Aix*Marseille université
Socialement engagée

NNT : 0000AIXM0000

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue à Aix-Marseille Université
le 14 mai 2024 par

Dany TELES DE SOUZA

Méthodologie d'optimisation de la formulation des systèmes «Émulsions très concentrées» eau dans huile pour des applications industrielles

Discipline
Biologie Santé

Spécialité

Biochimie structurale

École doctorale

ED 62 – Sciences de la vie et de la sante

Laboratoire/Partenaires de recherche
Laboratoire de Pharmacie Galénique
Biopharmacie et cosmétologie
IMBE, IRD, CNRS, Aix-Marseille Université,
Avignon Université, équipe SANTES

Composition du jury

Anne-Sylvie FABIANO-TIXIER *Avignon Université*	Rapporteuse
Pierre LANTERI *Université Claude Bernard-Lyon 1*	Rapporteur
François DEVRED *Aix – Marseille Université*	Président du jury
Philippe PICCERELLE *Aix – Marseille Université*	Directeur de thèse
Magalie CLAEYS-BRUNO *Aix – Marseille Université*	Membre invitée

cnrs

IRD Institut de Recherche pour le Développement FRANCE

imbe Institut méditerranéen de biodiversité et d'écologie - marine et continentale -

Affidavit

Je soussignée, Dany TELES DE SOUZA déclare par la présente que le travail présenté dans ce manuscrit est mon propre travail, réalisé sous la direction scientifique du Pr PICCERELLE, dans le respect des principes d'honnêteté, d'intégrité et de responsabilité inhérents à la mission de recherche. Les travaux de recherche et la rédaction de ce manuscrit ont été réalisés dans le respect à la fois de la charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et de la charte d'Aix-Marseille Université relative à la lutte contre le plagiat.

Ce travail n'a pas été précédemment soumis en France ou à l'étranger dans une version identique ou similaire à un organisme examinateur.

Fait à Marseille, le 14 mai 2024



Cette œuvre est mise à disposition selon les termes de la Licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International.

Liste de publications et/ou brevets et participation aux conférences

1) Liste des publications et/ou brevet réalisées dans le cadre du projet de thèse :

1. Article 1: "*Optimization of highly concentrated water in oil emulsions by experimental design"*. Journal : International Journal of Cosmetic Science
   Auteurs: D.T. Souza, M. Cassayre, M. Claeys-Bruno, A. Oline, C. Sauzet and P. Piccerelle
2. Article 2: "*Optimization of highly concentrated preservative-free emulsions with various textures through design of experiments*". Journal : International Journal of Cosmetic Science. Auteurs: D.T. Souza, M. Cassayre, M. Claeys-Bruno, G. Breuzard, A. Oline, C. Sauzet and P. Piccerelle

Résumé

Le travail de cette thèse expose l'étude physico-chimique et l'optimisation de formules dispersées particulières, à savoir les Emulsions Très Concentrées (ETC) Eau dans Huile (E/H). Ces formulations se distinguent par la présence d'une grande quantité de phase dispersée qui représente plus de 74% de leur composition. De ce fait, il est possible d'intégrer une grande quantité d'actifs, solubilisés dans cette phase aqueuse interne, les rendant ainsi plus biodisponibles.

Cependant, le principal verrou à lever est la technique même de formulation ainsi que le conditionnement : la phase aqueuse étant largement plus importante en volume, les gouttelettes prennent une configuration de type hexagonal, ce qui engendre généralement des formules instables. Par conséquent, le travail proposé consiste à améliorer et optimiser ce type d'émulsions pour des formulations à textures innovantes, en trouvant les paramètres adéquats pour une stabilité optimale au moyen de plans d'expériences ainsi que de l'analyse de composant principal.

Lors de la première réalisation expérimentale, une attention particulière est portée sur le choix des ingrédients et le procédé de fabrication. Des matrices d'expériences ont été établie afin d'étudier simultanément l'influence ***(i) de la nature des composés dans la formulation (tensio-actifs, huile utilisée, polymères, électrolytes), et (ii) des paramètres physico-chimiques lors de la fabrication (débit d'incorporation, vitesse d'agitation, type de mobile)***. À la suite de cette étude, nous avons identifié les paramètres physico-chimiques qui impactent la stabilité de ce type d'émulsion. À la lumière de ces résultats, un second plan d'expérience a été entrepris, intégrant les paramètres physico-chimiques influant sur la stabilité, afin d'explorer les diverses textures possibles et d'évaluer leur stabilité microbiologique, tout en confirmant la stabilité physico-chimique de ces émulsions.

En conclusion, une approche industrielle a été entreprise en incorporant des agents actifs tels que la L-carnosine, la L-carnitine et leurs combinaisons pour étudier leur effets anti-âge dans les ETC optimisées.

Mots clés : émulsions très concentrées, physico-chimie, stabilité, texture, plan d'expérience et analyse de composant principal.

Abstract

This thesis deals with the physicochemical study and optimization of special dispersed formulations, namely Water-in-Oil (W/O) High internal phase emulsions (HIPE). These formulations are characterized by the presence of a large amount of dispersed phase, representing over 74% of their composition. This makes it possible to incorporate large quantities of active ingredients, solubilized in this internal aqueous phase, making them more bioavailable.

However, the main obstacle to overcome is the formulation technique itself, as well as the packaging: as the aqueous phase is much larger in volume, the droplets take on a hexagonal configuration, which generally results in unstable formulations. Consequently, the proposed work consists in improving and optimizing this type of emulsion for formulations with innovative textures, by finding the right parameters for optimum stability by means of experimental design and principal component analysis.

During the first experimental phase, particular attention was paid to the choice of ingredients and the manufacturing process. Experimental matrices were established to study simultaneously the influence of ***(i) the nature of the compounds in the formulation (surfactants, oil used, polymers, electrolytes), and (ii) the physico-chemical parameters during manufacture (incorporation rate, stirring speed, type of mobile).*** Following this study, we identified the physico-chemical parameters that impact the stability of this type of emulsion. In the light of these results, a second experimental design was undertaken, integrating the physico-chemical parameters influencing stability, in order to explore the various possible textures and assess their microbiological stability, while confirming the physico-chemical stability of these emulsions.

In conclusion, an industrial approach was undertaken by incorporating active agents such as L-carnosine, L-carnitine and their combinations to study their anti-ageing effects in optimized ETCs.

Keywords: Highly Concentrated Emulsions, physico-chemistry, stability, texture, experimental design, and principal component analysis.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers mon directeur de thèse, Professeur Philippe Piccerelle, pour m'avoir accueillie chaleureusement au sein de son laboratoire dès le Master, et pour avoir eu confiance en moi en acceptant de superviser ce travail doctoral. Sa générosité humaine, son écoute attentive et ses conseils avisés ont été d'une aide précieuse tout au long de ce parcours.

Je souhaite également remercier l'entreprise Capital Joëlle Ciocco Paris pour son soutien financier, ainsi que mes collègues et amies, Mesdames Michelle Dorchies, Marion Choteau et Mélanine Cruz de Oliveira. Avec vous, j'ai partagé des moments d'apprentissage importants au fil des années.

De sincères remerciements à toute l'équipe de mon laboratoire d'accueil de Marseille, notamment à Madame Caroline Orneto pour son assistance technique et son soutien constant, ainsi qu'à Florence Chavre, Marie-Pierre Savelli, Morgane Le Gall, Maxime Robin, Hervé Zamboni et Raphael Coatmeur pour leur aide précieuse et l'ambiance conviviale qu'ils ont contribué à créer.

Je suis profondément reconnaissante envers Monsieur Christophe Sauzet pour son accompagnement constant, son encadrement attentif et sa bienveillance. Sa compétence scientifique, sa disponibilité et sa capacité à résoudre les problèmes ont été importants tout au long de ce parcours, et je lui suis particulièrement reconnaissante de toujours avoir cru en mon travail.

Je souhaite exprimer ma gratitude envers tous les intervenants extérieurs qui ont contribué au succès de mes recherches par leur intérêt et leur investissement, en particulier à Madame Magalie Claeys-Bruno pour sa compétence scientifique et son soutien empathique, ainsi qu'à Monsieur Gilles Breuzard pour sa disponibilité et son assistance précieuse. Je profite pour remercier l'ensemble des membres de mon jury de thèse, Madame Anne-Sylvie Fabiano, Messieurs Pierre Lanteri, Michel Prost et François Devred, pour avoir accepté de participer à cette étape importante de mon parcours académique.

Enfin, je souhaite remercier mes proches…

Être éloignée de ma famille a représenté mon plus grand défi... Mais la vie a été bienveillante en mettant sur mon chemin quelques "anges" que je considère comme amis. Chacune d'entre vous a contribué à la réalisation de ce projet à sa manière. Un immense merci à : Faustine, Margot et Axel pour m'avoir non seulement offert un soutien moral, mais également des solutions pratiques, sans oublier les nombreux moments de rire et de complicité que nous avons partagé ensemble. J'adresse également des remerciements chaleureux à Auriane et Jeff pour m'avoir accueillie chez eux lors de mes séjours à Marseille, ainsi que pour leur précieux conseils et leur bienveillance. Grâce à vous tous, la thèse a été plus légère et agréable.

En exprimant la générosité de la vie à mon égard, j'ai reçu non seulement « L'Amour », mais aussi une deuxième famille. Une famille qui m'a acceptée comme je suis et m'a offert encouragements et beaucoup de tendresse. Merci à mon chéri d'être là, de croire en moi et de me donner tout le soutien et l'amour dont j'avais besoin. Sans toi, rien de tout cela ne serait possible. Je t'aime !

Enfin, je tiens à exprimer de tout mon cœur ma gratitude envers ma Famille. Mon parcours n'a jamais été linéaire. Toujours rêveuse et têtue, je leur ai donné du fil à retordre. Venir vivre en France pour une Brésilienne amoureuse du pays paraissait une folie et pourtant, nous voilà aujourd'hui. La rêveuse a vu l'un de ses rêves se réaliser, et je tiens à vous dire que tout cela est grâce à vous. Vous n'avez jamais freiné mon envol, bien au contraire, vous m'avez aidé à déployer mes ailes. Même dans les moments difficiles où ma santé mentale a été mise à l'épreuve, sans emploi ni revenu, vous m'avez dit : "Ma fille, les temps sont durs en ce moment, rentre à la maison, tu seras mieux." Malgré les défis, j'ai choisi de ne pas abandonner et de persévérer ! Aujourd'hui, nous en sommes là. Vous avez su me donner la force et la foi nécessaire pour surmonter les défis et l'humilité pour m'adapter à toutes les situations. Merci du fond du cœur à ma Maman, mon Papa, mon grand frère, ma petite sœur adorée et ma marraine, pour tout l'amour et la force que vous m'avez donnée. Je vous aime de toutes mes forces, vous êtes ma plus grande inspiration !

Cette thèse parle de l'apprentissage scientifique, mais surtout, elle reflète un voyage de croissance personnelle et de vie.

Merci à Dieu et merci à mes anges de lumière !

Table des matières

Affidavit 0

Liste de publications et/ou brevets et participation aux conférences 1

Résumé 2

Abstract 3

Remerciements 4

PARTENAIRES 9

INTRODUCTION 10

PARTIE I – ETAT DE L'ART 12

1. STRUCTURE DE LA PEAU ET SON VIEILLISSEMENT 13

1.1. Structure de la peau 13

1.2. Vieillissement de la peau 14
1.2.1. Vieillissement intrinsèque 15
1.2.2. Vieillissement extrinsèque 16

1.3. Mécanismes du vieillissement cutané 17

2. ACTIFS ET MARCHÉ COSMÉTIQUES 20

2.1. Analyse du marché cosmétique 20

2.2. Capital Joëlle Ciocco Paris 20

2.3. Principaux actifs anti-âge dans l'actualité 21
2.3.1. Actifs ERO (espèces réactive à l'oxygène) 21
2.3.2. Actifs sur l'activité cellulaire de l'épiderme et du derme 24
2.3.3. Actifs sur l'équilibre du tissu cutané 25

2.4. Choix de la L-carnitine et de la L-carnosine 30
2.4.1. L-carnosine 31
2.4.2. L-carnitine 38
2.4.3. L-carnosine + L-carnitine 44

2.5. Cosmétiques avec les actifs CAS et CAT 46
2.5.1. L-carnosine 46
2.5.2. L-carnitine 49

2.6. Conclusion des actifs 52

3. GENERALITÉS SUR LES EMULSIONS 54

3.1. Taille des gouttelettes 54

3.2. Sens de l'émulsion 55

3.3. Volume de la phase dispersée 56

4. ÉMULSIONS TRÈS CONCENTRÉES - EAU DANS HUILE 60

4.1. Physico-Chimie des émulsions très concentrées 60
4.1.1. Caractéristiques Microscopiques 61
4.1.2. Caractéristiques macroscopiques 67

4.2. Applications des émulsions très concentrées 80
4.2.1. Généralités 80
4.2.2. Applications des émulsions très concentrées en cosmétique 81

4.3. Synthèse bibliographique et veille concurrentielle 82

5. IMPORTANCE DE LA STABILITÉ 85
5.1. Les émulsions : un état métastable 86
5.1.2. Phénomènes d'instabilité 89
5.1.3. Des phénomènes migratoires 89
5.1.4. Des phénomènes d'augmentation de taille 89
6. IMPORTANCE DES INGRÉDIENTS ET DES PROCÉDÉS 94
6.1. Les Ingrédients 94
6.1.1. La Phase interne (eau) 94
6.1.2. Les tensioactifs 95
6.1.3. Les huiles 96
6.1.4. Les électrolytes 97
6.1.5. Les polymères 97
6.2. Les Procédés 98
6.2.1. Les rupture des gouttelettes 98
6.2.2. Les régimes d'écoulement 99
6.2.3. Les méthodes et mélangeurs classiques 103
6.2.4. Vitesse et temps de mélange 105
7. PROTOCOLE DE STABILITÉ 108
7.1. Protocole en temps réel et accélérés 111
7.2. Méthodes d'analyse 113
7.2.1. Analyses organoleptiques 113
7.2.2. Analyses chimiques 114
7.2.3. Analyses physiques 115
7.2.4. Analyses microbiologiques 118
8. IMPORTANCE DE LA TEXTURE 123
8.1. Perception physique de la texture 123
8.2. Méthodes mécaniques d'analyse de texture 125
8.2.1. Rhéologie 125
8.2.2. Texturomètre 130
8.3. Perception émotionnelle de la texture 133
9. IMPORTANCE DE LA DATA SCIENCE 138
9.1. Méthodologie de Recherche Expérimentale 139
9.2. Analyse de Composantes Principaux 142
10. CONCLUSION DE L'ETAT DE L'ART 145
PARTIE II - METHODOLOGIE D'OPTIMISATION DES ETC 146
1. TESTS DE FAISABILITÉ 150
1.1. Ingrédients 150
1.2. Procédés de formulation 154
1.3. Conclusion des essais préliminaires 156
2. ARTICLE 1 159
2.1. Résumé de l'article 1 159
2.2. Article 1: " Optimization of highly concentrated water in oil by design of experiments and principal component analysis" 169
2.3. Discussions et Conclusion de l'article 1 216
3. ARTICLE 2 223

3.1. Résumé de l'article 2 223

3.2. Article 2 : "Optimization of highly concentrated preservative-free emulsions with various textures through design of experiments" 232

3.3. Discussions et conclusion de l'article 2 281

4. APPROCHE INDUSTRIELLE 284

4.1. Objectif 284

4.2. Matériel et méthode 284

4.3. Analyses et Résultats 287

4.3.1. Analyse Organoleptique 287
4.3.2. Analyse Rhéologique 287
4.3.3. Analyse de texture 295
4.3.4. Turbiscan 298
4.3.5. Challenge Test 300

4.4. Conclusion 303

PARTIE III - CONCLUSION ET PERSPECTIVES 305

1. CONCLUSION 306

2. PERSPECTIVES DANS LA COSMÉTIQUE 307

3. PERSPECTIVES POUR UN DISPOSITIVE MÉDICAL 309

BIBLIOGRAPHIE 311

TABLE DES TABLEAUX 329

TABLE DES FIGURES 330

PARTENAIRES

Le travail de thèse s'inscrit dans une collaboration entre l'Université d'Aix-Marseille (AMU), et l'entreprise Joëlle Ciocco Paris, spécialisée en recherche-développement en cosmétologie.

L'entreprise Capital Joëlle Ciocco Paris (Directrice : Joëlle Ciocco)

L'entreprise Joëlle Ciocco Paris, établie depuis 35 ans en Île-de-France, compte entre 10 et 19 employés. Spécialisée dans les produits cosmétiques, elle se distingue notamment par son expertise dans les produits anti-âge.

Le Laboratoire de Pharmacie Galénique, Biopharmacie et Cosmétologie (Directeur Pr Philippe PICCERELLE, Directeur de thèse)

Ce laboratoire fait partie du Département de Bioingéniérie Pharmaceutique de la Faculté de Pharmacie de Marseille (sphère géographique de l'Hôpital de La Timone) que P.P. dirige, et est intégré à l'unité IMBE (Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Écologie marine et continentale, AMU/CNRS-7263/IRD-237). En plus nous avons eu aussi la collaboration d'études d'optimisation de procédés (plans d'expérience, Magalie CLAEYS-BRUNO (MC)) qui sont indispensables à tout développement industriel.

