huileuse **2** : Emulsion **3** : Couche aqueuse.

Les résultats de l'évolution de l'indice de crémage ont montré que l'émulsion préparée de 0% CS et de 1% SAB, présenté une meilleure stabilité par rapport aux autres types d'émulsions au cours du temps.

2.3. Diamètre moyen des globules gras

La figure 6, représente l'évolution du diamètre moyen des globules gras en fonction du temps des émulsions préparées à partir du Tween 80 (c) et le sérum albumine bovine (d) à 25°C.

A temps t_0 h, les émulsions qui ont noté une taille inférieure sont celles formées de :

- >0% CS et 1% de Tween 80 (figure c) ;
- >1% CS et 0% de SAB (figure d).

Au cours du temps (t_{72} h) nous remarquons que les émulsions qui ont marqué un diamètre inférieur sont celles composées de :

- >1% CS et 0% de Tween 80 (figure c) ;
- >0% CS et 1% de SAB (figure d).

Selon **JEANTET et al.,(2006)**, la stabilité des émulsions est d'autant plus grande que les globules gras de la phase dispersée sont plus petit.

Le SAB à de bonnes propriétés émulsionnantes, il a été rapporté que le clivage des liaisons disulfure augmente la flexibilité du SAB et, par conséquent, améliore ses propriétés émulsionnantes (**TANG et SHEN, 2013**). Une seule étude portant sur des émulsions submicroniques a montré que la taille minimale des gouttelettes formées avec l'ultrasonication est de l'ordre de 500 nm et les émulsions obtenues ne sont pas stables contre la coalescence (**PEREZ-GAGO et KROCHTA ,2002**).

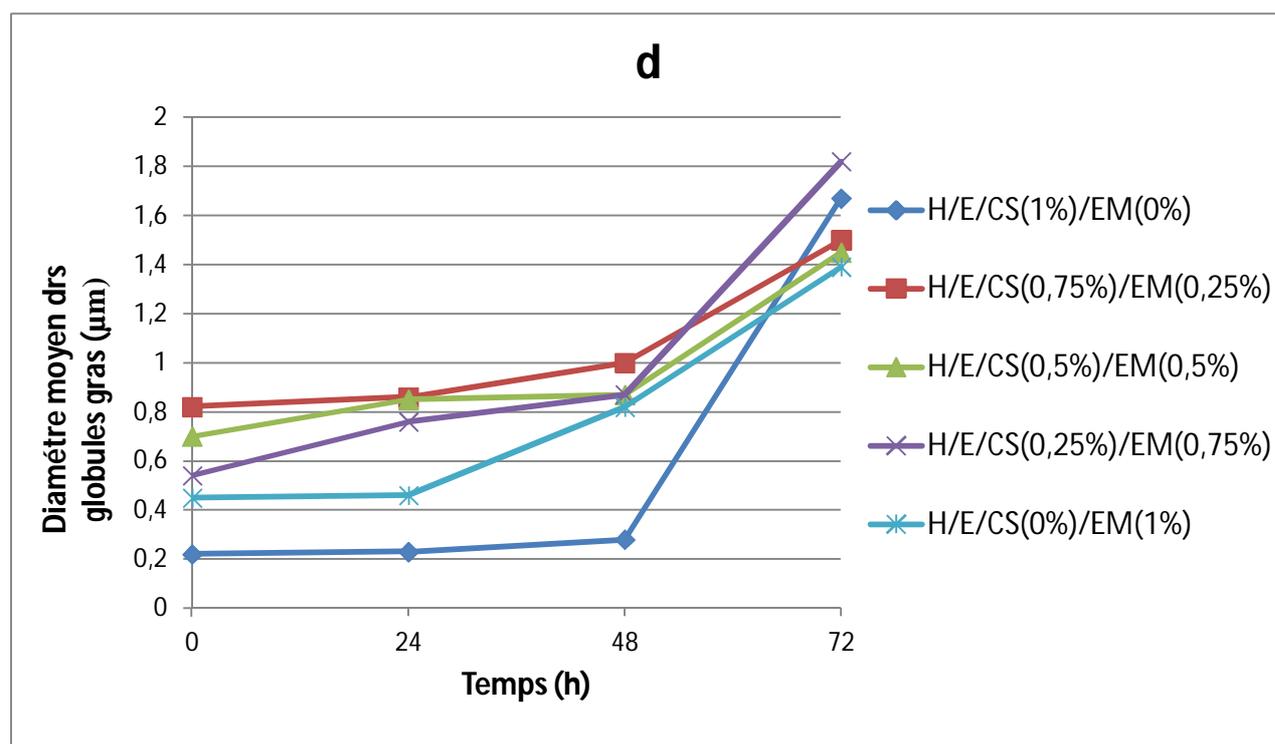
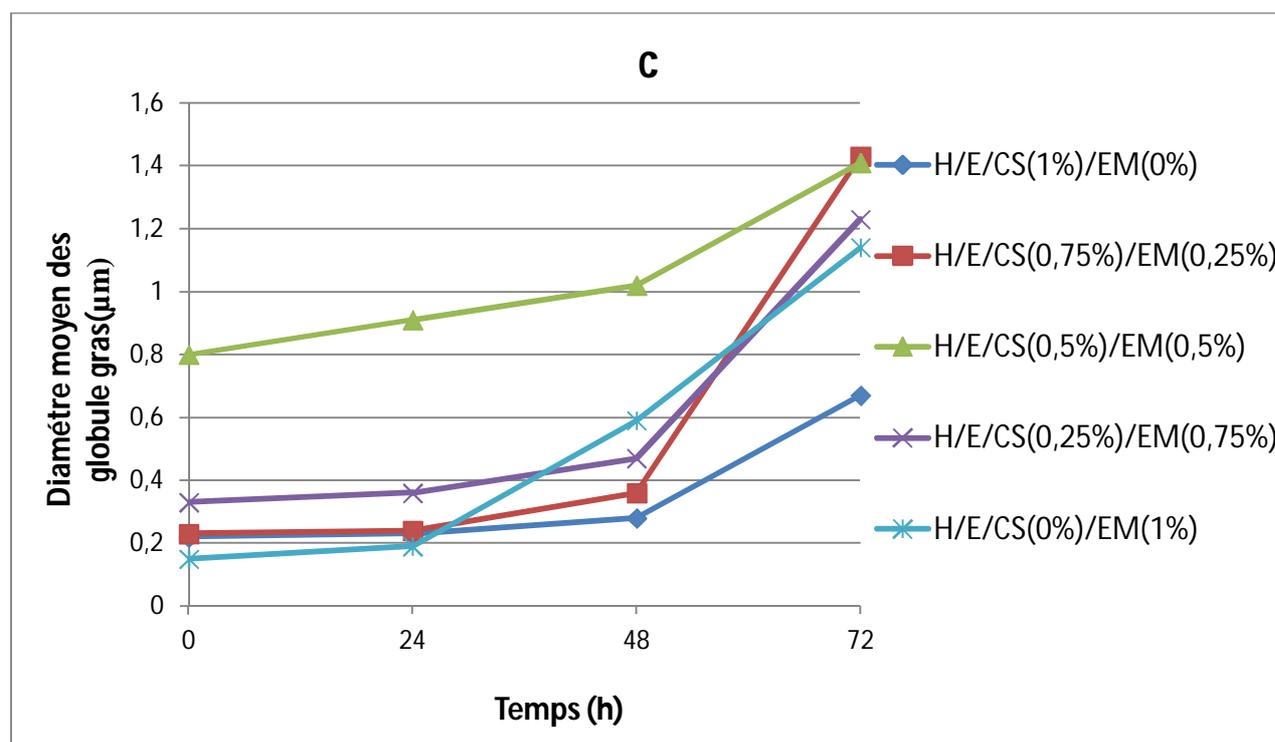