INTRODUCTION

Le vieillissement de la peau, influencé à la fois par des facteurs génétiques et extrinsèques, demeure un sujet d'intérêt majeur dans le domaine de la dermocosmétique. Au-delà des processus naturels, des éléments externes tels que le stress, les rayonnements UV, la pollution et l'alimentation peuvent accélérer les signes de vieillissement cutané en altérant l'épiderme et la matrice extracellulaire. Ces altérations affectent non seulement l'apparence de la peau mais également ses mécanismes de défense, de cicatrisation et de thermorégulation.

Face à ces défis, les consommateurs sont de plus en plus attentifs à la prévention et à la correction des signes de vieillissement cutané, incitant les laboratoires dermocosmétiques à innover. Les avancées récentes, ouvrent la voie à des formulations plus performantes et à des actifs optimisés dans la quête constante d'une solution "anti-âge" efficace.

Pour prévenir ou lutter contre le vieillissement cutané, il est important de connaitre en priorité les cibles potentielles sur lesquelles vont agir les anti-âges. Le choix des actifs et du type de la galénique de la formulation (gel, émulsion classique, nano-émulsion, émulsion très concentrée), constitue une étape cruciale. En plus de cela, la stabilité et l'activité biologique globale de la préparation dépendent du choix de la composition et des paramètres de fabrication pouvant être modifiés pour des effets pharmacologiques optimisés.

Pour cette étude, c'est la galénique des Émulsions Très Concentrées (ETC) Eau dans Huile (E/H) qui a été choisie. En effet ces émulsions présentent des propriétés spécifiques en termes de texture, de viscosité et de stabilité. Mais elles sont surtout un excellent véhicule pour les actifs. Elles peuvent être source d'une hydratation intense dans les produits cosmétiques ce qui peut créer des textures surprenantes. Les propriétés dépendent de la formulation et de la méthode de préparation spécifique utilisée.

En résumé, les émulsions très concentrées E/H sont des systèmes colloïdaux polyvalents qui trouvent une utilisation étendue dans diverses industries. Leur formulation, leur stabilité et leurs propriétés dépendent étroitement de leur application spécifique et nécessitent une approche scientifique rigoureuse pour garantir leur succès.

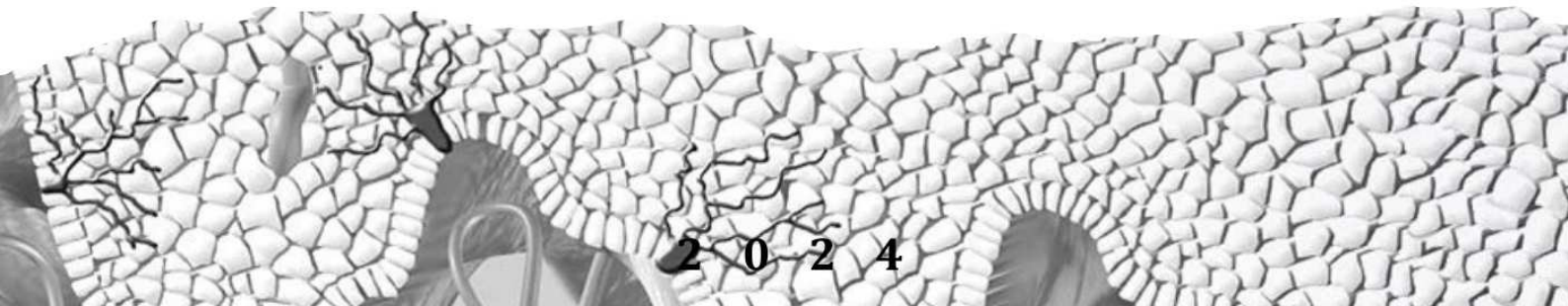
Cette étude se divise principalement en trois parties distinctes :

- ***Partie I :*** Cette section offre une vue d'ensemble des principaux thèmes abordés dans l'étude. Elle traite du vieillissement de la peau, des différents ingrédients actifs examinés, des émulsions, notamment les émulsions très concentrées (ETC), ainsi que de l'importance de la stabilité, de la texture et des méthodes de traitement des données.
- ***Partie II :*** Cette section se concentre sur la méthodologie utilisée pour les analyses, la présentation des deux articles étudiés, ainsi que leur application industrielle.
- ***Partie III :*** Cette section présente les conclusions convergées de l'étude et les perspectives.

MÉTHODOLOGIE D'OPTIMISATION DE LA FORMULATION DES SYSTÈMES "ÉMULSIONS TRÈS CONCENTRÉES" EAU DANS HUILE POUR DES APPLICATIONS INDUSTRIELLES

PARTIE I

ETAT DE L'ART



2024

1. STRUCTURE DE LA PEAU ET SON VIEILLISSEMENT

1.1. Structure de la peau

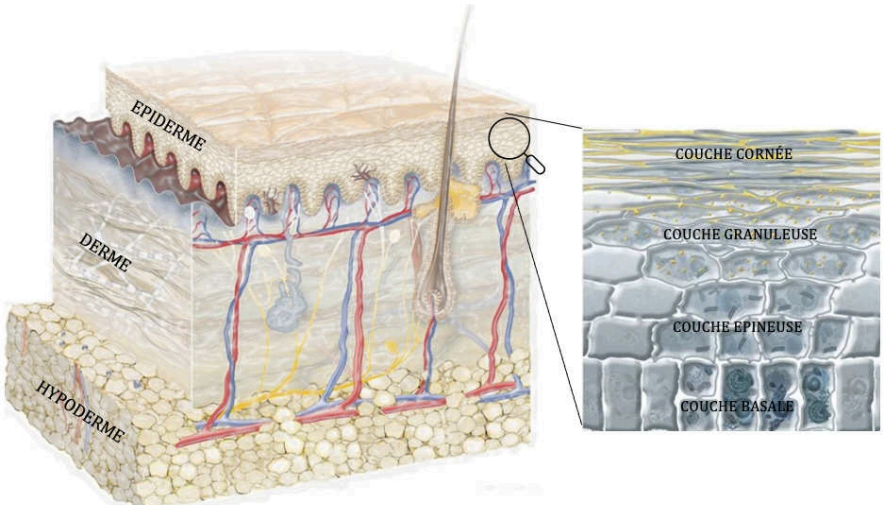


Figure 1: *Structure de la peau*

La peau a une structure que l'on peut scinder en 3 strates distinctes : l'épiderme, le derme et l'hypoderme. Chacune de ces couches jouent un rôle bien spécifique.

L'épiderme qui constitue la couche superficielle de la peau, agit comme une enveloppe externe essentielle. Il protège le corps des agressions extérieures, notamment les rayons ultraviolets (UV), et se compose de quatre sous-couches distinctes: la couche basale, la couche muqueuse, la couche granuleuse et la couche cornée. Il est constamment renouvelé grâce à la couche basale, bien qu'il ne possède pas de vaisseaux sanguins pour obtenir ses nutriments et éliminer ses déchets (c'est le derme qui par diffusion se charge d'alimenter les cellules qui le constituent). L'épiderme est principalement constitué de quatre types de cellules qui prennent naissances dans la couche basale, mais que l'on peut retrouver également dans d'autres parties de l'épiderme (Mora Huertas *et al.*, 2016) :

(i) Les kératinocytes :

Représentent la majorité des cellules de l'épiderme. Elles sont riches en kératine, qui est la principale protéine de la couche cornée. La kératine, composée d'acides aminés soufrés, joue un rôle clé dans la protection de la peau contre les agressions extérieures.

(ii) Les mélanocytes :

Sont responsables de la production de mélanine, le pigment qui donne sa couleur à la peau.

(iii) Les cellules de Langerhans :

Participent à la défense de l'organisme contre les agressions extérieures.

(iv)Les cellules de Merkel :

Semblent jouer un rôle dans la sensibilité de la peau au toucher.

Le derme qui est la seconde couche cutanée, constitue la couche la plus épaisse . Il est composé de deux parties distinctes : le derme papillaire et le derme réticulaire. Les principales cellules présentes dans le derme sont les fibroblastes, responsables de la production de fibres de collagène et d'élastine, qui confèrent à la peau sa souplesse et son élasticité. Le derme abrite également des structures spécialisées essentielles de la peau, telles que les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques et les terminaisons nerveuses. Les annexes de la peau, telles que les follicules pileux, les glandes sudoripares (qui produisent la sueur) et les glandes sébacées (qui produisent le sébum), proviennent de tissus de l'épiderme tout en résidant dans le derme (Jobeili, 2018). Tous ces composants jouent un rôle crucial dans l'hydratation, la nutrition de la peau et la protection du corps contre les agressions extérieures.

Enfin, l'hypoderme qui se trouve sous le derme, sert de lien avec les structures anatomiques sous-cutanées. Il est principalement constitué de cellules graisseuses appelées adipocytes, qui stockent de l'énergie, assurent l'isolation thermique et protègent les organes sous-jacents. L'épaisseur et la répartition de l'hypoderme dépendent de facteurs tels que l'âge, le sexe, les hormones et l'état nutritionnel de chaque individu. La ***Figure 1*** représente les trois couches principales de la structure de la peau.

1.2. Vieillissement de la peau

Le vieillissement cutané est un processus complexe influencé par des facteurs à la fois internes et externes. Le vieillissement intrinsèque représente le processus naturel et inévitable de vieillissement de la peau, entraînant des caractéristiques telles qu'une peau fine et sèche, de fines rides et une atrophie progressive du derme. En revanche, le vieillissement extrinsèque est principalement causé par des facteurs environnementaux externes, notamment la pollution de l'air, le tabagisme, une mauvaise nutrition et l'exposition au soleil. Le vieillissement extrinsèque se manifeste par des rides plus marquées, une perte d'élasticité cutanée, une laxité de la peau

et une texture rugueuse. Il est important de noter que l'exposition à long terme aux rayons ultraviolets (UV) solaires est le principal facteur de vieillissement cutané extrinsèque, communément appelé photo-vieillissement (Krutmann *et al.*, 2017)(Mora Huertas *et al.*, 2016).

1.2.1. Vieillissement intrinsèque

Le vieillissement cutané intrinsèque est un processus physiologique qui évolue naturellement avec l'âge. Dans le cas du vieillissement intrinsèque de la peau, les changements histologiques les plus significatifs se produisent au niveau de la couche basale. Des recherches ont montré qu'avec l'âge, la prolifération cellulaire dans cette couche diminue. Cela entraîne un amincissement de l'épiderme et une réduction de la surface de contact entre le derme et l'épiderme. En conséquence, l'apport nutritionnel à l'épiderme est réduit, et la capacité de prolifération des cellules basales est moins intense. Ce phénomène s'appelle la sénescence cellulaire, est correspond à la diminution de la capacité prolifératives des cellules, y compris les kératinocytes, les fibroblastes et les mélanocytes dans notre cas. Par ailleurs, des études ont montré une augmentation de l'expression du marqueur de sénescence bêta-galactosidase dans les fibroblastes dermiques et les kératinocytes épidermiques des peaux vieillissantes par rapport à celles des peaux plus jeunes (Zhang and Duan, 2018) ce qui permet de pressentir le lien entre le changement de capacité de prolifération et l'âge, donc l'état, de la peau.

De surcroît, le derme des zones de la peau intrinsèquement vieillie montre une diminution du nombre de mastocytes et de fibroblastes par rapport à la peau jeune non exposée au soleil. A cela, s'ajoute le fait que les fibres de collagène et d'élastine deviennent plus rares. La production de procollagène de type I dans la peau intrinsèquement âgée est réduite, principalement en raison de la régulation négative de la signalisation TGF-β/Smad et de son facteur de croissance du tissu conjonctif associé, qui régule l'expression du collagène (Quan *et al.*, 2010). De plus, il existe des preuves indiquant que les composants fibreux de la matrice extracellulaire, y compris l'élastine, la fibrilline et les collagènes, ainsi que les oligosaccharides, se dégradent dans la peau intrinsèquement vieillie. C'est cette dégradation qui influence la capacité de la peau à retenir l'eau. En résumé, le vieillissement intrinsèque de la peau est un processus inévitable lié à l'âge, qui se caractérise par des changements au niveau cellulaire, histologique et moléculaire(Naylor, Watson and Sherratt, 2011).

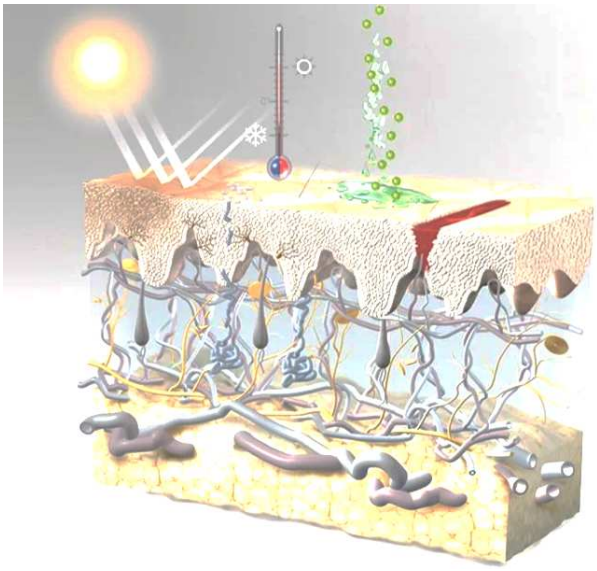


***Figure 2** : Les effets des facteurs externes sur la peau*

1.2.2. Vieillissement extrinsèque

Le vieillissement extrinsèque cutané est influencé par divers facteurs comme : la pollution, le tabac, le stress et notamment l'exposition au soleil. Les rayons UV sont responsables de la majorité du vieillissement cutané externe presque 80%, affectant principalement l'épiderme exposé (Zhang and Duan, 2018). Voir sur la ***Figure 2***.

Sous l'effet des UV, la couche cornée, la couche la plus externe de l'épiderme, s'épaissit, en partie à cause de la perturbation de la dégradation des desmosomes cornéocytaires. Les marqueurs de différenciation dans cette couche montrent des altérations, indiquant des changements dans le processus de différenciation des kératinocytes épidermiques. De plus, les cellules basales, notamment les cellules souches épidermiques, voient leur prolifération réduite, ce qui contribue au vieillissement. L'exposition aux rayons UV entraîne également une diminution de la production de collagène de type VII, qui maintient la jonction dermo-épidermique. La diminution de ce collagène contribue à la formation de rides en affaiblissant la connexion entre le derme et l'épiderme. De plus, le collagène de type I diminue en raison d'une dégradation accrue, impliquant diverses protéases telles que les métalloprotéinases matricielles (MMP) et les sérine protéases (Mora Huertas *et al.*, 2016).

Dans la peau exposée au soleil, on observe aussi une accumulation de tissu élastique anormal, appelée élastose solaire. Les rayons UV augmentent la production d'élastine, suivie d'une élastolyse, où les fibres élastiques sont clivées par des protéases, entraînant un dépôt de fibres élastiques tronquées. Diverses protéases, notamment les MMP et les sérine protéases, sont impliquées dans la dégradation de l'élastine. Enfin, le vieillissement cutané s'accompagne d'une diminution de la fonction du système microvasculaire en raison d'un dysfonctionnement endothélial, de l'expression anormale de molécules d'adhésion et d'une altération de la fonction vasodilatatrice (Zhang and Duan, 2018).

1.3. Mécanismes du vieillissement cutané

La peau, a le rôle de nous protéger contre la perte d'eau et les infections, tout en étant un élément important sur le plan cosmétique. En effet avoir une peau saine, donc une apparence saine a un impact positif sur la vie sociale et la confiance en soi. C'est pourquoi de nombreuses personnes, des femmes principalement et de plus en plus les hommes consacrent une part significative de leurs dépenses quotidiennes à des produits cosmétiques et pharmaceutiques visant à prévenir ou à atténuer les effets du vieillissement cutané. Ce besoin cosmétique croissant alimente de manière continue la recherche afin de mieux appréhender le vieillissement de la peau et ses traitements.

Pour cette raison il faut bien connaître les modèles et les mécanismes du vieillissement ainsi que leurs conséquences. Divers modèles ont été déjà proposés pour expliquer les bases moléculaires du vieillissement cutané comme : (***i) la sénescence cellulaire, (ii) les altérations de la réparation de l'ADN cellulaire, (iii) la perte des télomères, (iv) les mutations de l'ADN mitochondrial, (v) le stress oxydatif, (vi) les anomalies chromosomiques, (vii) les mutations génétiques, (viii) l'inflammation chronique, (ix) les mécanismes de glycations*** entre autres. Ci-dessous, vous trouverez une brève description de la conséquence de chaque mécanisme (Jobeili, 2018) :

(i) Sénescence cellulaire :

Cela peut contribuer au vieillissement en réduisant la capacité de renouvellement tissulaire, car les cellules cessent de se diviser. Ce qui se traduit par une peau moins ferme et résiliente.

(ii) Altérations de la réparation de l'ADN cellulaire :

Dûes à des possibles mutations cellulaires. Ces mécanismes contribuent à un vieillissement cutané accéléré et à un risque accru de cancer de la peau.