Figure 6 : Cinétique du diamètre moyen des globules gras des émulsions étudiées :

c- Emulsion de type : H/ E/CS/T80.

d- Emulsion de type : H/E/CS/SAB.

2.4. Nombre moyen des globules gras

La figure 7, représente l'évolution du nombre moyen des globules gras des émulsions préparées à partir du Tween 80 (e) et le sérum albumine bovine (f) à 25°C.

A temps t_0 h, les émulsions qui ont caractérisé par un nombre élevé sont celles préparées de :

- >0% CS et 1% de Tween 80 (figure e) ;
- >1% CS et 0% de SAB (figure f).

Au cours du temps (t_72 h), les émulsions qui ont manifesté par un nombre élevé sont celles confectionnées de :

- >0% CS et 1% de tween 80 (figure e) ;
- >1% CS et 0% de SAB (figure f) ;
- >0% CS et 1% de SAB (figure f).

D'après **CHEFTEL (1985)** et **DIKINSON (1996)**, la diminution du nombre moyen des globules gras est due principalement aux trois phénomènes :

- Le crémage ;
- La floculation ;
- La coalescence.

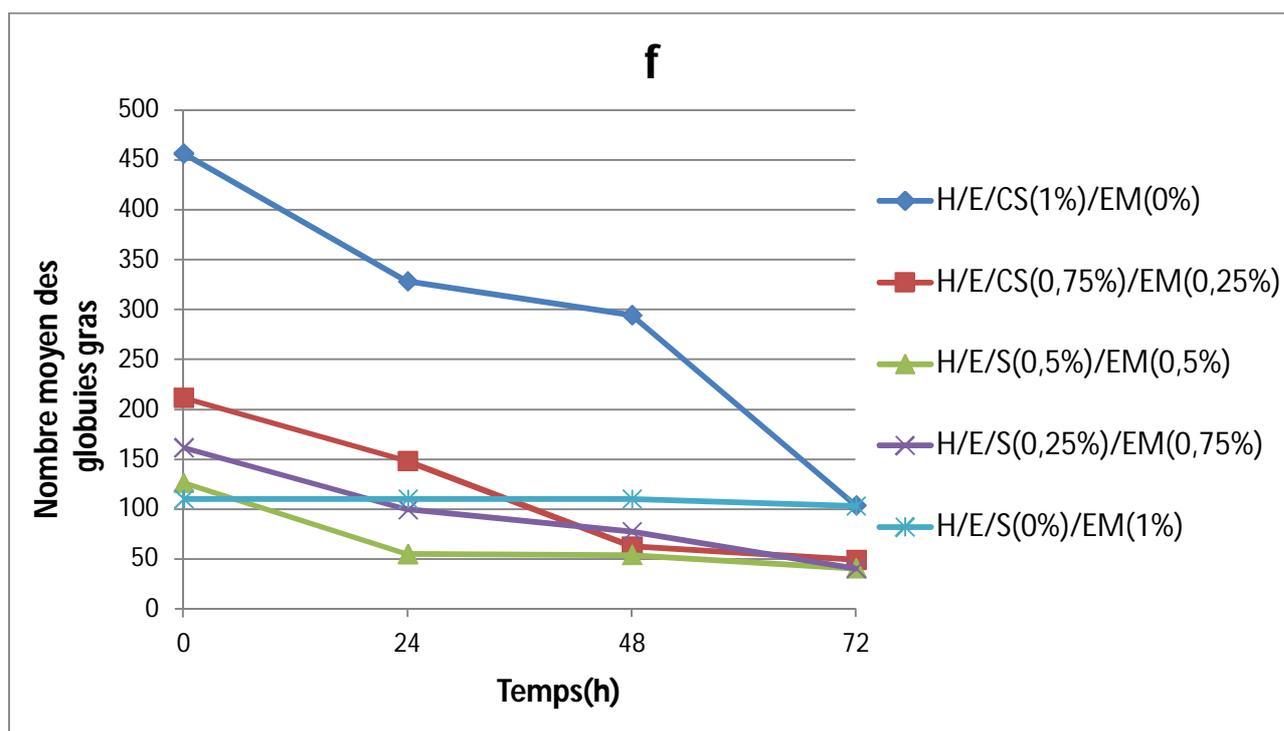
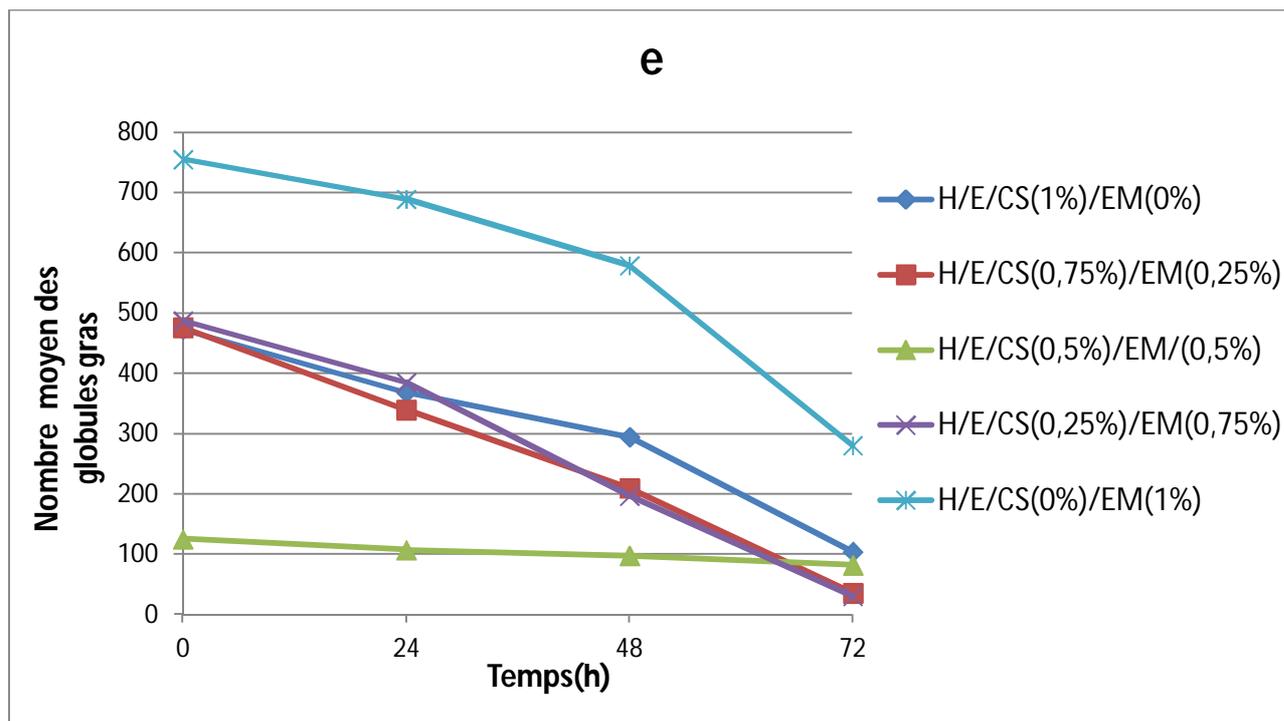


Figure 7 : Cinétique du nombre moyen des globules gras des émulsions étudiées :

e-Emulsions de type : H/E/CS/T80.

f-Emulsions de type : H/E/CS/SAB.

2.5. Surface interfaciale

Dans les différents types des émulsions, la surface interfaciale est caractérisée par des valeurs décroissantes au cours du temps (figure g et h).

A temps t_0 h et au cours du temps (t_{72} h), les émulsions qui ont présenté des valeurs supérieures pour la surface interfaciale sont celles formées de :

- >0% CS et 1% de Tween 80 ;
- >0% CS et 1% de SAB.

La surface interfaciale est inversement proportionnelle au diamètre moyen des globules gras, plus le diamètre est petit, plus la surface interfaciale est grande et plus la stabilité est bonne.

D'après **MATHIEU (1998)**, un système dispersé est dit stable quand ses particules ne se soudent pas mais au contraire reste séparées par le milieu de dispersion.