(iii) Perte des télomères :

Comme les télomères sont des structures d'ADN, à chaque division cellulaire, les télomères ont tendance à se raccourcir. Lorsque ces télomères deviennent trop courts, les cellules atteignent un état de « réplicative senescence ». Cela limite la capacité de division cellulaire et contribue au vieillissement des tissus et organes.

(iv) Mutations de l'ADN mitochondrial :

Les mutations héritées de la mère, peuvent entraîner une dysfonction mitochondriale. Cela peut perturber la production d'énergie cellulaire et en favorisant la production de radicaux libres.

(v) Stress oxydatif :

C'est le déséquilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense antioxydants. Il contribue à l'endommageant les protéines, les lipides et l'ADN cellulaire.

(vi) Anomalies chromosomiques :

Les aberrations structurelles ou numériques des chromosomes, peuvent provoquer des dysfonctionnements cellulaires et donc contribuer au processus de vieillissement.

(vii) Mutations génétiques :

L'accumulation au fil du temps peuvent altérer la fonction des gènes impliqués dans le maintien de la santé cutanée, contribuant ainsi au vieillissement prématuré.

(viii) Inflammation chronique :

Souvent associée à des maladies inflammatoires de la peau, peut accélérer le vieillissement cutané en favorisant la dégradation du collagène et en compromettant la fonction protectrice de la barrière cutanée.

(ix)Mécanismes de glycation :

La glycation est le processus par lequel les sucres réagissent avec les protéines, formant des produits finaux de glycation avancée (AGE). Ces derniers viennent altérer la structure et la fonction des protéines, telles que le collagène entre autres, et participent donc au vieillissement cutané.

Comme vu antérieurement, chacun de ces mécanismes contribuent de manière complexe et interconnectée au processus de vieillissement cutané, reflétant la diversité des facteurs qui

influent sur la santé et l'apparence de la peau au fil du temps. Connaître ces mécanismes permet de développer des stratégies préventives et des actifs spécifiques pour atténuer les effets du vieillissement cutané. La ***Figure 3*** démontre bien l'effet du vieillissement cutané sur l'épiderme et le derme. Dans une peau âgée, les fibroblastes produisent du collagène, en plus petite quantité, qui s'agrège moins bien sous forme de fibrilles. Ainsi, l'épaisseur du derme diminue, les kératinocytes alors formés sont anormaux ce qui produit une diminution de leur prolifération. Il en résulte un amincissement de l'épiderme (Daniel *et al.*, 2002).

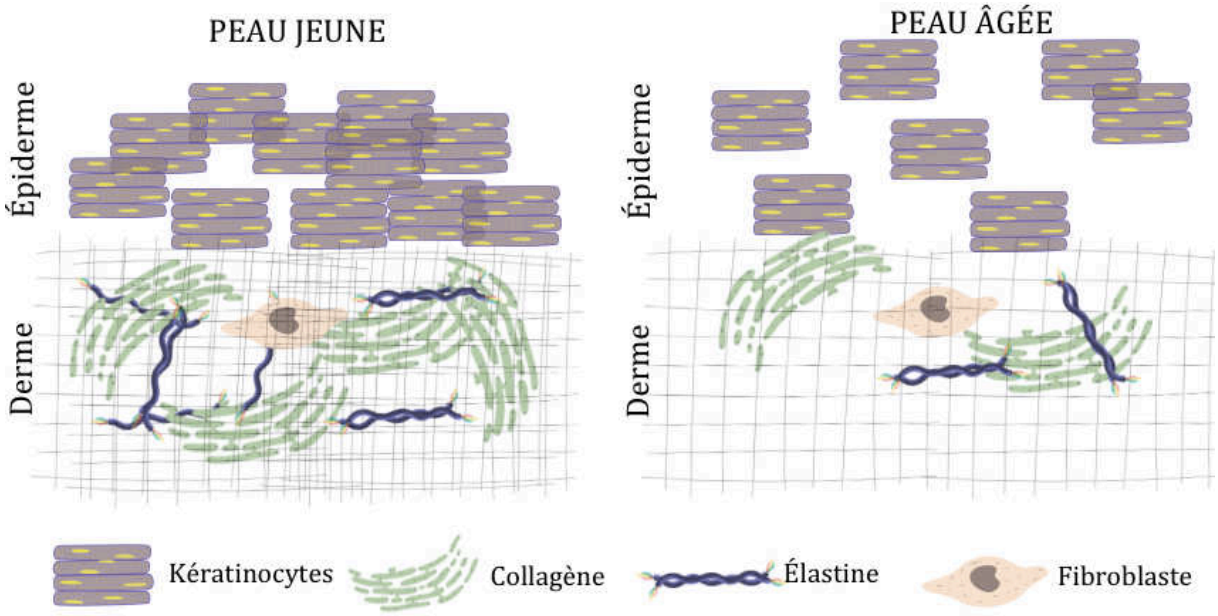


Figure 3 : *Les conséquences du vieillissement sur l'épiderme et le derme de la peau.*

Comme vu antérieurement, au fil du temps, des nombreux mécanismes et théories ont été proposées pour expliquer la causalité sous-jacente du vieillissement cutané. Toutefois, le consensus général tend à dire que des mécanismes tels que le stress oxydatif par l'action des radicaux libres, le processus d'inflammation, la sénescence cellulaire, les changements épigénétiques et l'accumulation de produits finaux de glycation (AGE) sont de manière presque irrévocable des mécanismes inhérents au vieillissement cutané.

2. ACTIFS ET MARCHÉ COSMÉTIQUES

2.1. Analyse du marché cosmétique

En 2023, le marché mondial de la cosmétique est estimé à plus de 250 milliards de dollars avec une augmentation de 6% par rapport à 2022. L'Europe représente 22% de ce marché. Actuellement, l'Oréal, Unilever, Estée Lauder et Shiseido maintiennent leurs positions de leader. En termes de catégorie, le marché se décompose en produits de beauté et soins (41%), capillaires (22%), de maquillage (16%), de parfums (11%) et d'hygiène (10%), (Premium Beauty News, 2023). C'est un secteur phare de l'économie française. Depuis de nombreuses années, la France est le premier pays exportateur mondial de produits cosmétiques.

Il est important de noter que le terme "anti-âge" englobe des propriétés telles que la réduction des rides, le raffermissement, l'hydratation, l'amélioration de l'élasticité, l'élimination des taches et la protection solaire (antioxydants). Ces propriétés visent à obtenir une peau d'apparence plus homogène et lisse. À la suite d'une enquête sur l'utilisation de produits anti-âge, il a été constaté que les demandes les plus fréquentes sont la réduction des rides, suivie du raffermissement de la peau (L'Oréal Rapport Annuel | Marché de la beauté, 2023).

Au sein des produits de beauté et soins, le marché des crèmes anti-âge est un marché porteur en pleine expansion. En effet, les soins de la peau représentent la première niche des ventes, et sont celles qui évoluent le plus rapidement. De 3 € (crème jour *cien* Q10- 50ml) à plus de 400 € (La mer Genaissance- 15ml), tous les prix et les choix de crèmes sont proposés afin de couvrir au mieux les attentes des consommateurs.

2.2. Capital Joëlle Ciocco Paris

Parmi les nombreuses marques de cosmétique, Joëlle Ciocco Paris, une petite entreprise familiale, occupe une place distincte en tant que marque de luxe bénéficiant d'une expérience de plus de 30 ans dans le domaine de la cosmétique. Elle évolue sur un marché international et concurrentiel aux côtés de marques renommées telles que La Mer, Biologique Recherche et La Prairie. Sa clientèle cible, internationale, se situe généralement dans la tranche d'âge de 40 à 80 ans, majoritairement intéressée par des produits anti-âge visant à réduire les rides, à améliorer l'élasticité de la peau et à optimiser l'hydratation. C'est pourquoi cette étude se concentre sur

la méthodologie d'optimisation pour la création d'un produit cosmétique efficace, doté de propriétés anti-âge et facilement adaptable à une production industrielle.

2.3. Principaux actifs anti-âge dans l'actualité

Plusieurs stratégies sont envisagées pour lutter contre le vieillissement cutané dans l'actualité. Il existe d'une part des cosmétiques répondant à un point spécifique comme la sécheresse cutané et d'autre part de soins plus complets répondants au phénomène global avec une activité préventive et traitante. L'objectif des actifs anti-âge n'est pas d'éviter complètement le phénomène du vieillissement mais d'atténuer les signes et de vivre d'une façon plus seine. Ci-dessous vous allez trouver les principales familles d'actif anti-âge comme : **Les actifs ERO (espèce réactive à l'oxygène) ; les actifs sur les activités cellulaires de l'épiderme et du derme et les actifs sur l'équilibre cutanée**.

2.3.1. Actifs ERO (espèces réactive à l'oxygène)

(a) Antioxydants et piégeurs des ERO

Les molécules les plus utilisées sont celles déjà présentes dans la peau dont la concentration se trouvera augmentée par l'application du produit cosmétique comme la vitamine C et la vitamine E. ***La vitamine C*** est connue aussi comme acide l-ascorbique. L'acide ascorbique est constitué d'esters hydrosolubles qui se présentent en forme de poudre blanche. Ils sont solubles dans l'eau, dans l'alcool et dans les polyols. L'acide l-ascorbique est un réducteur très puissant utilisé majoritairement comme antioxydant dans nombreux secteurs de l'industrie. Il est important de savoir qu'il est stable sur sa forme réduite (anhydre), à l'abri de la lumière et de l'humidité. En revanche, en solution aqueuse la vitamine C est sensible à la lumière et l'oxygène. Cette oxydation fait augmenter le pH et la température (Connors, Amidon and Kennon, 1979)

Les voies de pénétration cutanée de la vitamine C ne sont pas très connues. Des études utilisant les cellules de Franks ont démontré que la vitamine C et ses esters sont aussi bien hydrosolubles que liposolubles et sont absorbés par la peau. En revanche les acides liposolubles sont mieux absorbés sous forme liposoluble (Tokgoz, 1996).

Dans le domaine de la cosmétique, les activités principales des actifs comprennent l'activité anti-radicalaire, la stimulation de la synthèse du collagène et l'action dépigmentante. Selon une étude de Rentier, pour obtenir une efficacité antioxydante optimale, il est recommandé d'utiliser une concentration d'acide ascorbique et d'esters hydrosolubles comprise entre 0,5%

et 3%. En revanche, pour les esters liposolubles, une concentration idéale se situe entre 0,1% et 0,5%. Ces informations sont cruciales pour formuler des produits efficaces, notamment dans le cadre d'activités telles que la dépigmentation, la restructuration du collagène et la régénération cutanée après exposition aux UV, où des concentrations de 1% à 5% sont préconisées (Montagnat-Rentier, 2014).

Concernant ***la vitamine E***, l'appellation vitamine E regroupe la famille des tocophérols. L'α-tocophérol, le plus fréquent, possède l'activité vitaminique la plus importante. Les β et γ auraient une activité vitaminique moindre et le δ serait presque inactif. Dans la cosmétique, la vitamine E est le plus souvent utilisée sous forme estérifiée, en particulier sous forme d'acétate de vitamine E

Les tocophérols se présentent sous forme d'huile visqueuse jaune pâle. Ils sont liposolubles. L'acétate de vitamine E a la même solubilité. La vitamine E est peu sensible à la lumière et aux acides mais elle est très sensible aux agents oxydants et aux bases, en revanche les esters de tocophérol ont une stabilité supérieure à la vitamine E sous forme alcool. La vitamine E est le principal antioxydant de l'organisme et joue un rôle dans de nombreux phénomènes biologiques impliquant les membranes cellulaires. Dans la cosmétique il y a deux voies d'absorption des vitamines E au niveau cutané : la première passe à travers la couche cornée, l'épiderme et la jonction dermo-épidermique, la seconde passe par le canal pilo-sébacé et l'intérieur des follicules pileux (Kamimura and Matsuzawa, 1968) ; (Rangarajan and Zatz, 2001).

Les principales activités de la vitamine E sont ses propriétés anti-radicalaires, les propriétés anti-inflammatoires, la protection UV, les propriétés hydratantes et l'amélioration de la microcirculation cutanée. La vitamine E peut être trouvée sous diverses formes, telles que directement au sein d'huiles végétales comme le germe de blé, le maïs, le soja, etc., ainsi que sous sa forme synthétique, comme l'acétate de DL-α-tocophérol, qui est le plus couramment utilisé en cosmétologie car il est plus stable que le tocophérol sous forme d'alcool. Concernant le pourcentage d'utilisation, ça va dépendre de l'objectif de cet anti-oxydant. Pour une protection de corps gras oxydables, les concentrations usuelles d' α-tocophérol vont de 0,02% à 0,05%. Pour l'acétate de tocophérol, les concentrations usuelles vont de 0,05% à 0,5%. Pour une activité comme un actif anti-âge les concentrations d'α -tocophérol pourront aller de 0,05% à 2,0% et pour l'acétate de tocophérol de 0,5% à 25% (Furuse, 1987) (Keen and Hassan, 2016).

Il est important de dire aussi que les mécanismes de défense non enzymatiques contre les radicaux libres sont interdépendants entre la vitamine C et la vitamine E, confirment l'intérêt d'une utilisation simultanée de ces actifs dans un cosmétique.

(b) Systèmes enzymatiques et ERO

Les enzymes jouent également un rôle crucial dans un système antiradicalaire. Ce sont des protéines naturellement présentes dans la peau qui visent à réduire les espèces radicalaires lors d'une exposition importante. Elles agissent en collaboration avec des cofacteurs tels que le sélénium et le zinc. ***Le sélénium***, en tant que cofacteur essentiel de la glutathion peroxydase, contribue au maintien de l'équilibre redox des cellules. De même, ***le zinc,*** en tant que cofacteur capable de se lier à de nombreuses molécules, intervient dans la synthèse de métalloprotéines et de protéines riches en soufre, qui jouent un rôle dans la neutralisation des radicaux libres (Rostan *et al.*, 2002). Sinon un autre cofacteur des enzymes qui joue un rôle antiradicalaire intéressant est le ***Coenzyme Q10***, connu aussi comme ubiquinone. Il piège les radicaux libres, son caractère lipophile lui permet de stabiliser les protéines mitochondriales permettant un apport régulier d'énergie au sein de la cellule. L'utilisation en continue de CoQ10 sur une peau âgée a montré une diminution des ridicules cutanées par l'augmentation de la synthèse de hyaluronate (Blatt *et al.*, 2004).

(c) Molécules d'origine végétale et ERO

Parmi les molécules d'origine végétale avec une propriété antioxydante on peut trouver les caroténoïdes, qui sont des pigments végétaux responsables de la protection du stress oxydatif des plantes. Les plus connus sont les β carotène et le lycopène (Stahl and Sies, 2003). Une autre molécule végétale connue pour ses vertus protectrices sont aussi les flavonoïdes. Les flavonoïdes sont des polyphénols à fort pouvoir antioxydant. Actuellement plus de 8000 composés ont pu être identifiés et leur application cutanée a montré une activité phytoprotectrice importante (Pietta, 2000). Le ***Tableau 1*** ci-dessous, représente le récapitulatif des familles d'actifs liés aux Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) avec les ingrédients correspondants et les concentrations recommandées.

Familles des actifs ERO	Ingrédients ERO	Concentrations conseillées	Recommandations
Antioxydants et piégeurs des ERO	**a)** Vitamine C **b)** Vitamine E	**a)** - Acide ascorbique 0,5%-3,0% (anti-oxydant) ; esters lipophiles 0,1%-0,5% (anti-oxydant). - Acide ascorbique (1%-5%)(dépigmentante) **b)** α-tocophérol 0,02%-0,05% (protection des corps gras); l'acétate de tocophérol 0,05%-0,5% (protection de corps gras) **c)** α-tocophérol 0,05%-2,0% (actif anti-oxydant) ; l'acétate de tocophérol 0,5%-25%	**a)** Dégradation rapide dans le milieu aqueux. Privilégier plutôt les dérivés d'acide ascorbique pour sa stabilité **b)** À partir d'une certaine concentration, la vitamine E peut induire des phénomènes de pro-oxydation
Systèmes enzymatiques et ERO	**a)** Sélénium **b)** Zinc **c)** Coenzima Q10	**a)** Concentration maximum de 1%. **b)** Dépend fortement de sa forme	**a)** Les données sur les diffusions cutanées sont quasi inexistantes **b)** La forme d'oxyde de zinc est plus tolérée que la forme sulfate de zinc
Molécules d'origine végétale et ERO	**a)** Caroténoïdes **b)** Flavonoïdes		

Tableau 1: *Récapitulatifs des familles des actifs ERO avec ses ingrédients, concentrations et recommandations.*

2.3.2. Actifs sur l'activité cellulaire de l'épiderme et du derme

Il existe essentiellement 2 types de familles qui agissent sur l'activité cellulaire de l'épiderme et du derme. Les **Alpha-hydroxyacides** et les **rétinoïdes**.

Les Alpha-hydroxyacides sont connus sous le terme acide des fleurs. Les plus utilisés sont l'acide glycolique, l'acide malique ou l'acide mandélique. Les actions principales sur l'épiderme sont : diminuer l'épaisseur de la couche cornée, restaurer du « turn over » du stratum corneum pour l'activité directe sur les liaisons intercornéocytaires, stimuler l'activité des synthèses des glycoaminoglycanes par les kératinocytes et augmenter l'épaisseur de l'épiderme par stimulation de la prolifération épidermique. En ce qui concerne les effets dermiques, ils englobent l'amélioration des capacités de rétention d'eau, l'augmentation de la synthèse de collagène, le renforcement de la synthèse des

glycosaminoglycanes, et enfin, la restauration de l'épaisseur du derme sans déclencher de réaction inflammatoire (Lafforgue, 2006a).

Les Rétinoïdes sont très connus aussi pour leur activité cellulaire. Dans la cosmétique ce sont les rétinols ou ses esters qui sont utilisés. Ils sont des intermédiaires de la cascade métabolique qui conduit à la formation de l'acide rétinoïque. C'est important de noter que l'acide rétinoïque est interdit dans les cosmétiques et que le rétinol a une meilleure tolérance sur la peau. La concentration utilisée et étudiée pour une efficacité se situe entre 0,15% et 1,15%. La présence de rétinol a permis de mettre en évidence une augmentation de l'épaisseur de l'épiderme, une augmentation de l'organisation de kératinocytes et une diminution de la mélanine avec peu de signes d'inflammation et une synthèse de collagène efficace (Gans and Kligman, 2000). Tous ces activités font que le rétinol est un actif avec un pouvoir de réparation cutanée puissant et est donc un actif important pour les produits anti-âge.

2.3.3. Actifs sur l'équilibre du tissu cutané

Les actifs hydratants occupent une place centrale dans le domaine de la cosmétique, jouant un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre hydrique de la peau. Pour préserver la santé de la peau elle nécessite d'une hydratation adéquate. Cette hydratation peut être divisée en deux types : l'eau libre, présente à la surface de la peau et facilement évaporable, et l'eau liée au tissu, piégée dans les couches plus profondes de la peau. **Les actifs hydratants** agissent en favorisant la rétention de cette eau liée au tissu, ce qui contribue à maintenir la structure et l'hydratation globale de la peau. Ainsi, ces actifs jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre cutané entre l'eau libre et l'eau liée au tissu. Elle favorise des échanges intercellulaires efficaces tout en préservant une barrière cutanée robuste. L'acide hyaluronique, l'élastine et le collagène jouent un rôle clé dans la prévention de la perte d'eau, formant un gel en présence d'eau et agissant comme de véritables éponges. Une autre contribution essentielle à une hydratation optimale provient des filmogènes hydrophiles, comme les humectant. L'humectant le plus reconnu est le glycérol avec ses pouvoirs hygroscopiques. Enfin, les films hydrophobes jouent également un rôle en prévenant l'évaporation de l'eau grâce à leur caractère plus ou moins occlusif, contribuant ainsi à maintenir une peau bien hydratée (Lafforgue, 2006b). Ils ont été classés en 3 groupes principaux, comme on peut voir sur le ***Tableau 2***.

- Les substances hygroscope « hydratantes »
- Les substance filmogènes hydrophiles

- Les substances filmogène hydrophobes

Familles des actifs hydratants	Ingrédients hydratants	Concentrations conseillées	Recommandations
Substances hygroscopique « hydratantes » **Humectants**	**a)** Glycérol **b)** Sorbitol **c)** Propylène glycol **d)** Acide Lactique	**a)** 3%-10% **b)** < 10% **c)** Minimum possible **d)** 5%- 10%	**a)** A plus de 10% : collant et poisseux **b)** A plus de 10% : collant **c)** Effet desséchant Utiliser comme solubilisant **d)** Incompatibilité avec les Carbopol Normalement utilisées avec l'Urée
Substances hygroscopique « hydratantes » **Composants du « Natural Moisturising Factor (NMF)"**	**a)** Pyrrolidone carboxylate de sodium **b)** Urée **c)** Acides-aminés **d)** Sucres	**a)** < 3% **b)** 5%-10% **c)** Dépend du type de mélange d'acide-aminés **d)** Les pentoses à 3% et les dérivés éthoxylès du méthilglucoside à 5%	**a)** Modifications importantes de la viscosité **b)** A plus de 10% : augmentation de la pénétration cutanée Tendance à l'instabilité Combiner avec l'acide lactique pour la formation d'un complexe stable **c)** Incompatibilité avec des composés aldéhydiques (parfums) **d)** Rien à signaler
Filmogène hydrophiles	**a)** Acide Hyaluronique **b)** Glycosaminoglycanes **c)** Chitosane **d)** Collagène **e)** Polymère hydrophiles (polysaccharides)	**a)** Dépend du poids moléculaire et de sa vectorisation (microsphères) **b)** 0,001%-5% **c)** 0,5%-6% **d)** 0,3%-0,5% dans 0,1% d'acide sorbique **e)** Dépend du type de polysaccharides	**a)** Rien à signaler **b)** Rien à signaler **c)** Il est dissous par des solutions acides diluées à une concentration entre 0,25% et 10%, à pH inférieur à 6,0. **d)** Dans ces conditions la protéine est partiellement déréticulée, ce qui entraîne une plus grande solubilité. **e)** Rien à signaler
Filmogène hydrophobes	Lipides épidermiques - Acides gras polyinsaturés (AGPI) - Phospholipides - Céramides - Glycocéramides	Dépend du type de formule	Rien à signaler

***Tableau 2** : Récapitulatif des actifs hydratants et ses recommandations. (Martini, 2006)(Thibodeau, 2000).*

Un autre groupe d'agents influençant l'équilibre du tissu cutané est constitué des **inhibiteurs de métalloprotéinases matricielles (MMP)**. Ces enzymes, produites par les fibroblastes et les kératinocytes, ont la capacité de dégrader les composés de la matrice

extracellulaire, régulant ainsi l'équilibre entre la synthèse et la dégradation des protéines matricielles telles que le collagène, l'élastine, les protéoglycanes et d'autres protéines glycosylées (Thibodeau, 2000). Une perturbation de leur fonctionnement accélère le processus de vieillissement cutané.

Pour maintenir cet équilibre, la présence d'inhibiteurs TIMP (Tissue Inhibitor of Matrix Proteinases) est nécessaire pour contrôler l'activité des MMP. L'utilisation du TIMP-1 a démontré une activité similaire à un facteur de croissance pour les kératinocytes et les fibroblastes en culture (Hornebeck, 2003)(Moon *et al.*, 2005). Un exemple d'extrait végétal étudié pour son potentiel impact sur les métalloprotéinases de la matrice extracellulaire est le thé vert (*Camellia Sinensis*). Des recherches ont suggéré que les polyphénols présents dans le thé vert pourraient exercer des effets inhibiteurs sur certaines métalloprotéinases. Un autre exemple est le Chardon Marie issu de *Viola Hondensis* (Moon *et al.*, 2005).

Encore dans les actifs inhibiteurs ***les anti-glycants*** font partie d'un des groupes actifs qui a son importance dans le monde des cosmétiques.

La glycation altère la structure du collagène et de l'élastine, rendant la peau plus rigide et sujette aux rides. L'accumulation de produits de glycation avancées (AGEs), en particulier dans le collagène, est corrélée avec l'âge, entraînant des modifications négatives dans la jonction dermo-épidermique, réduisant l'épaisseur du derme et affectant la cohésion entre les couches cutanées. Les AGEs modifient également les filaments intermédiaires, les facteurs de croissance, l'ADN et les lipides, contribuant à des effets délétères sur la migration cellulaire et la division cellulaire. La glycation est associée à une irréversibilité des produits finaux et à une accumulation dans les cellules, entraînant un dysfonctionnement cellulaire et éventuellement la mort cellulaire. La présence de ces AGEs diminuent aussi la synthèse d'acide hyaluronique et l'activité de certains métalloprotéinases de la matrice (Masaki, Okano and Sakurai, 1999); (Okano, Masaki and Sakurai, 2002).

Les récepteurs RAGE (Récepteur spécifique des produits finaux de glycosylation avancée) peut activer plusieurs voies de signalisation délétères présents sur divers types cellulaires, jouent un rôle dans la transmission des effets toxiques des AGEs, induisant le stress oxydatif, l'inflammation et la dégradation de la matrice extracellulaire par l'activation des métalloprotéinases. Le blocage des liaisons AGE-RAGE pourrait atténuer ces effets néfastes (Lafforgue, 2006c).

La glycation étant un processus constitué de plusieurs réactions successives ou concomitantes (glycation, glycoxydation, voix des polyols), les molécules à rechercher doivent donc inhiber des mécanismes d'actions différentes sur chaque étape de formation des AGEs. Les principales molécules ayant des activités anti-glycanes ont été répertoriées dans le

Tableau 3 qui fait tout spécialement le distinguo entre le mode d'obtention par synthèse chimique et par des procédés verts (biotechnologies).

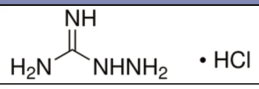
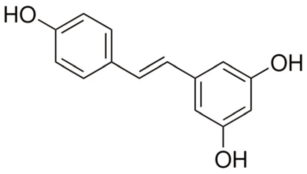
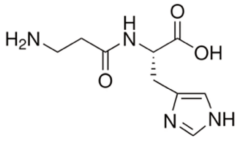
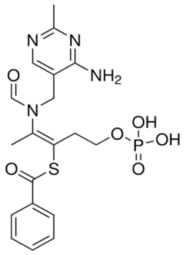
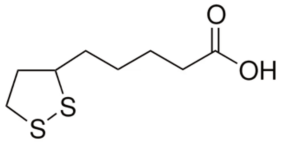
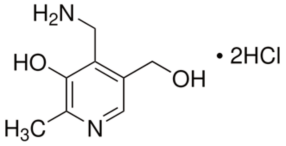
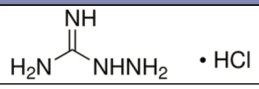
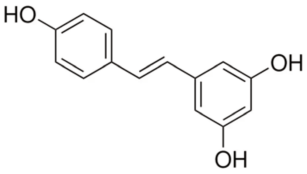
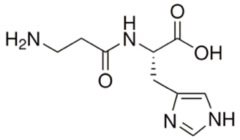
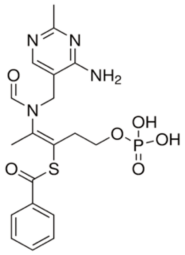
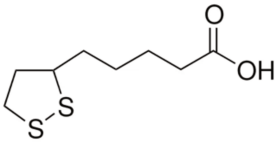
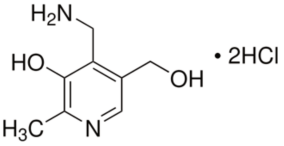
Molécules	Formules	Modes des actions	Produits commercialisés
Aminoguanidine		Piège des produits d'Amadori	Repair Lift (Clinique, France)
Resvératrol		Empêche la régulation des RAGE	Resveratrol Lift et Vinexpert (Caudalie, France)
Flavonoïdes	Baicalin, Baicalein, Nobiletin, Kaempferol, Quercetin, Naringin, Hesperidin, Hesperetin, Extraits des plantes	Inhibe les intermédiaires de l'étape initiale de la glycation	Slow Age (Vichy, France)
Carnosine		Il entre en compétions avec les sucres	Benefiance NutriPerfect Pro-Fortifyng (Shiseido, Japon)
Benfotiamine		Inhibe la formation des produits de post-Amadori	-
Acide α–λιπο|θυε		Inhibe la transcription de VCAM-1	Rosa Mosquetade (Aubrey Organics, USA)
Pyridoxamine		Piège les carbonyles et inhibe les étapes post-Amadori	Skin Absolute (Filorga, France)

Tableau 3: *Les principaux antiglycans et leurs caractéristiques. Mode d'action, produits commercialisés (Antoine, Cahuc and CAPODANNO, 2017) .*

En conclusion, les principales familles d'actifs anti-âge, telles que les actifs ERO (espèces réactives à l'oxygène), les actifs agissant sur les activités cellulaires de l'épiderme et du derme, ainsi que les actifs agissant sur l'équilibre cutané, jouent un rôle fondamental dans le domaine de la cosmétique anti-âge. En combinant ces différentes familles d'actifs dans des formulations efficaces et adaptées, il est possible de concevoir des produits anti-âge innovants et

Molécules	Formules	Modes des actions	Produits commercialisés
Aminoguanidine		Piège des produits d'Amadori	Repair Lift (Clinique, France)
Resvératrol		Empêche la régulation des RAGE	Resveratrol Lift et Vinexpert (Caudalie, France)
Flavonoïdes	Baicalin, Baicalein, Nobiletin, Kaempferol, Quercetin, Naringin, Hesperidin, Hesperetin, Extraits des plantes	Inhibe les intermédiaires de l'étape initiale de la glycation	Slow Age (Vichy, France)
Carnosine		Il entre en compétions avec les sucres	Benefiance NutriPerfect Pro-Fortifyng (Shiseido, Japon)
Benfotiamine		Inhibe la formation des produits de post-Amadori	-
Acide α-lipoïque		Inhibe la transcription de VCAM-1	Rosa Mosquetade (Aubrey Organics, USA)
Pyridoxamine		Piège les carbonyles et inhibe les étapes post-Amadori	Skin Absolute (Filorga, France)

performants, répondant aux besoins spécifiques de chaque type de peau et contribuant ainsi à promouvoir une peau saine, jeune et éclatante. La section suivante sera consacrée à l'examen des molécules anti-âge sélectionnées par l'entreprise.

2.4. Choix de la L-carnitine et de la L-carnosine

Actuellement dans le marché cosmétique il existe des centaines de possibilités d'actifs anti-âge dans le marché, comme nous avons pu voir précédemment. Ces actifs peuvent inclure une variété de composés tels que des peptides, des antioxydants, des acides hyaluroniques, des rétinoïdes, des extraits de plantes, et bien d'autres. Les entreprises cosmétiques et les laboratoires de recherche travaillent constamment à développer de nouveaux ingrédients pour répondre aux besoins en constante évolution dans le domaine de l'anti-âge. Ainsi, la diversité des actifs disponibles est assez vaste.

Pour répondre au cahier des charges de l'entreprise Joëlle Ciocco Paris, les critères de sélection sont :

- Une préférence sur le choix de deux ingrédients présentant une activité anti-âge, en optant pour deux actifs dotés de propriétés complémentaires afin de maximiser l'efficacité du produit final.
- Des composés de nature hydrophile, garantissant une intégration facile dans les formules.
- Être économiques afin de maintenir la rentabilité des produits.
- Une combinaison entre ces deux molécules qui soit presque ou inexistante sur le marché actuel des produits cosmétiques, ce qui aurait permis à Joëlle Ciocco Paris de se démarquer avec des formulations exclusives et innovantes.

Cette sélection avait été méticuleusement réalisée par l'entreprise après une recherche bibliographique approfondie et une étude de marché sur les cosmétiques contenant ces molécules. La L-carnosine, une molécule renommée, avait été choisie pour conférer une dimension qualitative et luxueuse au produit, étant présente dans des marques haut de gamme de cosmétiques. La seconde molécule, la L-carnitine, avait été sélectionnée en tant qu'actif complémentaire, offrant une option plus économique mais non moins important. Les recherches bibliographiques et l'étude de marché de chaque actif seront détaillées plus loin.

Dans le ***Tableau 4*** on peut retrouver les pourcentages conseillés ainsi que le prix de chaque molécule.

Actifs	Pourcentages utilisées	Solubilité	pH	Stabilité	Prix

L-Carnosine 305-84-0	0,05%-0,2%	385mg/ml	À 5% en solutions d'eau : 6,5-8,5	Stable dans les conditions ambiantes	- Sigma-Aldrich 5g/222,00€ - Fisher sci 5g/162,00€ - Carlroth 5g/112,90€
L-Carnitine 541-15-1	2%-5%	100mg/ml à 20°C	Entre 4,0 et 9,0 à moins de 80°C	Stable dans les conditions ambiantes	- Sigma-Aldrich 5g/19,50€ - Fisher sci 5g/77,95€

Tableau 4: *Informations pratiques sur la L-Carnosine et la L-Carnitine.*

2.4.1. L-carnosine

Nous aborderons dans cette partie la L-carnosine, en examinant d'abord sa structure chimique, puis en analysant les études bibliographiques disponibles, et enfin en explorant ses propriétés et ses utilisations dans le domaine de la cosmétique.

La L-carnosine est un dipeptide composé d'une bêta-alanine et d'une 3-méthyl-L-histidine, que l'on trouve dans la viande rouge alimentaire, et qui présente des activités antioxydantes, chélatrices de métaux et anti-glycation potentielles. La L-carnosine agit en réduisent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que les aldéhydes insaturés qui résultent de la peroxydation des lipides de la membrane cellulaire. De plus, ce dipeptide a la capacité de diminuer la formation des produits finaux de glycation avancée (AGE), offrant ainsi une protection contre les dommages oxydatifs aux cellules. De façon complémentaire, la L-carnosine peut également chélater les métaux toxiques. Pour davantage d'informations sur la chimie de cette molécule, veuillez consulter le **Tableau 5** (Lintner and Peschard, 2000).