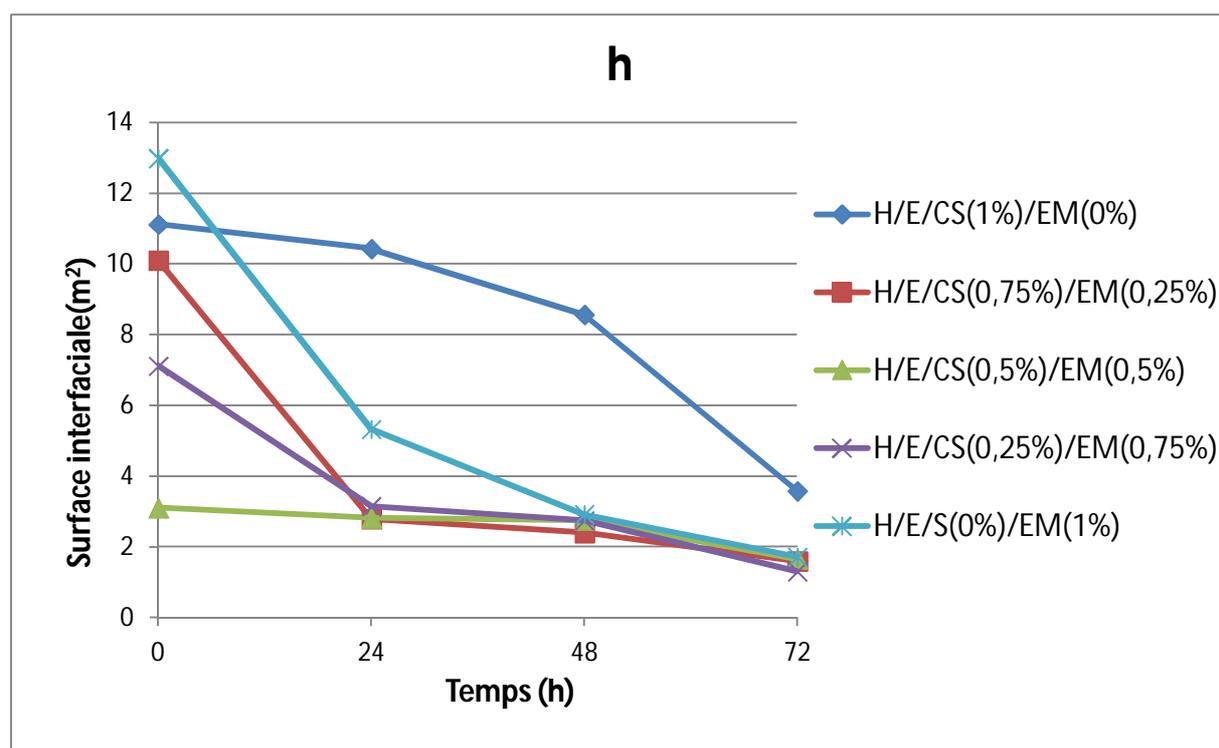
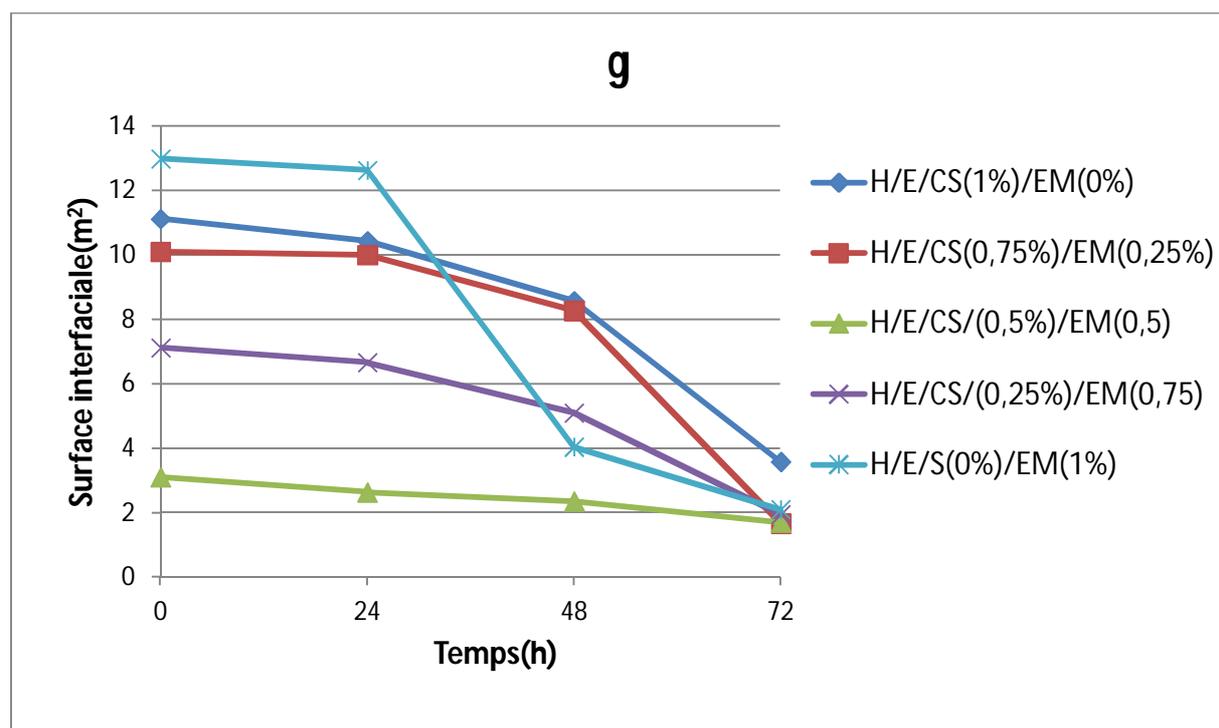


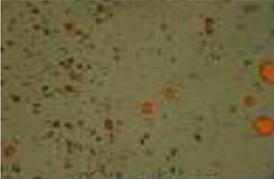
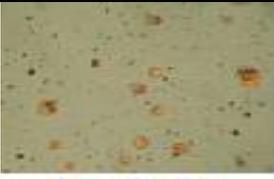
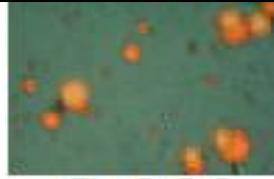
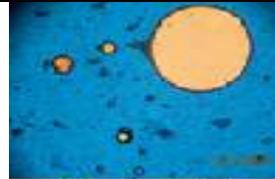
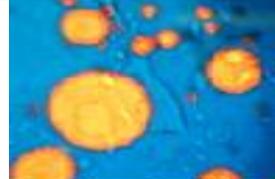
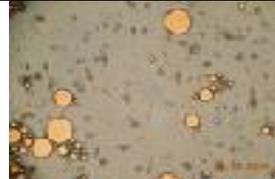
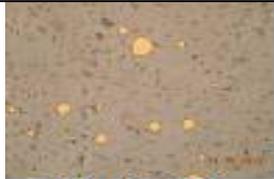
Figure 8 : Cinétique de la surface interfaciale des émulsions étudiées :

g-Emulsion de type : H/E/CS/T80.

h-Emulsion de type : H/E/CS/SAB.