Les études démontrent que la présence de L-carnosine isolés ou associés dans les produits cosmétiques est lié à des effets anti-âge sur la peau (Nino, 2011). Par exemple, dans le cadre de deux études en double aveugle, randomisées et contrôlées, d'une durée de quatre semaines chacune, portant sur des femmes âgées de 30 à 70 ans, des observations ont été faites concernant les modifications des rides périorbitaires. La première étude a impliqué 42 volontaires, tandis que la seconde en comptait 35. Les produits testés, renfermant de la niacinamide, des peptides pal-KT et pal-KTTKS ainsi que de la carnosine, ont démontré une amélioration de la peau périorbitaire, se traduisant par une augmentation de la douceur cutanée et une diminution de la profondeur des rides (Kaczvinsky *et al.*, 2009) .

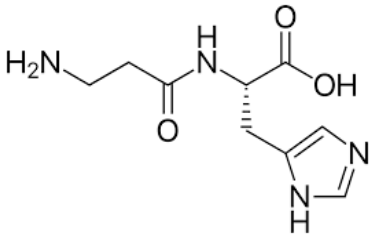
Synonyme	β-Alanyl-L-histidine	Structure
Formule	$C_9H_{14}N_4O_3$	
Poids moléculaire	226,23 g/mol	
No.-CAS	**305-84-0e**	

Tableau 5 : *Information chimique de la L-Carnosine*

Une autre étude, d'irradiation en double aveugle comparant un complexe composé de différents ingrédients actifs (SPF 50, photolyase, endonucléase, 8-oxoguanine glycosylase, carnosine, arazine et ergothionine) dans des produits disponibles avec des ingrédients de réparation de l'ADN, d'antioxydants et de facteurs de croissance, a révélé que la formulation était efficace dans la réduction des dimères de pyrimidine, de la carbonylation des protéines et de la 8-oxo-7,8-dihydro-2'-désoxyguanosine dans les biopsies de peau humaine. Il semble également que cette formulation améliore l'intégrité génomique et protéomique des cellules cutanées après une exposition continue aux rayons UV. Ainsi, cette formulation pourrait potentiellement réduire le risque de vieillissement cutané induit par les UV et de cancer de la peau autre que le mélanome (Emanuele, Spencer and Braun, 2014).

Au cours d'une autre recherche de six mois, 20 volontaires en bonne santé (de type II ou III sur l'échelle de phototype) ont été traités avec des formulations de carnosine et de N-acétylcarnosine. Lorsqu'elles sont appliquées seules dans une solution aqueuse, la carnosine a montré une réduction de l'érythème de 3,6 %, tandis que la N-acétylcarnosine a présenté une réduction de 7,3 % par rapport au témoin. Les deux peptides ont démontré une capacité antioxydante, avec des effets plus marqués en conjonction avec des véhicules améliorant les capacités de pénétration cutanée des substances. La N-acétylcarnosine a également été identifiée comme un antioxydant hydrophile intéressant à des fins dermatologiques (Nino, 2011).

Une recherche bibliographique a été réalisé avec la base de données scientifique, Scifinder et nous a permis d'observer la quantité des publications référents à la L-carnosine. Ensuite cette recherche a été raffiné avec les mots clés « skin » et ensuite avec le mot clé « cosmetic ». Comme on peut voir sur la ***Figure 4***.

Parmi les 60 publications extraites de la base de données avec les mots-clés "L-carnosine + Skin + Cosmetic", on constate 52 publications, soit 87%, sont des brevets, tandis que seulement 8 sont des articles, représentant ainsi 13%. Ces chiffres mettent en évidence la prédominance marquée des entreprises détenant des brevets, comme illustré dans la ***Figure 5***. Le fait que la recherche comporte beaucoup de brevets suggère que le travail de recherche a une composante pratique ou appliquée importante, et cela induit des développements industriels ou technologiques.

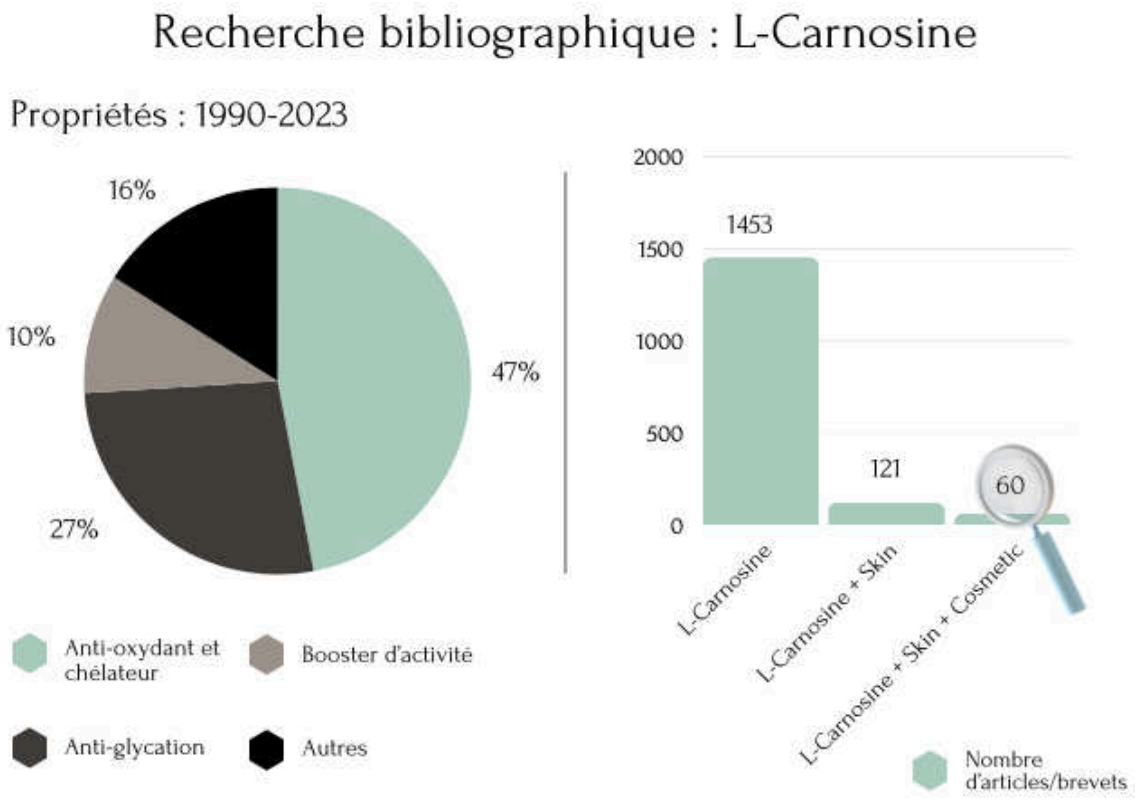


Figure 4 : *Recherche bibliographique L-Carnosine.*
Avec les mots-clés « L-Carnosine » ; « L-Carnosine + Skin » et « L-Carnosine+ Skin+ Cosmetic ».

En ce qui concerne les principales propriétés relevées dans ces 60 publications couvrant la période de 1990 à 2023, on retrouve à hauteur de 47% les antioxydant/chélateur, à hauteur de 27% les anti-glycation, à hauteur de 10% les booster d'activité (augmentation de la disponibilité des actifs, synergie, protection d'actifs), tandis que les autres actions telles qu'anti-inflammatoire, anti tâches et antibactérien, représentent seulement 16%. Parmi les principaux détenteurs de brevets identifiés, on retrouve des entreprises telles que L'Oréal, Shiseido, Beiersdorf, Symrise et Procter & Gamble.

En conclusion, l'analyse de la recherche bibliographique sur la L-carnosine en cosmétique révèle une forte prédominance des brevets par rapport aux articles. Ces résultats soulignent l'importance accordée par les entreprises à la recherche appliquée dans ce domaine, avec un accent particulier sur les propriétés antioxydantes/chélatrices et anti-glycation. Les principaux détenteurs de brevets incluent des entreprises de renom mettant en évidence l'intérêt industriel pour les applications de la L-carnosine en cosmétique.

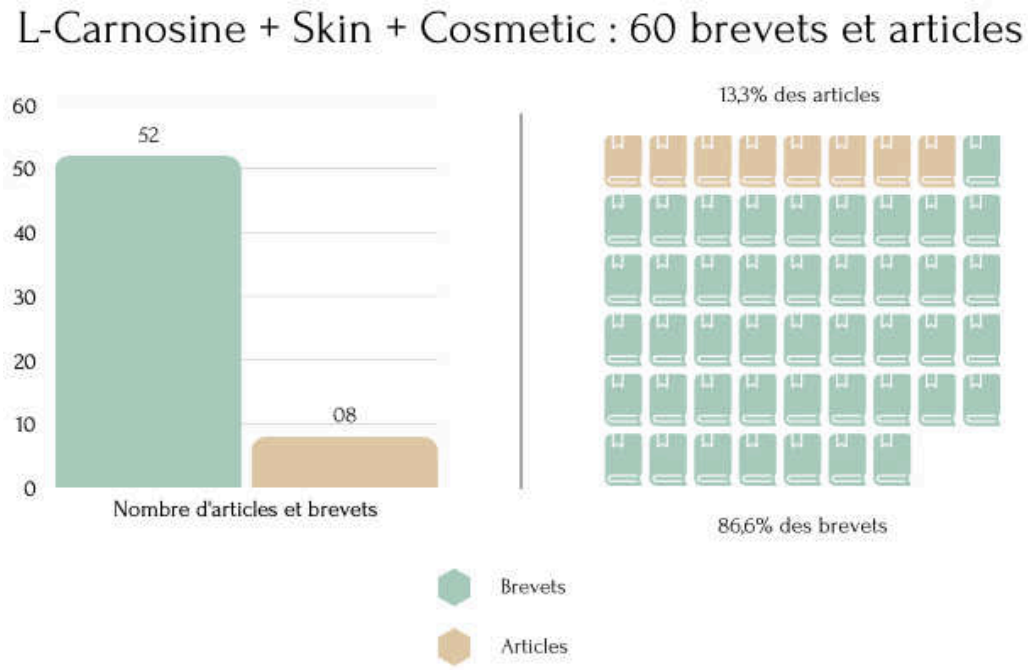


Figure 5 : *Nombre des articles et brevets pour le mot clés "L-carnosine+Skin+Cosmetic"*

Pour la suite, nous examinerons les principales propriétés de la L-carnosine lorsqu'elle est appliquée dans des produits cosmétiques, notamment à travers (***a) des études sur son effet anti-glycation, (b) son potentiel antioxydant, et (c) des recherches visant à booster ou stabiliser ses activités.***

(a) Études anti-glycations

Concernant son action anti-glycation, une étude allemande de 2018 a montré qu'une crème à base de L-carnosine inhibe la formation de glycation avancée sur la peau humaine. Comme vu antérieurement l'accumulation de produits finaux de glycation avancée (AGE) dans la peau a été associée au vieillissement cutané. Il a été constaté que les AGE sont associés à des protéines de la matrice extracellulaire telles que le collagène, la vimentine et l'élastine. Cette inhibition de la glycation des protéines de la matrice extracellulaire peut améliorer la structure, la texture et l'apparence de la peau. Les analyses ont été réalisés avec 0,2% de carnosine sous forme d'une

solution aqueuse et une deuxième sous forme de crème (émulsion classique H/E). Le test a été réalisé pendant 9 jours avec une application tous les deux jours pour un total de 4 applications. Ces tests ont démontré une réduction importante d'AGE plus spécifiquement des carboxymethyl-lysine (CML) et pentosidine sur l'épiderme et le derme des explants de peau. Un autre aspect intéressant de cette étude est le véhicule utilisé. Entre une formulation en solution aqueuse et une formulation crème, la L-carnosine n'a pas eu la même efficacité comme anti-glycants. La crème a montré une activité anti-glycation supérieure entre 122%-155% à celle de la carnosine en solution aqueuse entre 41% à 64%, pour l'épiderme. Cette activité anti glycation accrue de la crème par rapport à une solution aqueuse peut -être due aux effets d'ingrédients supplémentaires de la crème. Dans le cas de cette étude des ingrédients anti-oxydants ou des ions chélateurs peuvent favoriser la performance (Narda *et al.*, 2018). Cette étude a été réalisé pour le produit cosmétique de la marque ISDIN.

(b) Études anti-oxydants

La carnosine joue un rôle physiologique important, notamment la protection contre le stress oxydatif comme : la chélation des ions métalliques, le piégeage des espèces réactives d'oxygène (ROS) et des radicaux peroxyles (Dissette *et al.*, 2018).

En ce qui concerne les recherches portant sur les effets antioxydants de la carnosine dans le contexte des applications cosmétiques en général, et spécifiquement en ce qui concerne les dommages cutanés, la carnosine a principalement été associée à ce jour à la protection contre les rayons UV.

Une étude menée par Aruoma et al. en 1989 a démontré que la carnosine est capable d'intercepter les espèces réactives de l'oxygène (ROS), (Aruoma, Laughton and Halliwell, 1989). Selon un article de Babizhayev de 2011, la carnosine peut également piéger les aldéhydes alpha-bêta-insaturés libérés lors de la peroxydation des acides gras de la membrane cellulaire en cas de stress oxydatif (Babizhayev, 2006).

Les propriétés de la carnosine dans le domaine des produits de soin de la peau reposent sur sa qualité d'antioxydant. Pour de plus amples détails un brevet de chez SYMRISE a démontré la capacité de ces substances à protéger contre les rayonnements infrarouges en inhibant l'expression de MMP (Vielhaber, 2018) ; (Vielhaber and Maire, 2014).

Par ailleurs, le brevet de STADA, un groupe pharmaceutique allemand mentionne aussi des préparations cosmétiques et pharmaceutiques contenant un antioxydant protégeant la peau contre les rayonnements infrarouges. Parmi les nombreux antioxydants possibles, la carnosine. De plus, les compositions à administrer par voie topique comprennent un ou plusieurs filtres UV inorganiques et/ou organiques (Alicia, 2020).

Un autre document de chez COTY a révélé des préparations protégeant la peau contre les dommages causés par les rayonnements infrarouges, contenant des extraits de plantes, des vitamines, de la poudre de rubis, du mica et du dioxyde de titane (Doucet *et al.*, 2013)

SHISEIDO traite des produits de protection solaire sous forme H/E caractérisés par un cocktail spécial d'émulsifiants et de filtres photoprotecteurs, contenant la combinaison de carnosine avec des filtres UV (Takakura, Suzuki and Omura, 2010) . Ensuite un autre brevet utilise des agents de conditionnement à base, entre autres, de dipeptides tels que la carnosine pour les cheveux. Dans les exemples de réalisation, une combinaison de carnosine avec un filtre UV, à savoir la benzophénone-3, est mentionnée (Hoffmann and Grit, 2010).

(c) Études pour booster ou stabiliser l'activité

Même si la carnosine est connue pour toutes ces propriétés anti-oxydants et anti-glycation, atteindre des concentrations efficaces dans les couches plus profondes des tissus cutanés comme l'épiderme ou le derme n'est pas facile ; cela est dû à la nature hydrophile de la carnosine. Donc atteindre la biodisponibilité cutanée des substances actives hydrophiles, telles que les peptides comme la carnosine, est un défi (Goebel *et al.*, 2012). En plus de cela la carnosine peut être sujette à la dégradation due à la présence d'enzymes protéases dans la peau. Les protéases sont des enzymes qui décomposent les protéines en acides aminés plus petits. Dans le contexte de la peau, ces enzymes peuvent dégrader la carnosine, réduisant ainsi son efficacité. Par conséquent, malgré ses bénéfices potentiels, la carnosine peut être vulnérable à la dégradation enzymatique, compromettant ainsi ses effets bénéfiques.

Pour surmonter ce défi, les chercheurs et les formulateurs de produits cosmétiques travaillent sur des moyens d'améliorer la stabilité ou d'augmenter cette biodisponibilité dans les formulations topiques. Cela peut inclure l'utilisation de vecteurs de délivrance spécifiques, de formulations encapsulées ou d'autres stratégies pour protéger la carnosine de la dégradation enzymatique, assurant ainsi une meilleure efficacité dans les produits de soin de

la peau. Les avancées dans la technologie des ingrédients cosmétiques visent souvent à optimiser la stabilité des composés actifs, y compris la carnosine, pour maximiser leurs bienfaits pour la peau.

Des études utilisent la complexation de la carnosine pour booster cette biodisponibilité. Une étude de Dissette de 2018 a été réalisé avec une formulation gel aqueuse en présence d'un ion magnésium comme agent complexant. Les résultats obtenus dans cette étude soutiennent l'hypothèse selon laquelle le magnésium peut influencer la délivrance de petits peptides et que la formulation du gel à base du complexe carnosine-magnésium. Permettent ainsi une délivrance supérieure de carnosine dans la couche inférieure de la peau à une concentration jusqu'à 60 % supérieure à celle de la carnosine seule (Dissette *et al.*, 2018) .

Un brevet pour des produits d'hygiène de Byrne a démontré aussi que la carnosine associée au magnésium peut également améliorer la capacité de la peau à absorber des actifs. Afin d'obtenir un effet désirable du magnésium, il est préférable qu'il soit présent dans la composition à une quantité allant de 0,5 % à 2,0 % en poids de la composition totale. Exemple : dans un gel douche comprenant 0,2 % en poids de carnosine, il y a 1,0 % en poids de sulfate de magnésium. En tout état de cause, il est préférable que le sel de magnésium soit présent en quantité supérieure à la carnosine (deux, trois, quatre ou même cinq fois) afin que l'efficacité de la composition soit maintenue.