Les tableaux 9 et 10 révèlent l'aspect microscopique ($G \times 10$) des émulsions étudiées.

Tableau 9 : Aspect microscopique ($\phi = \mu\text{m}$) des émulsions préparées à base du Tween 80 au cours du temps.

| | à t 0h | Après 24h | Après 48h | Après 72h |
|----------------------|--|--|---|--|
| E₁ |  $\phi=0.22$ |  $\phi=0.23$ |  $\phi=0.28$ |  $\phi=0.67$ |
| E₂ |  $\phi=0.23$ |  $\phi=0.24$ |  $\phi=0.36$ |  $\phi=1.43$ |
| E₃ |  $\phi=0.8$ |  $\phi=0.91$ |  $\phi=1.02$ |  $\phi=1.41$ |
| E₄ |  $\phi=0.33$ |  $\phi=0.36$ |  $\phi=0.47$ |  $\phi=1.23$ |
| E₅ |  $\phi=0.15$ |  $\phi=0.19$ |  $\phi=0.59$ |  $\phi=1.14$ |

E₁ : H/E/CS (1%)/EM (0%).

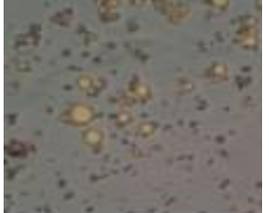
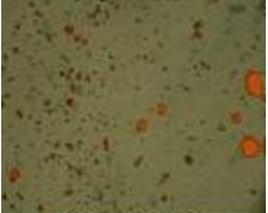
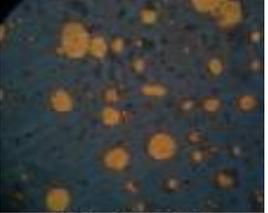
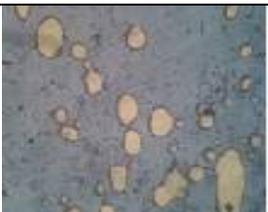
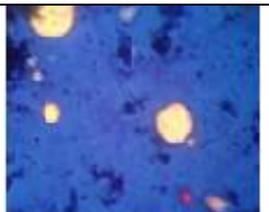
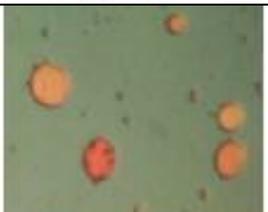
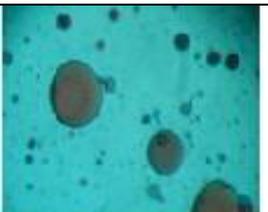
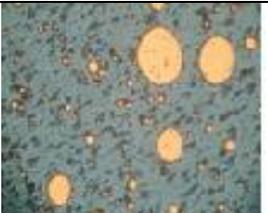
E₂ : H/E/CS (0.75%)/EM (0.25%).

E₃ : H/E/CS (0.5%)/EM (0.5%).

E₄ : H/E/CS (0.25%)/EM (0.75%).

E₅ : H/E/CS (0%)/EM (1%).

Tableau 10 : Aspect microscopique ($\phi = \mu\text{m}$) des émulsions préparées à base de SAB au cours du temps.

| | à t 0h | Après 24h | Après 48h | Après 72h |
|-----------------------|--|--|---|--|
| E₆ |  Ø=0.22 |  Ø=0.23 |  Ø=0.28 |  Ø=1.67 |
| E₇ |  Ø=0.82 |  Ø=0.86 |  Ø=1 |  Ø=1.5 |
| E₈ |  Ø=0.7 |  Ø=0.85 |  Ø=0.87 |  Ø=1.45 |
| E₉ |  Ø=0.54 |  Ø=0.76 |  Ø=0.87 |  Ø=1.82 |
| E₁₀ |  Ø=0.45 |  Ø=0.46 |  Ø=0.82 |  Ø=1.39 |

E₆ : H/E/CS (1%)/EM (0%).

E₇ : H/E/CS (0.75%)/EM (0.25%).

E₈ : H/E/CS (0.5%)/EM (0.5%).

E₉ : H/E/CS (0.25%)/EM (0.75%).

E₁₀ : H/E/CS (0%)/EM (1%)

L'évolution de la taille des globules gras au cours du temps est due principalement aux phénomènes de la déstabilisation des émulsions à savoir la floculation, la coalescence et le crémage.

Comparativement aux autres types d'émulsions, l'émulsion préparée à 0% CS et 1% de SAB à manifesté par une taille inférieure au cours du temps.

Conclusion

Conclusion

Les agents émulsifiants et stabilisants sont nombreux et diversifiés, la mise au point d'un nouvel ingrédient est toujours d'actualité puisque la stabilité des émulsions se veut toujours de plus en plus longue, la perception négative des émulsifiants chimiques par les consommateurs pousse la recherche vers des ingrédients fonctionnels le plus naturel possible où l'emploi de protéines s'avère donc être une alternative intéressante.

Le travail que nous avons effectué consiste à l'étude du pouvoir émulsifiant du sérum albumine bovine (SAB) comparé à celui du Tween 80.

Les résultats ont montré que les composantes des émulsions préparées à savoir : de l'eau distillée et d'huile d'olive vierge ont présenté des paramètres physiques et chimiques (pH, acidité, viscosité, densité) comparables aux travaux antérieurs.

Sur le plan fonctionnel ; les émulsions préparées à base du sérum albumine bovine (SAB) ont manifesté par des propriétés microscopiques (le diamètre moyen des globules gras, la surface interfaciale et le nombre moyen des globules gras) et macroscopiques (indice de crémage) compétitives à celles formées à base de Tween 80.

A titre d'exemple, les meilleures sont celles formées à base de 0.25% et 1% du Sérum Albumine Bovine (SAB) avec ou sans stabilisant.

En perspective, nous proposons une étude complémentaire portant sur l'évaluation du pouvoir émulsifiant du sérum albumine bovine (SAB) comparé avec d'autres agents de surface de synthèse (lécithine, Tween 20...etc.).

Annexes

Annexe 1 : Diamètre moyen des globules gras des émulsions à base du SAB.

| Emulsions \ Temps(h) | 0 | 24 | 48 | 72 |
|------------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| H/E/CS (1%)/EM (0%) | 0,22 | 0,23 | 0,28 | 1,67 |
| H/E/CS (0,75%)/EM (0,25%) | 0,82 | 0,86 | 1 | 1,5 |
| H/E/CS (0,5%)/EM (0,5%) | 0,7 | 0,85 | 0,87 | 1,45 |
| H/E/CS (0,25%)/EM (0,75%) | 0,54 | 0,76 | 0,87 | 1,82 |
| H/E/CS (0%)/EM (1%) | 0,45 | 0,46 | 0,82 | 1,39 |

Annexe 2 : Diamètre moyen des globules gras des émulsions à base du Tween 80.

| Emulsions \ Temps(h) | 0 | 24 | 48 | 72 |
|------------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| H/E/CS (1%)/EM (0%) | 0,22 | 0,23 | 0,28 | 0,67 |
| H/E/CS (0,75%)/EM (0,25%) | 0,23 | 0,24 | 0,36 | 1,43 |
| H/E/CS (0,5%)/EM (0,5%) | 0,8 | 0,91 | 1,02 | 1,41 |
| H/E/CS (0,25%)/EM (0,75%) | 0,33 | 0,36 | 0,47 | 1,23 |
| H/E/CS (0%)/EM (1%) | 0,15 | 0,19 | 0,59 | 1,14 |

Annexe 3 : Nombre moyen des globules gras des émulsions à base du SAB.

| Emulsions \ Temps(h) | 0 | 24 | 48 | 72 |
|------------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| H/E/CS (1%)/EM (0%) | 456,33 | 328,21 | 294,33 | 103,83 |
| H/E/CS (0,75%)/EM (0,25%) | 211,73 | 148,1 | 62,61 | 49,2 |
| H/E/CS (0,5%)/EM(0,5) | 126,41 | 55,07 | 54,17 | 40,63 |
| H/E/CS (0,25%)/EM (0,75%) | 161,62 | 99,65 | 77,65 | 40,63 |
| H/E/CS (0%)/EM (1%) | 110,15 | 110,15 | 110,15 | 103,38 |

Annexe 4 : Nombre moyen des globules gras des émulsions à base du Tween 80.

| Emulsions \ Temps(h) | 0 | 24 | 48 | 72 |
|------------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| H/E/CS (1%)/EM (0%) | 473,1 | 368,21 | 294,3 | 103,83 |
| H/E/CS (0,75%)/EM (0,25%) | 476,2 | 339,5 | 209,25 | 35,21 |
| H/E/CS (0,5%)/EM (0,5%) | 125 | 106,99 | 97,51 | 81,71 |
| H/E/CS (0,25%)/EM (0,75%) | 487,2 | 384,64 | 196,61 | 30,06 |
| H/E/CS (0%)/EM (1%) | 755,3 | 689,39 | 579,06 | 280,46 |

Annexe 5 : Indice de crémage des émulsions à base du SAB.

| Emulsions \ Temps(h) | 24 | 48 | 72 |
|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| H/E/CS (1%)/EM (0%) | 3 | 3 | 3 |
| H/E/CS (0,75%)/EM (0,25%) | 3 | 2 | 2 |
| H/E/CS (0,5%)/EM (0,5%) | 2 | 2 | 2 |
| H/E/CS (0,25%)/EM (0,75%) | 1 | 1 | 5 |
| H/E/CS (0%)/EM (1%) | 4 | 3 | 2 |

Annexe 6 : Indice de crémage des émulsions à base du Tween 80.

| Emulsions \ Temps(h) | 24 | 48 | 72 |
|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| H/E/CS (1%)/EM (0%) | 10 | 2 | 2 |
| H/E/CS (0,75%)/EM (0,25%) | 13 | 13 | 6 |
| H/E/CS (0,5%)/EM (0,5%) | 9 | 9 | 9 |
| H/E/CS (0,25%)/EM (0,75%) | 20 | 26 | 29 |
| H/E/CS (0%)/EM (1%) | 6 | 6 | 2 |

Annexe 7 : Surface interfaciale des émulsions à base du SAB.

| Emulsions \ Temps(h) | 0 | 24 | 48 | 72 |
|------------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| H/E/CS (1%)/EM (0%) | 11,12 | 10,43 | 8,57 | 3,58 |
| H/E/CS (0,75%)/EM (0,25%) | 10,1 | 2,79 | 2,4 | 1,6 |
| H/E/CS (0,5%)/EM (0,5%) | 3,1 | 2,82 | 2,75 | 1,65 |
| H/E/CS (0,25%)/EM (0,75%) | 7,12 | 3,15 | 2,75 | 1,31 |
| H/E/CS (0%)/EM (1%) | 12,99 | 5,33 | 2,92 | 1,72 |

Annexe 8 : Surface interfaciale des émulsions à base du Tween 80.

| Emulsions \ Temps(h) | 0 | 24 | 48 | 72 |
|------------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| H/E/CS (1%)/EM (0%) | 11,12 | 10,43 | 8,57 | 3,58 |
| H/E/CS (0,75%)/EM (0,25%) | 10,1 | 10 | 8,27 | 1,67 |
| H/E/CS (0,5%)/EM (0,5%) | 3,1 | 2,63 | 2,35 | 1,7 |
| H/E/CS (0,25%)/EM (0,75%) | 7,12 | 6,66 | 5,1 | 1,95 |
| H/E/CS (0%)/EM (1%) | 12,99 | 12,63 | 4,04 | 2,1 |