La capacité d'absorption améliorée peut se situer en partie par la chélation de l'ion magnésium avec la carnosine, formant ainsi une composition plus efficace et physiologiquement active de préférence par activation avec de l'eau (Byrne, 2021). En outre, brevet japonais de Takaya, ils ont utilisé le complexe L-carnosine zinc comme agent de soin de la peau pour la prévention ou l'amélioration de l'acné et sans irritation cutanée. Les concentrations utilisées de zinc L-carnosine varient entre 0,01% et 10% dans une base cosmétique (Takaya, 2009).

Après la complexation, une autre forme d'éviter la dégradation de la carnosine est l'utilisation des vésicules amphiphiles lipidiques ou des liposomes dans le but de stabiliser des formules, comme vu sur un brevet chez L'Oréal (Philippe and Bordier, 1998) et à chez COTY (Leverett, Missler and Fast, 2008). Sinon des formules anhydres ou lyophilisé (Ding, 2019) ou sur forme des injections (He, Shao and Li, 2018).

Pour conclure, l'efficacité de tout produit cosmétique contenant un principe actif est déterminée par deux facteurs : L'activité intrinsèque de la molécule et la délivrance de cette molécule à son site d'action. L'activité intrinsèque d'un ingrédient actif, ou sa capacité à exprimer son efficacité, dicte son profil fonctionnel mais ne garantit pas l'efficacité de la formulation finale contenant l'ingrédient.

Pour exprimer sa fonction, le principe actif doit être délivré sur le site d'action aux bonnes concentrations et au bon moment. Ce critère s'applique à tous types d'actifs, quelle que soit leur fonctionnalité, et revêt une importance particulière en science dermocosmétique (Dissette *et al.*, 2018).

2.4.2. L-carnitine

Après avoir exploré certaines caractéristiques de la L-carnosine et ses applications cosmétiques, nous nous concentrerons dans cette section sur la L-carnitine. Nous débuterons par l'analyse de sa structure chimique ainsi que son contexte général, puis nous passerons en revue les études bibliographiques disponibles avant d'explorer ses propriétés dans le domaine de la cosmétique, conformément à la bibliographie.

La L-carnitine est une molécule naturellement présente dans le corps humain, elle est un acide aminé bétaïne substitué par un butanoate avec un groupe hydroxy en position C-3 et un groupe triméthylammonium en C-4. Plus des informations sur la structure chimique, voir ***Tableau 6***. Elle joue le rôle essentiel dans le métabolisme de graisse humaine et d'un métabolite de souris. Elle dérive d'un butyrate. Il s'agit d'une base conjuguée d'un carnitinium (Choejaehwan *et al.*, 2018). La carnitine, est également appelée vitamine BT. Entre plusieurs rôles, elle est connue comme une enzyme qui joue un rôle dans le transfert des acides gras vers les mitochondries dans le métabolisme animal. Il existe deux isomères de la carnitine, l'un est la L-carnitine et l'autre la D-carnitine. Parmi eux, la L-carnitine est une sorte d'acide aminé, qui participe à la dégradation et à la production d'énergie des graisses dans le corps humain. Elle est également utilisée comme additif alimentaire car elle a un effet sur l'amélioration du métabolisme de graisse (Shekhawat *et al.*, 2013).

Erreur ! Source du renvoi introuvable.

Synonyme	L-Carnitine	Structure
Formule	$C_7H_{15}NO_3$	
Poids moléculaire	161.20 g/mol	

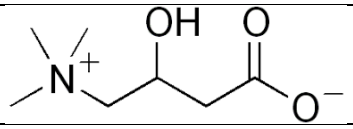
No.-CAS	**541-15-1**	

Tableau 6 : *Informations chimiques de la L-Carnitine (PubChem, carnitine)*

Mais elle a également des implications pour la santé de la peau et des cheveux lorsqu'elle est utilisée dans les produits cosmétiques. Voici pourquoi la L-carnitine a ces diverses activités :

- **Métabolisme des graisses :** La principale fonction de la L-carnitine est de faciliter le transport des acides gras à longue chaîne dans les mitochondries des cellules, où ces acides gras sont brûlés pour produire de l'énergie. Cela contribue à la décomposition des graisses et à la production d'énergie dans le corps (Raper, 2022).
- **Antioxydant :** La L-carnitine a des propriétés antioxydantes, ce qui signifie qu'elle peut neutraliser les radicaux libres nocifs. Les radicaux libres sont des molécules instables qui endommagent les cellules et contribuent au vieillissement prématuré de la peau (Gülçin, 2006).
- **Hydratation de la peau :** En tant qu'humectant, la L-carnitine a la capacité de retenir l'eau, ce qui contribue à maintenir la peau hydratée et à prévenir la sécheresse cutanée (Guth, Czuczak and Lentner, 2005) ; (Fox *et al.*, 2011)
- **Amélioration de l'élasticité de la peau :** Elle peut favoriser l'élasticité de la peau en stimulant la production de collagène et d'élastine, ce qui améliore la texture de la peau et réduit l'apparence des rides (Guth, Czuczak and Lentner, 2005); (Raper, 2022).
- **Réduction de la perte de cheveux :** Dans les produits capillaires, la L-carnitine peut renforcer les racines des cheveux, réduisant ainsi la perte de cheveux (Giesen and Fuhrmann, 2012)
- **Réduction de l'inflammation** : La L-carnitine peut aider à apaiser la peau et à réduire l'inflammation, ce qui est bénéfique pour les peaux sujettes aux rougeurs à l'irritation ou l'acné (Detudom *et al.*, 2023) ; (Shekhawat *et al.*, 2013).
- **Promotion de la régénération cellulaire :** Elle peut soutenir le renouvellement cellulaire de la peau, contribuant ainsi à maintenir une peau en bonne santé (Guth, Czuczak and Lentner, 2005); (Fox *et al.*, 2011).

En résumé, la L-carnitine a ces activités variées comme : agir sur le métabolisme des graisses, agir comme antioxydant, maintenir l'hydratation de la peau et améliorer la texture de la peau entre autres. Ces propriétés en font un ingrédient attrayant pour les produits cosmétiques axés

sur la santé de la peau et des cheveux. Dans ce travail elle a été choisi pour ses activités anti-âges (Fox *et al.*, 2011). Plus tard, nous analyserons ses propriétés de manière plus détaillée.

Une recherche bibliographique a été réalisé avec la base de données scientifiques, Scifinder et nous a permis d'observer le nombre des publications référentes à la L-carnitine. Ensuite cette recherche a été affinée avec les mots clés « skin », puis avec le mot clé « cosmetic » et nous nous sommes focalisés seulement sur les résultats parus après 2010. Comme on peut voir sur la ***Figure 6***. L'intérêt de cette recherche bibliographie est en spécial d'analyser les dernières utilisations de la L-carnitine et ses découvertes dans le monde de la cosmétique.

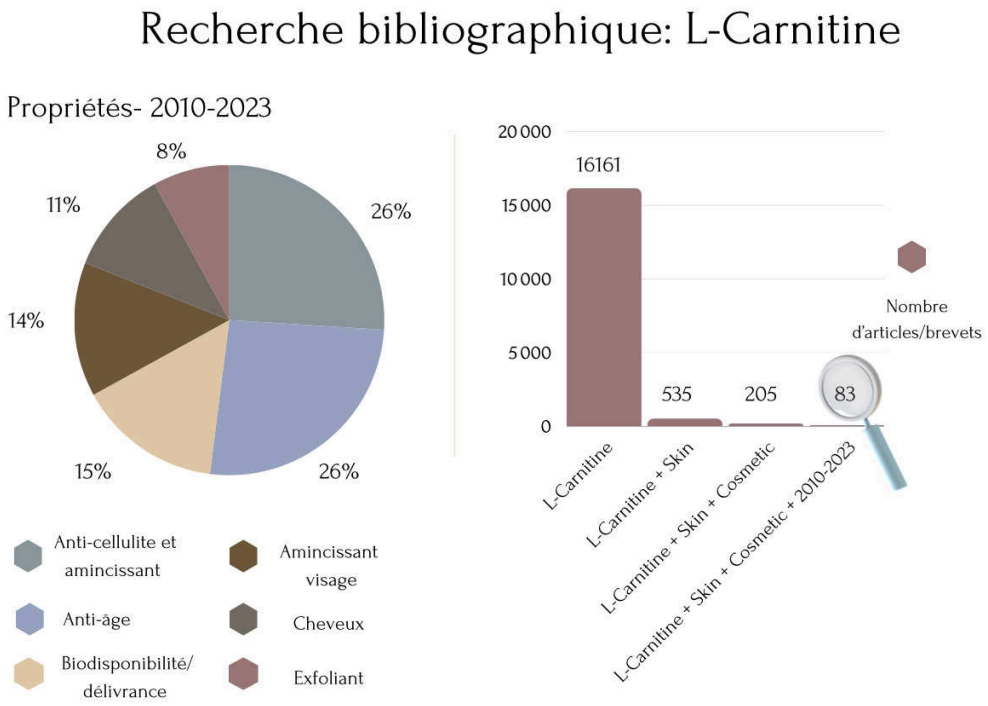


Figure 6 : *Recherche bibliographique L-Carnitine.*
Avec les mots-clés « L-Carnitine » ; « L-Carnitine + Skin » ; « L-Carnitine+ Skin+ Cosmetic » et « L-Carnitine + Skin + Cosmetic + 2010-2023 ». Ainsi que ces principales propriétés.

Bien que déjà fréquemment cité dans les recherches bibliographiques, on constate un phénomène similaire à celui observé pour la molécule de carnosine. Cela se traduit par une prédominance significative des brevets déposés par les entreprises. Parmi les 83 publications récemment recensées, 78 sont des brevets, représentant près de 94% de l'ensemble. *La* ***Figure 7*** illustre clairement cette tendance. Parmi les entreprises les plus présentes et les plus connues, on retrouve Henkel AG (allemande), Showa Denko (japonaise), Chanel (française) et Symrise (allemande).

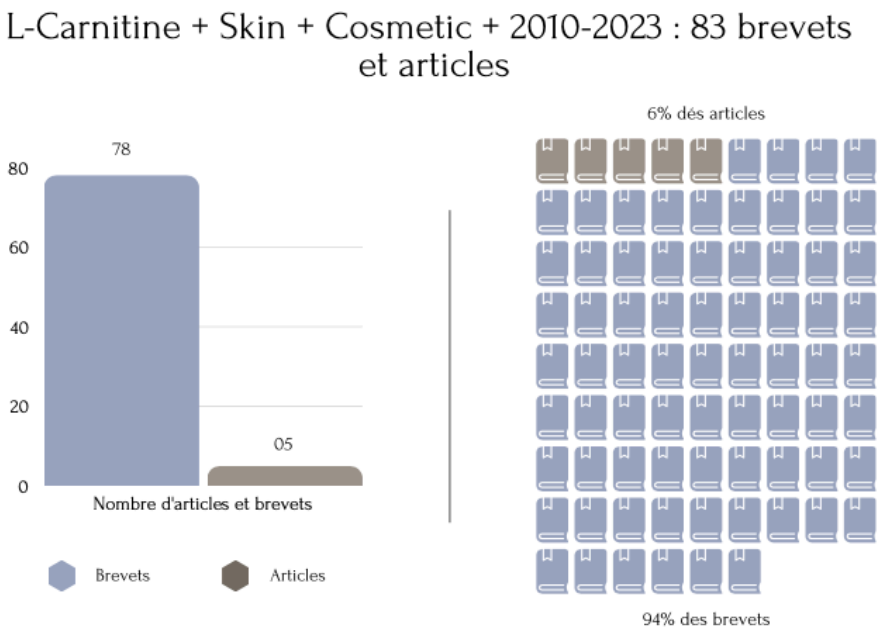


Figure 7 : *Recherche bibliographique.*
Concernant le nombre d'articles et brevet. Les mots-clés « L-Carnitine+ Skin+ Cosmetic ».

En ce qui concerne les principales caractéristiques de la carnitine, identifiées au cours des 78 publications couvrant la période de 1990 à 2023, on distingue les propriétés suivantes : amincissement du corps/anti-cellulite, représentant 26%, et anti-âge (production de collagène, renforcement de la barrière cutanée, antioxydant et anti-glycation), également à hauteur de 26%. On observe également la biodisponibilité, notée à 15%, avec des applications dans l'amincissement du visage à 14%, les soins capillaires à 11%, et l'éclaircissement cutané à 8%. La majeure partie des activités liées à la carnitine se divise entre ses propriétés amincissantes pour le corps ou le visage et ses propriétés anti-âge, ***Figure 6***.

Un autre sujet qui semble actuellement crucial concerne la délivrance et la biodisponibilité de ces actifs. Il est essentiel de s'assurer qu'ils parviennent efficacement à leur cible de la façon plus stable possible. Comme déjà discuté antérieurement les techniques utilisées pour booster ses activités sont : l'encapsulation (Trookman *et al.*, 2009), l'électroporation (Nakanishi, 2021), la lyophilisation (Miyamoto, Oda and Goto, 2019), les injections pour augmenter l'efficacité (Jeongdaejun and Byeonyunseon, 2020), le microparticule (Gebrauchsmusterschrift, 2013) et l'hydrogel réticulée (Solé *et al.*, 2017). Sinon les autres types de formes rencontrées contenant la carnitine sont : les crèmes H/E , gel aqueux , masque, patch et rouge lèvre.

Pour la suite, nous étudierons les principales propriétés de la L-carnitine lorsqu'elle est appliquée dans des produits cosmétiques, notamment à travers (***a) des études amincissantes, et des (b) recherches sur ses propriétés anti-âge.***

(a) Études amincissantes

La carnitine est souvent associée à des propriétés amincissantes en raison de son rôle dans le métabolisme des graisses. Son action principale réside dans le transport des acides gras à longue chaîne à travers la membrane mitochondriale, facilitant ainsi leur utilisation comme source d'énergie via la bêta-oxydation. En stimulant la lipolyse, la carnitine contribue à la décomposition des triglycérides, favorisant la libération d'acides gras et de glycérol. Certains suppléments de carnitine sont également commercialisés pour améliorer la performance physique en augmentant l'oxydation des graisses pendant l'exercice, ce qui peut potentiellement soutenir la réduction de la masse grasse. Des études suggèrent que la carnitine pourrait aussi jouer un rôle dans la réduction de l'accumulation de graisse dans les cellules adipeuses en régulant divers processus métaboliques.

Les études citées ont pour objectif principal l'augmentation du métabolisme de graisses du corps et comme conséquence l'obtention d'un effet anti-cellulite. Lorsque le tissu connectif entre les adipocytes souffre une certaine pression et crée l'effet classique de « fossette » et de fibrose cutanée, on parle de cellulite. La cellulite commence généralement à se former après la puberté et est provoquée et exacerbée par un certain nombre de facteurs tels qu'une intégrité cutanée réduite, une fibrose, une hypertrophie graisseuse, une perte de liquide. Un brevet American de 2022 met en place des formulations aqueuses en présence la carnitine dans l'objectif d'empêcher l'accumulation de graisse (cellulite) (Raper, 2022). Ces résultats ont été confirmés par un brevet de 2022 de COSMED Pharmaceutical (Quan, Hara and Kamiyama, 2022). L'invention concerne à une préparation sous forme de bande, de patch ou de cataplasme comprenant un ou plusieurs éléments, parmi ces ingrédients, un agent décomposant des graisses et un agent favorisant le métabolisme des graisses. Cette préparation est spécifiquement conçue pour contribuer à la réduction des graisses, à l'amincissement et/ou au raffermissement partiel de la peau. Une autre invention propose une formulation cosmétique pour réduire l'aspect extérieur de la cellulite ou de la « peau d'orange », la formulation étant - 0,1 à 10 % en poids de caféine, - 0,1 à 10 % en poids de L-carnitine, - 0,1 à 10 % en poids d'un extrait de Centella Asiatica sous forme de liposomes (Teichmueller, 2011). Ces dernières études

démontrent les résultats et l'utilisation actuelle de la L-carnitine dans l'industrie, notamment en tant qu'amincissant.

(b) Études anti-âge

En ce qui concerne les propriétés anti-âge de la carnitine, plusieurs aspects ont été identifiés, notamment son effet amincissant sur le visage, son rôle dans le renforcement de la barrière cutanée, son implication dans l'augmentation de l'élastine, collagène, et ses propriétés antioxydantes (Fox *et al.*, 2011)

Bien que nous ayons déjà abordé les propriétés amincissantes précédemment, l'objectif principal est d'exploiter l'augmentation du métabolisme des graisses pour obtenir des effets bénéfiques sur le visage. Cela peut se traduire par une meilleure définition des contours, une atténuation des rides, et même un aspect plus tonique. Une étude de 2019 a utilisé la carnitine comme composant pour le contour des yeux, visant à réduire les graisses et à prévenir l'apparition de poches et de "bajoues" situées sous le menton, une zone propice à l'accumulation de graisse (Zhang, 2019). Cette étude a employé un mélange de thé vert et de carnitine, présenté sous forme de crème, pour obtenir des résultats, ainsi qu'un mélange de polyphénol et de carnitine (Pei and Shi, 2018).

En ce qui concerne l'effet sur la barrière cutanée, un dérivé de la carnitine (2-hexyldecanoyl L-carnitine) a démontré sa capacité à favoriser la synthèse du collagène et de l'élastine, ainsi qu'à améliorer la fonction barrière de la peau (Ryota, Risa and Yuko, 2015). Une étude de 2011 a également travaillé sur une formulation axée sur la régénération tissulaire, confirmant, à partir de biopsies de peau, une augmentation significative des marqueurs de cicatrisation épidermique et conjonctive, tels que le collagène de type I et le collagène de type IV, entre autres (Gennero *et al.*, 2011). Les brevets de SHISEIDO (Honda *et al.*, 2011) et de MARTIN ROSLAIN MARGARET (Martin, 2014) ont également démontré les bénéfices de la carnitine pour renforcer la barrière cutanée.

Des autres études ont travaillé aussi sur l'influence du métabolisme mitochondrial de la carnitine sur la peau. Avec le temps la fonction mitochondriale entraîne une diminution de l'activité métabolique en général et les conséquences sont notablement une modification sur la structure de la peau et des cheveux. La principale fonction de la L-carnitine est de faciliter le transport des acides gras à longue chaîne à travers la membrane mitochondriale. Ces acides

gras sont utilisés dans le processus de bêta-oxydation, qui génère de l'énergie dans les mitochondries. Un métabolisme énergétique efficace peut favoriser la vitalité des cellules cutanées. Une autre raison est que la carnitine favorise aussi la production d'énergie ce qui facilite le transport des acides gras vers les mitochondries. Une énergie cellulaire adéquate est cruciale pour le maintien des fonctions cellulaires normales, y compris celles des cellules cutanées. Ces études ont pu être identifiées sur les brevets (Giesen and Fuhrmann, 2012) et (Blass, Pratt and Cosentino, 2013).

En conclusion, les études bibliographiques des principales propriétés de la L-carnitine appliquée dans les produits cosmétiques, démontrent des effets amincissants et des recherches sur ses propriétés anti-âge, offrent des perspectives prometteuses pour son utilisation dans l'industrie de la cosmétique.

Dans la section suivante, nous aborderons les éventuelles recherches sur l'application combinée de la L-carnosine et de la L-carnitine dans le domaine de la cosmétique. Après avoir exploré certaines caractéristiques de la L-carnosine et ses applications cosmétiques, nous nous concentrerons dans cette section sur la L-carnitine. Nous débuterons en analysant sa structure chimique ainsi que son contexte général, puis nous passerons en revue les études bibliographiques disponibles avant d'explorer ses propriétés dans le domaine de la cosmétique, conformément à la bibliographie.

2.4.3. L-carnosine + L-carnitine

Après avoir examiné les propriétés de la L-carnosine et de la L-carnitine de manière indépendante, nous passerons à une recherche bibliographique visant à étudier la synergie de ces deux actifs.

Pour démarrer la recherche bibliographique, nous avons d'abord utilisé le mot clé "carnosine", puis nous avons filtré les résultats en ajoutant le terme "carnitine" afin de trouver des études combinant ces deux actifs. Ensuite, nous avons affiné la recherche avec les mots-clés "skin" + "cosmetic", ce qui a abouti à l'identification de seulement 7 brevets. Comme cela si voit sur la ***Figure 8***. Il est à noter que la plupart de ces brevets ne mentionnent pas de manière explicite l'utilisation conjointe de ces deux actifs. Ils sont plutôt listés parmi les actifs testés, sans indications claires sur leur combinaison. Il est important de souligner que ces informations, provenant de brevets, ne sont pas forcément toujours exhaustives et précises.

En revanche, l'un de ces brevets a utilisé un mélange de L-carnosine, de L-carnitine et acide lipoïque sous forme de liposomes, destinés à une application topique classique ou par micro-courant. Les pourcentages spécifiés dans ce brevet oscillent entre 1% et 5% pour l'acide lipoïque, la carnosine ou la carnitine. Ce produit, intitulé « Resculpting neck & body serum », est commercialisé par la marque américaine Tracie Martyn, au prix de $86/54g (Morariu, 2006). Les autres brevets identifiés appartiennent à des entreprises telles que COTY, BEIERSDORF, SYMRISE et Australian Importers.

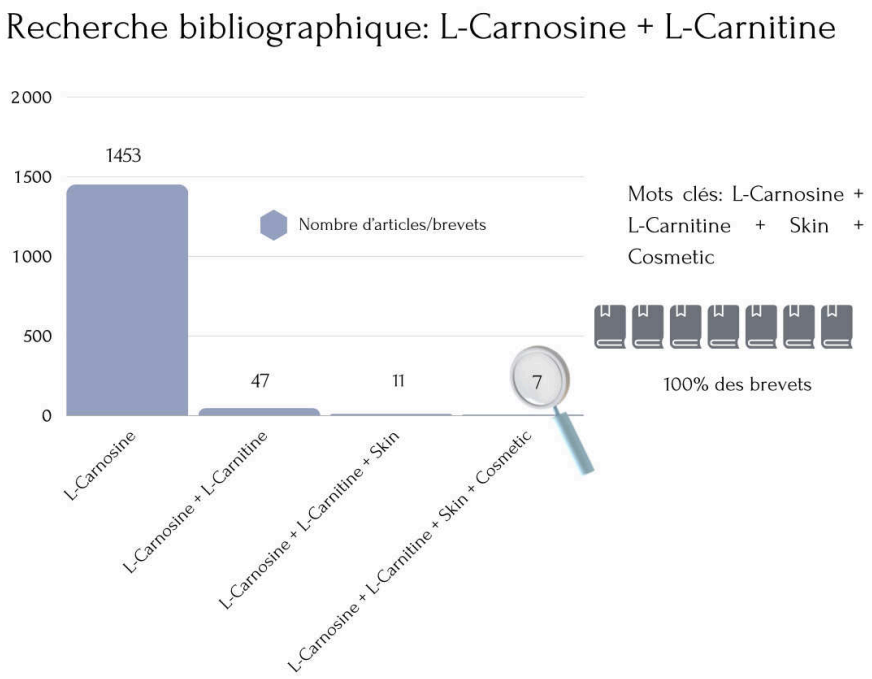


Figure 8: *Recherche bibliographique L-Carnosine + L-Carnitine.*
Avec les mots-clés « L-Carnosine » ; «L-Carnosine + L-Carnitine » ; « L-Carnosine + L-Carnitine+ Skin » et « L-Carnosine + L-Carnitine+ Skin + Cosmetic ».

Après avoir étudié les recherches bibliographiques sur la L-carnosine, la L-carnitine et leurs associations, nous constatons la possibilité d'associer ces différents actifs pour obtenir des propriétés anti-âge. Cependant, il est intéressant de noter qu'il y a actuellement un manque d'études se concentrant sur l'utilisation de ces deux molécules en association dans le domaine du traitement de la peau ou de la cosmétique. Ces constatations nous encouragent à poursuivre nos travaux sur le marché cosmétique, afin de mieux comprendre si celui-ci demeure ouvert à ces deux actifs. Nous envisageons d'explorer plus en détail, les tendances du marché et les opportunités de développement de ces produits, afin de déterminer la viabilité et le potentiel commercial de l'intégration de la L-carnosine et de la L-carnitine dans les produits cosmétiques.

2.5. Cosmétiques avec les actifs CAS et CAT

2.5.1. L-carnosine

Par suite d'une analyse du marché des produits cosmétiques contenant de la carnosine, il a été observé que 100 % des produits identifiés sur le marché sont axés sur des propriétés anti-âge. Ils mettent en avant leurs propriétés antioxydantes et anti-glycation. Une caractéristique notable concerne la moyenne des prix de ces produits, qui se situe autour de 130,00 €. La majorité de ces produits sont issus de maisons de luxe telles que SHISEIDO et LA PRAIRIE. Une justification potentielle de ces prix élevés réside dans la valeur de la carnosine, qui est significativement plus élevée que celle de la carnitine. Selon l'INCI Beauty, la carnosine est présente dans 0,33% des produits cosmétiques Tableau 7 Le ***Tableau 7*** explique en détails les produits trouvés dans le marché cosmétique.

Produits (Carnosine)	Marques et Groupes	Nom des produits	Type de produits	Actions	Prix
	SHISEIDO	Benefiance Nutriperfect	Soin visage	Anti-âge	110,00 €
	SHISEIDO	Soin Force Integral	Soin visage-homme	Anti-âge	69,00€
	ESTÉE LAUDER	Advanced Time Zone	Soin visage	Anti-âge	67,00€
	LA PRAIRIE Beiersdorf	Skin Caviar Creme Luxe	Soin visage	Anti-âge	357,88€
	LA PRAIRIE Beiersdorf	Skin Caviar Lift Regard	Soin visage	Anti-âge	350,50€

	ESTHEDERM Naos	Active Repair Crème Correctrice Rides	Soin visage	Anti-âge	67,00€
	LA ROCHE-POSAY L'Oréal	Derm AOX - Soin Multi-Correcteur	Soin visage	Anti-âge	22,34€
	ISDIN	Isdinceutics A.G.E. Reverse Soin Visage Remodelant	Soin visage	Anti-âge	60,59€

Tableau 7: *Liste des principaux produits cosmétiques. La carnosine en tant qu'actif anti-âge, incluant la marque, le nom du produit, son action et le prix.*

En ce qui concerne les fournisseurs d'ingrédients, nous avons identifié actuellement un total de 17 fournisseurs, parmi lesquels 8 fournisseurs proposent de la carnosine sans mélange (PROSPECTOR, 2023b). Les huit fournisseurs de carnosine pure sont les suivants : Hangzhou Rebtech Novel Material Co., Ltd; Symrise; COSROMA ; ACTYLIS ; Tiedron Bioworks ; Shenzhen Winkey Technology Co, Ltd ; Spec-Chem Industry Inc et Uniproma. Les autres fournisseurs se concentrent sur des mélanges dans le but d'optimiser les actions anti-âge. Ces mélanges comprennent généralement d'autres antioxydants et des extraits de plantes, comme c'est le cas du LIP-82 chez NanoVec. Certains sont également des mélanges avec d'autres peptides, tels que SpecPed® WA Lift, SpecPed® EyesCare, SpecPed® WA, SpecPlex® Gloss de chez Spec-Chem Industry. Une approche galénique liposomale, visant une meilleure efficacité et biodisponibilité, est également proposée, comme c'est le cas avec l'Ameliox™ de chez Mibelle. Tous ces fournisseurs offrent des actifs dans le but de retarder le processus de vieillissement de la peau. Le ***Tableau 8,*** ci-dessous fournit davantage de détails concernant l'actif, carnosine.

Nom commercial	Fournisseur	Nom INCI	Description	Actions
L-Carnosine	Hangzhou Rebtech Novel	Carnosine	Une molécule prometteuse dans la lutte contre le vieillissement (anti-glycation et anti-oxydant), car la carnosine ne protège pas	Anti-âge

	Material Co., Ltd.		seulement les composants cellulaires, mais peut améliorer l'aspect visuel, réduire les rugosités et les ridules. Elle maintient également la fonction barrière de la peau, à la fois par une simple hydratation et par des effets complexes dans la cicatrisation des plaies.	
Dragosine®	Symrise	Carnosine	Un peptide anti-vieillissement multifonctionnel identique à celui de la nature. Il stoppe les dommages oxydatifs en agissant comme un agent antioxydant, un piège à ROS, un chélateur d'ions métalliques et il stimule la synthèse du collagène.	Anti-âge
Alistin®	Cosphatech LLC	Decarboxy Carno sineHCl	Il prévient et répare les lésions des tissus cutanés. Il peut être utilisé dans une large gamme d'applications cosmétiques, notamment les soins solaires, les soins de la peau et les produits anti-âge.	Anti-âge
Ameliox™	Mibelle AG Biochemistry	Lecithin ; **Carnosine** ; Tocopherol ; Silybum Marianum Fruit Extract ; Glycerin ; Alcohol ; Water	Il est une préparation liposomale combinant la carnosine, une substance antioxydante et anti-glycation, avec 2 puissants antioxydants solubles dans l'huile (silymarine et tocophérol). Elle peut retarder le processus de glycation et prévenir le vieillissement oxydatif. Ameliox™ peut être appliqué comme une formule protectrice, peut être utilisé sur le visage, le décolleté et les yeux pour réduire les rides et dispose de produits avancés anti-âge et anti-glycation.	Anti-âge
SpecPed® WA Lift	Spec-Chem Industry Inc	Arginine ; Acetyl Hexapeptide-8 ; Dipeptide Diaminobutyroyl Benzylamide Diacetate ; Hexapeptide ; **Carnosine** ; PPG-26-Buteth-26 ; PEG-40 Hydrogenated Castor Oil ; Water ; Butylene Glycol ; 1,2-Hexanediol ;	Il est une solution de peptides complexes multifonctionnels solubles dans l'eau. Il contient trois types de peptides NIP. Il inhibe la libération des neurotransmetteurs, ralentit la contraction excessive des muscles du visage, réduit les ridules dynamiques et les rides d'expression.	Anti-âge

		Ethylhexylglyceri n		
LIP-82	NanoVec	Water ; Phospholipids ; Cinnamomum Zeylanicum Bark Extract ; Ilex Paraguariensis Leaf Extract ; Centella Asiatica Extract ; **Carnosine** ; Caffeine ; Sodium Ascorbyl Phosphate ; Tocopheryl Acetate	Il est composé de phospholipides. Ces systèmes de livraison naturels encapsulent et transportent la cannelle, le Yerba Mate, la Centella Asiatica, la carnosine, la caféine, la vitamine C et la vitamine E vers les cellules cibles. Ce mélange exclusif d'ingrédients actifs constitue un puissant produit amincissant et anti-cellulite qui contribuera également à réduire la glycation.	Amincissant et Anti-âge
Gransome Hepta-peptide-7	Grant Industries, Inc.	Water ; **Carnosine** ; Glycerin ; Heptapeptide-7 ; Xanthan Gum ; Propanediol ; Lecithin ; Citric Acid ; Sodium Benzoate ; Potassium Sorbate	Ils sont des phospholipidiques. Le peptide actif est dérivé d'une protéine naturelle de cicatrisation des plaies ayant une activité similaire à celle de l'EGF. Ce mécanisme d'administration permet une meilleure perméation et une biodisponibilité prolongée des peptides actifs, offrant ainsi la meilleure opportunité d'améliorations visibles sur la peau.	Anti-âge
Trimoist™ KMF	Mibelle AG Biochemistry	Sodium Stearoyl Lactylate ; Cetyl Alcohol ; Olus Oil ; Tocopheryl Acetate ; Glycine Soja (Soybean) Sterols ; Glycerin ; Sodium Carboxymethyl Beta-Glucan ; Sodium Lactate ; **Carnosine** ; Lactic Acid ; Water	L'actif KMF est composé d'un film protecteur, d'une barrière lipidique lamellaire, d'humectants et complété par un facteur anti-âge qui inhibe la formation des Advanded Glycation End Product (AGEs).	Anti-âge

Tableau 8: *Liste de principaux fournisseurs.*
L'actif carnosine et ses mélanges pour les produits cosmétiques (PROSPECTOR, 2023b).

2.5.2. L-carnitine

Après une étude de marché portant sur la L-carnitine, nous avons constaté une plus grande diversité d'applications pour les produits, par rapport à la L-carnosine. Nous constatons une diversité d'applications plus importante, telles que la protection solaire, les lotions toniques, les crèmes anti-âge, les gels amincissants et même les produits antichute pour les cheveux. Une autre particularité est le prix des produits, qui est beaucoup plus raisonnable que celui des

produits contenant de la L-carnosine. Les prix varient en moyenne autour de 18,00 €, sachant que le prix de la L-carnitine est également moins élevé. Selon le site Beauty INCI, cet actif est présent en moyenne dans 0,13 % des cosmétiques sur le marché (*CARNITINE - Ingrédient INCI Beauty*, 2023). La liste des principaux produits cosmétiques que contiennent de la L-carnitine sont dans le ***Tableau 9***.

Produits	Marques et Groupes	Nom des produits	Type de produits	Actions	Prix
	EUCERIN Beiersdorf	Gel-crème Contrôle de l'Huile	Protection solaire (SPF 50)	Protection UV	16,01€
	NIVEA Beiersdorf	Derma Skin Clear Tonique Anti-Imperfections avec Acide Salicylique et Niacinamide	Lotion tonique visage	Anti-âge (renouvellement cellulaire)	16,97€
	NIVEA Beiersdorf	Gel-crème raffermissant Tonifiant au Q10 + L-carnitine	Soin corps	Amincissant	21,70€
	CHRISTIAN LAURENT	Crème premiers signes du vieillissement 35+	Soin visage nuit	Anti-âge	11,20€
	ROC Johnson & Johnson	Gel Retinol Anti-Cellulite Soin Hydratant Amincissant	Soin corps	Amincissant	27,00€
	BIOPOINT	Traitements Antichute et Antipelliculaire	Ampoules en gel	Antichute cheveux	15,41€

Tableau 9: *Liste des principaux produits cosmétiques contenant de la carnitine.*

En tant qu'actif amincissant, anti-âge et antichute. Incluant la marque, le nom du produit, le prix et son action.