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

- **AFNOR., 1984.** Méthode d'analyse des corps gras graines oléagineuses ,produits pris .alimentaire de la production agricol.Masson,Paris, p :367.
- **ANFINSEN J. T., EDSALL., RICHARDS F.,1985.**Ed. Academic Press, New York.
- **ANTON N, VANDAMME T. F., 2011.** Nano-emulsions and Micro-emulsions: Clarifications of the Critical Differences. *Pharmaceutical Research* 28, pp : 978-985.
- **BEAULIEU L., 1997.** Isolement et caractérisation de la membrane des globules gras dans une formulation lactée pour nourrissons. Mémoire Université Laval. Québec.Canada.
- **BECHER P., 1977.** *Emulsions theory and practice.* (R. E. Krieger) .
- **BENABID H., 2009.** Caractérisation de l'huile d'olive algérienne Apports des méthodes chimométrique,Université Montouri de Costantine,INATAA ,p : 240.
- **BERILLANT J., 1989.** phénomène d'interface agent de surface principes et modes d'actions ; Edit technip, Paris .
- **BROWN J.R., 1976.** "Structural origins of mammalian albumin". Federation Proceedings, Vol. 35, pp: 2141-2144.
- **BROWN.J.R., 1975.** "Structure of Bovine Serum Albumin". Federation Proceedings, Vol. 34, p:591.
- **CARTER D.C., HO J.X., 1994.,**"Structure of serum albumin". In Advance in Protein chem., V. N. Schumaker, Ed. Academic Press, New York, Vol. 45, pp: 153 – 203.
- **CARTER D.C., HE X.M., MUNSON S.H., TWIGG P.D., GERNERT K.M., BROOM M.B., MILLERT Y. 1989.** "Three-dimensional structure of human serum albumin". Science, Vol. 244, pp: 1195-1198.
- **CAYOT P.,LORIENT D., 1998.** Propriétés émulsifiantes. In: *Structures et technofonctions des protéines du lait.* Lavoisier, Tec et Doc, Paris , pp : 288-291.
- **CHAFTTEL JC., CUQ JL ., LORIENT. D ., 1985 .** protéines alimentaires, biochimie, propriétés fonctionnelles, valeur nutritionnelle, modifications chimique,

éditions Tec et Doc, p : ,308p.,FRENTZ .JC ,ZERT .P,L'encyclopédie de la charcuterie,3em éditions, éditions Susanna,1990 , p : 845.

- **CHRISTINE DUCHESNE., 2002.** Caractéristiques et usages des émulsions bitumineuses liant d'accrochage Vol. 7, no 12.
- **CODEX ALIMENTARIUS., 1989.** Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981 (Rév. 1-1989).
- **CROSS A .D., 1968 .**Manuel d'analyse des corps gras. AZOULAY, Paris , p : 519.
- **Dickinson E., 1998.** Proteins' at interfaces and emulsion's, stability, reology and interaction j. chemsuc, FRADAY Trams, vol 94 university of Leeds, Lndon pp:1657-1669.
- **DICKSON E .,1996 ..**Les colloïdes alimentaires .Ed Masson ,Paris, p216.
- **EBERHARD T,ROBERT A. , ANNELISE L., 2005 :** plantes aromatiques .Ed : Tec et Doc ,lavoisier, Paris, p :522 .
- **FLESINSKI LIONEL., 2011 .** Etude de la stabilité des émulsions et de la rhéologie interfaciale des systèmes pétrole Brut / Eau :Influence des aAsphaltènes des Acides Naphténiques.
- **GENOT C. , 2010 .** Metabolic impact of lipid structure and oxidation in foods.Innovation Agronomomique.10 ,pp :43-67
- **GEOFFREY C.P., 2011.**Food Science and Technology.Ed.John Wiley and Sons,
- **HARDY J., 1987 .**Le lait matière première de l'industrie laitier. INRA, Paris.pp :27-29.
- **HUANG B.X ;KIM.H Y et DASS C 2004 .** « Probing Three-Dimensional Structure of Bovine Serum Albomin by chemical Cross –Linking and Mass Spectrometry », Journal of American Society for Mass Spectrometry ,15 ,(2004) ,pp :1237-1247.
- **JEANTET R., CROGUENNEC T., SCHUK P.,BRULE G., 2006 .** sciences des aliments ,Vol 2 ; technologie des produits alimentaires,lavoisier,Paris, pp: 305-308.
- **KARLESKIND A., 1992.** Manuel des corps gras (vol 2).Tec et Doc, Lavoisier,
- **LAM R. S. H., NICKERSO M. T., 2013.** Food Proteins: A Review on their Emulsifying Properties Using a Structure-function Approach. Food Chemistry , pp :975-984.
- **LINDEN G ., LORIENT D., 1994.** Biochimie agro-industrielle :Valorisation.

- **LORIENT D., CLOSS B.,COURTHAUDON J-L.,2006 .** Connaissance nouvelles sur les propriétés fonctionnelles des protéines du lait et des dérivés .ELSEVIER,INRA , Paris ,revue lait,Vol 71, pp :141-171.
- **LORIENTD., CLOSS B., COURTHAUDON J-L., 1991.** Connaissance nouvelles sur les propriétés fonctionnelles des protéines du lait et des dérivés. ELSEVIER,INRA, Paris ,revue lait ,Vol 71,pp :141-171.
- **MAJOREK .,2012.** Struvture macromolécule albumine bovine (SAB) .biochimie .unv –angres.France ,p 02.
- **MANGINO M.E., (1994)** .Protein Interactions in Emulsions .Protein-Lipid Interactions, in : HETTIARACHCHY N.S. ET ZIEGLER G.R. (eds) - Protein Functionality in Food.
- **MASON T. G., WILKING J. N., MELESON K., CHANG C. B., GRAVES S. M., 2006.** Nanoemulsions: Formation, Structure, and Physical Properties. Journal of Physics: Condensed Matter (18).
- **MATHIEU J,1998 .** Initiation à la physico-chimie du lait. ED, Lavoisier, Tec et Doc, p : 212.
- **MCARDLE W-D .,Catch F-I ., Katch V-I,2004** .Nutrision & performances sportives,Ed : De Boeck Bruxelles.Belgique,p :686.
- **McClements Dj., 2007.** Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability.Crit .Rev .Food Sci .Nutr.47, pp:611-649.
- **MIN HE.X et CARTER D.C.,1992.** "Atomic structure and chemistry of human serum albumin". Nature, Vol. 358, pp. 209-215.
- **NOVALES B., PAPINEAU P., SIRE A., AXELOS M.A.V., 2003.** Characterization of emulsions and suspensions by video image analysis, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng.
- **PAOUOT M ., 2003 .** Nanostructures et fonctionnalités des tensioactifs naturels.paris, P :30-32. Paris. P :1579.
- **PEREZ-GAGO M., KROCHTA J.M, 2002.**Formation and proprieties of whey proteins films and coatings. In Protein-based Films and Coatings, p. 650. Edited by A.Gennadios. USA: CRC Press.
- **PETERS T., "Serum albumin". Jr.** In Advances in Protein Chemistry, Vol. 37, pp: 161-245.
- **PETERS T., 1995.** "All about albumin: biochemistry, genetics and medical applications". Academic Press, SanDiego, pp. 1-432.

- **REGNAULT J., 1992.** Agression et défense du corps humain, Décarie et Vigot, québec, Paris, P : 449.
- **SEAN A., HOGAN BRIEN F., MC NAMMEE E., O'RIORDAN D., O'SULLIVAN M., 2004.** Stabilization of emulsions by protein extracts. *J. Agric. Food Chem.*, pp:52.
- **SIMARD J.R, ZUNSZAIN P.A., HAMILTON J.A., CURRY.S., 2006.** "Location of high and low affinity fatty acid binding sites on human serum albumin revealed by NMR drug-competition analysis". Vol. 361, pp:336-351.
- **SUGIO S, KASHIMA A, MOCHIZUKI S, NODA.M., KOBAYASHI.K., 1999.** "Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution". *Protein engineering*, Vol. 12, pp: 439-446. Systems, Marcel Dekker inc., New York, pp : 147- 179.
- **TADROS T. F., 2013.** *Emulsion Formation and Stability*. (John Wiley, Sons).
- **TANG ., SHEN D., 2013.** Biochemical and structural analysis of the IgE binding sites on Ara h 1, an abundant and highly allergenic peanut protein. *Journal. Biol. Chem.*, 273, PP : 3753-3759.
- **TAYLOR P., 1998.** Ostwald ripening in emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* 75, 107–163. *Technology*, pp: 347-354.
- **TOURAIN F., DRAPRON R., 1987.** Activité de lipase de *Rhizopus arrhizus* en milieu eau-glycérol et eau-glycol. *Science des aliments*, N°7, pp : 411- 431 USA, p : 520.
- **UZZAN A., DELFLY P 1996.** utilisation des protéines végétales dans les industries alimentaire et diététique in **GODON .B.** protéines végétales. Edit Tec et Doc, LAVOISIER, Paris, pp : 612-636.

Résumé

La composition d'une émulsion est importante pour sa stabilisation et son utilisation dans différents domaines, notre étude s'est concentrée sur l'évaluation des propriétés émulsifiantes du sérum albumine bovine (SAB) ; notre travail expérimental a comporté d'une part sur l'étude des paramètres physiques et chimiques des phases des émulsions (d'huile d'olive vierge et de l'eau distillée) et d'autre part sur l'analyse du pouvoir émulsifiant du sérum albumine bovine (SAB), les résultats ont montré que les meilleures émulsions sont celles formulées à base de 1% et 0.25% du SAB par rapport à celles préparées à base de Tween 80 avec ses différentes doses et ce avec et sans stabilisant.

Mot clés : Tween 80, sérum albumine bovine, émulsion, dose, huile d'olive vierge.

Abstract

The composition of an emulsion is important for its stabilization and its use in different fields, our study focused on the evaluation of the emulsifying properties of the bovine albumin serum (BSA), our experimental work consisted on one hand on the study of the physical and chemical parameters of the phases of the emulsions (of virgin olive oil and the distilled water) and on the other hand on the analysis of the emulsifying power of the bovine albumin serum (BSA), the results showed that the best emulsions are those formulated based on 1% and 0.25% of BSA compared to those prepared based on Tween 80 with its different doses and with and without stabilizers.

Keywords: Tween 80, bovine albumin serum, emulsion, dose, virgin olive oil

ملخص

إن تكوين المستحلب مهم من أجل استقراره واستخدامه في مجالات مختلفة, فقد ركزت دراستنا على تقييم خصائص الاستحلاب في مصّل الألبومين البقري, شمل عملنا التجريبي من جهة على دراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية لمركبات المستحلبات (من زيت الزيتون البكر والماء المقطر) ومن ناحية أخرى على تحليل قوة استحلاب مصّل الألبومين البقري, أظهرت النتائج أن أفضل المستحلبات هي تلك المشكلة من 1% و 0.25% من مصّل الألبومين البقري بالمقارنة مع تلك المحضرة من مختلف جرعات Tween 80 وهذا في حضور أو غياب المثبت

الكلمات الجوهرية : Tween 80 , مصّل الألبومين البقري, مستحلب, جرعة, زيت الزيتون البكر.