Actuellement sur le marché cosmétique, nous avons identifié 14 fournisseurs proposant de la L-carnitine. Ces fournisseurs sont les suivants : Asland, COSROMA, Crodarom, DKSH, DSM-Firmenich, Ecoori, Evonik, INABATA, Lipotec, Mibelle AG, Nano Vec, Sederma, Shanghai GREAF et Sharon (PROSPECTOR, 2023a). Pour commercialiser la L-carnitine, ils mettent en avant les propriétés suivantes : actions amincissantes, anti-âge et antichute de cheveux.

Il est important de signaler qu'il y a seulement deux fournisseurs (COSROMA et GREAF Shangai) d'ingrédients qui proposent la L-carnitine toute seule. Les autres fournisseurs utilisent des mélanges des actifs pour potentialiser les actions de la L-Carnitine comme la caféine entre autres pour son coté amincissant LIP-15 de Chez NanoVec ou VECTICELL® Lipolysis de chez DKSH). Sinon un mélange des actifs avec des autres acides-amines pour potentialiser le coté anti-âge (Natori Amino Sol 0.1(C) HD). Les fournisseurs utilisent aussi différentes formes galéniques pour pouvoir optimiser la perméabilité et la biodisponibilité avec des liposomes, c'est le cas des ingrédients LIP-15 ou VECTICELL® Lipolysis. ***Tableau 10***

Nom commercial	Fournisseur	Nom INCI	Description	Actions
Cosroma Carnitine	COSROMA	Carnitine	Hydratation, regenration de la peau et peut être utilisé comme réparateur de kératine. *	Anti-âge
Slimauty® CARN	GREAF (Shangai)	Carnitine	Accélération du métabolisme des graisses. Effet amincissant. *	Amincissant
LIP-15	NanoVec	Water ; Phospholipids ; Caffeine ; **Carnitine** ; Methylsilanol Mannuronate ; Tocopheryl Acetate ; Coenzyme A ; Phenoxyethanol ; Caprylyl Glycol	Ces systèmes de support liposomale pour créer un puissant ingrédient actif amincissant et anti-cellulite. ***	Amincissant
Vecticell® Lipolysis	DKSH	Water ; Phosphatidylcholine ; **Carnitine** HCl ; Propylene Glycol ; Caffeine ; Sodium Deoxycholate ; Cholesterol ; Xanthan Gum ; Dehydroacetic Acid ; Benzyl Alcohol	Un système de support liposomale contenant trois ingrédients actifs pour réduire le plus efficacement possible les tissus adipeux, stimuler la microcirculation et améliorer l'élasticité et la fermeté de la peau.***	Amincissant
Natori Amino Sol 0.1(C) HD	Ecoori	Glutamine ; Leucine ; Phenylalanine ; Arginine ; Lysine HCl ; Proline ; Aspartic Acid ; Valine ; Glycine ; Isoleucine ; Threonine ;	Les 20 acides aminés fournissent des nutriments aux cellules de la peau et aident à activer les fibroblastes cutanés, contribuant ainsi à	Anti-âge

		Histidine ; Serine ; Alanine ; Methionine ; Tryptophan ; Tyrosine ; Cysteine ; Taurine ; **Carnitine** ; 1,2-Hexanediol ; Water	maintenir le pouvoir hydratant de la peau.	
Capauxein ™ G2	Ashland	Water ; Glycerin ; Hydrolyzed Corn Protein ; Adenosine ; Magnesium Ascorbyl Phosphate ; **Carnitine**	Il s'inspire du « hair fullness system™ » associé à la densité capillaire.**	Antichute cheveux
Sharoderm Carnoxyn	Sharon Personal Care Srl	Water ; **Carnitine** Fumarate ; Sodium Pyruvate ; Succinic Acid ; Citric Acid	Il a une action métabolique sur les cellules de la peau, stimulant la tonification des tissus cutanés. C'est un produit à usage cosmétique qui possède une forte capacité de pénétration grâce aux substances qui le composent.**	Anti-âge

Tableau 10: *Liste de principaux fournisseur proposant la L-Carnitine. *forme poudre, ** forme liquide, *** forme pâteux(liposome) (PROSPECTOR, 2023a).*

2.6. Conclusion des actifs

Suite à cette recherche bibliographique et cette étude de marché sur la L-carnosine et la L-carnitine, nous avons pu confirmer la possibilité d'utilisation de ces deux actifs, que ce soit en combinaison ou de manière isolée.

En termes d'action, notre attention s'est portée sur l'activité anti-glycation et antioxydante de la L-carnosine, puis sur les effets amincissants pour le visage de la L-carnitine, en plus de sa capacité à renforcer la barrière cutanée par la production d'élastine et de collagène. Toutes ces propriétés réunies ont le potentiel d'avoir des effets anti-âge. Cependant, des tests d'objectivation sont toujours importants pour prouver l'efficacité des actifs.

Comme mentionné précédemment, même si le choix de l'actif est crucial, il est également essentiel de prendre en compte la méthode de délivrance. Concernant la délivrance de ces actifs par administration cutanée, trois stratégies sont possibles afin d'améliorer la pénétration (Liu *et al.*, 2022) :

- ***Modifier la perméabilité et la qualité de la couche du stratum* corneum (SC).** Cela signifie que cette stratégie vise à modifier la barrière cutanée pour favoriser une meilleure pénétration des actifs à travers la peau. Cela peut être réalisé en utilisant des

agents qui modifient la structure de la couche cornée, permettant ainsi une meilleure diffusion des actifs. Tel que l'utilisation d'agents hydratants, de kératolytiques, entre autres

- ***Modification chimique des peptides candidats afin d'améliorer la liposolubilité***. Cela signifie à modifier chimiquement les peptides pour les rendre plus lipophiles, ce qui facilite leur passage à travers la barrière lipidique de la peau. En rendant les peptides plus liposolubles, ils peuvent mieux traverser les couches de la peau et atteindre les cellules cibles.
- ***Stratégie de formulation visant à améliorer l'absorption cellulaire et la perméabilité des peptides***. Cela implique l'utilisation de différentes formes galéniques telles que les liposomes, les nano-émulsions, ou d'autres types de formulations.

Parmi toutes ces stratégies, nous avons choisi une approche basée sur un type de formulation particulier. Nous avons opté pour des émulsions très concentrées en eau dans l'huile, une galénique innovante qui permet l'incorporation d'une grande quantité d'actifs hydrophiles. Cette formulation se distingue par sa capacité d'enrobage et de protection des actifs, ainsi que par sa capacité à assurer une libération continue des actifs. Toutes ces raisons en font un véhicule potentiellement efficace pour les actifs. Nous analyserons plus en détail les émulsions très concentrées dans la suite de notre étude. Le prochain sous-titre abordera l'importance des émulsions, de leur stabilité et on comprendra mieux le choix des émulsions très concentrée eau dans huile.

3. GENERALITÉS SUR LES EMULSIONS

Une émulsion est le résultat de la combinaison de deux liquides qui, en principe, ne se mélangent pas naturellement en raison de leur immiscibilité. Du point de vue thermodynamique, cette combinaison est instable, ce qui signifie que ces deux liquides ont naturellement tendance à se séparer plutôt qu'à se mélanger de manière homogène. Pour surmonter cette instabilité, des molécules appelées tensioactifs ou émulsifiants sont souvent utilisées. Ces tensioactifs ont pour objectif de réduire la tension superficielle entre les deux liquides et de créer une liaison entre les deux phases autrement immiscibles. En conséquence, les émulsions ainsi formées deviennent stables du point de vue cinétique, ce qui signifie qu'elles conservent leur homogénéité pendant une longue période (Desplan, 2018).

Les émulsions peuvent être classées en fonction de plusieurs critères, notamment leur **taille de gouttelettes**, leur **« sens »** (émulsion huile dans eau ou émulsion eau dans huile) et leur **volume de phase dispersé.**

3.1. Taille des gouttelettes

Les émulsions, notamment les **macroémulsions** ou émulsions classiques, sont généralement caractérisées par des gouttelettes dont la taille dépasse souvent un micromètre. La taille des gouttelettes dépend en grande partie du processus d'émulsification utilisé, comme décrit par Chevalier (Chevalier, Bolzinger and Puel, 2015a).

Par ailleurs, il est également possible d'obtenir des émulsions avec des gouttelettes de diamètre compris entre 100 nanomètres et 1 micromètre, et ces émulsions sont appelées **nanoémulsions.** Leur préparation nécessite des protocoles d'émulsification spécifiques, tels que la microfluidisation à haute consommation d'énergie ou l'inversion de phase, qui demande moins d'énergie.

En revanche, les **microémulsions** sont des systèmes thermodynamiquement stables, contrairement aux macroémulsions et aux nanoémulsions. En effet, elles sont considérées comme des systèmes monophasiques où la présence d'un tensioactif, souvent associé à un co-tensioactif, permet la coexistence des phases aqueuse et huileuse à une échelle quasi moléculaire, comme expliqué par Salager en 1999 et en 2007 (Salager and Antón, 1999) ; (Salager *et al.*, 2007). Il est essentiel de noter que les microémulsions ne sont pas nécessairement constituées de gouttelettes très petites, contrairement à ce que pensaient

Schulman en 1959 lorsqu'ils ont proposé cette définition (Schulman, Stoeckenius and Prince, 1959). Les microémulsions peuvent en réalité présenter des microdomaines dynamiques qui ne sont pas nécessairement sphériques et ont généralement une taille de l'ordre de 10 à 50 nanomètres. Par conséquent, elles sont parfois appelées microémulsions bicontinues, comme décrit par Paruta Tuarez en 2010 (Paruta Tuarez, 2010).

3.2. Sens de l'émulsion

Les émulsions se divisent en deux catégories principales **: les émulsions huile dans l'eau (H/E)** et **les émulsions eau dans l'huile (E/H)**. Dans les émulsions H/E, la phase interne ou dispersée est constituée d'huile, tandis que la phase externe ou continue est composée d'eau. Les émulsions E/H sont l'inverse, avec la phase interne composée d'eau et la phase externe d'huile. La détermination du sens de l'émulsion dépend de la nature de l'émulsifiant, comme le stipule la Loi de Bancroft énoncée en 1913 : "Un émulsifiant soluble dans l'eau donnera une émulsion huile dans l'eau, tandis qu'un émulsifiant soluble dans l'huile donnera une émulsion eau dans l'huile" (Bancroft, 1913).

Il est également possible de rencontrer des émulsions plus complexes, telles que les **émulsions doubles ou multiples** (Chevalier, Bolzinger and Puel, 2015a). Dans le cas des émulsions doubles, la phase dispersée est elle-même une émulsion. Ainsi, une émulsion de type E/H/E correspond à une émulsion eau dans l'huile, qui est ensuite dispersée dans une phase aqueuse continue. À l'inverse, il est possible d'avoir des émulsions d'huile dans eau dans huile (H/E/H) (Paruta Tuarez, 2010).

Les émulsions multiples sont généralement préparées en deux étapes distinctes :

Tout d'abord, une première émulsion simple est créée. Il est essentiel que cette émulsion soit la plus fine possible, car elle constituera la phase interne des gouttelettes des émulsions E/H/E ou H/E/H.

Dans la deuxième étape, la première émulsion est ensuite émulsionnée dans un milieu contenant de l'eau ou de l'huile. Cette étape nécessite une procédure d'émulsification particulière, car la première émulsion ne doit pas être détruite lors de la deuxième émulsification. De plus, la taille des gouttelettes de la deuxième émulsion doit être significativement plus grande que celle de l'émulsion primaire (Chevalier, Bolzinger and Puel, 2015b)

3.3. Volume de la phase dispersée

Les émulsions peuvent être classées en fonction de quatre domaines, en tenant compte du volume de la phase dispersée. Ces domaines comprennent : **(*a) la dispersion diluée, (b) les dispersions de densité moyenne, (c) la dispersion concentrée, et enfin, (d) le domaine de la dispersion hyperconcentrée***.

Il est important de noter que la viscosité relative (η relative) des émulsions varie en fonction de la présence de polymères ou d'épaississants, principalement en fonction des valeurs de la fraction volumique (Φ). Lorsque la fraction volumique se rapproche de sa valeur critique (Φ_c) dans le domaine de la dispersion hyperconcentrée, la viscosité a tendance à augmenter de manière significative, ce qui signifie que la dispersion gagne en masse. En revanche, lorsque la fraction volumique se situe entre 0 et Φ_0, la courbe présente une certaine linéarité dans le domaine de la dispersion diluée. En d'autres termes, elle affiche un comportement très proche de celui d'un fluide newtonien, voire totalement newtonien (c'est-à-dire, similaire à un liquide) (Couarraze, Grossiord and Huang, 2014), ***Figure 9***.

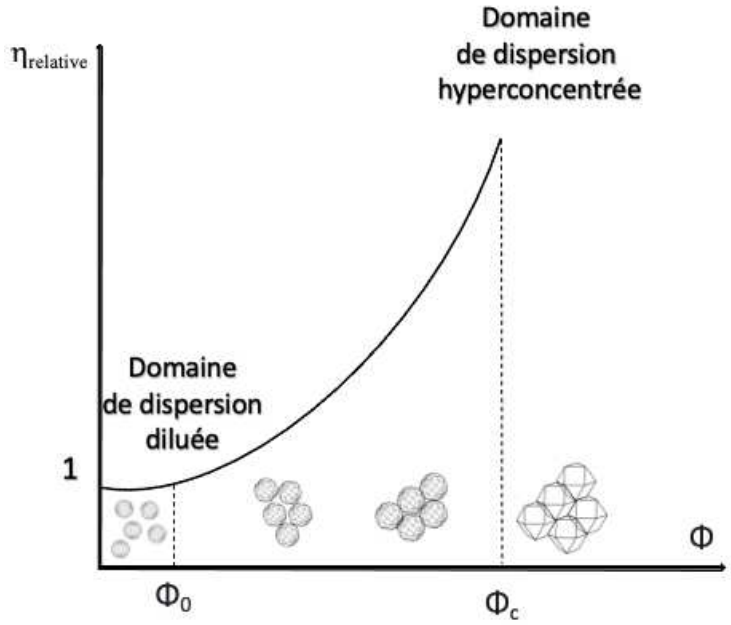


Figure 9: *Graphique sur le domaine de dispersion.*
Viscosité relative (η relative) en fonction du rapport entre le volume dispersé et le volume total (fraction volumique).

(a) Domaine de dispersion diluée

Les caractéristiques dans ce domaine sont que les gouttelettes ont une fraction volumique (Φ) que varie entre 0,01 à 0,2. Les particules n'ont pas d'interaction dû à l'éloignement entre eux. L'absence de ces interactions attractives permet d'avoir des particules non floculées, ça

veut dire agrégées les unes aux autres. Les particules sont considérées comme sphériques rigides donc indéformables. La viscosité relative (μ_r) est donnée en fonction de la fraction volumique de la phase dispersé (Φ_v) par la loi d' Einstein, comme on peut le voir *sur* ***Équation 1.*** Une viscosité liquide sur le domaine de dispersion diluée est attendue (Couarraze, Grossiord and Huang, 2014).

$$\mu_r = \mu_0 \ (1 + 2{,}5\Phi))$$

Équation 1: *Équation d'Einstein-Perrin*

(b) Domaine de dispersion moyenne

Ce domaine est connu pour être le domaine de la croissance infinie de la viscosité, entre la fraction volumique Φ_0 à Φ_c. Comme montre la ***Figure 9.*** Des études démontrent que quand le volume de la phase interne atteint les 68%, les gouttelettes sont toujours sphériques et ont toujours une certaine liberté de mouvement. En revanche, différemment du domaine de dispersion diluée, les gouttelettes commencent à souffrir d'interactions interparticulaires et des interactions extérieures. Les forces qui influencent les particules sont : Les forces d'agitation thermique, les forces hydrodynamiques de la phase continue et les forces entre particules, van der Waals et/ou le liaison Hydrogène. Ces forces sont responsables des possibles instabilités (floculation). La viscosité relative en fonction la fraction volumique des dispersions moyenne et concentrée sont décrites par différents auteurs. Les équations fréquemment citées sont l'équation de Dougherty-Krieger et l'équation de Mooney. ***Équation 2*** et ***Équation 3*** (Woods and Krieger, 1970); (Mooney, 1951).

$$\boldsymbol{\mu_r = \left[1 - \frac{\Phi}{\Phi^c}\right]^{-\alpha\Phi_c}} \qquad \boldsymbol{\mu_r = exp\left[\frac{\alpha\Phi}{1 - \left(\frac{\Phi}{\Phi_c}\right)}\right]}$$

A ***B***

- μ_r *: Viscosité relative*
- Φ *: Fraction volumique*
- Φ_c *: Fraction volumique critique*
- α *: Paramètre de forme (exemple : sphère=2,5)*

Équation 2: *Équation A de Dougherty-Krieger*
Équation 3: *Équation B de Mooney*

(c) Domaine de dispersion concentrée

Pour une dispersion de sphères dures monodispersé avec une fraction volumique entre 0,68 et 0,74 de phase interne, les gouttelettes commencent à avoir un certain empaquetage. Dans ce moment le système a une forte tendance à l'instabilité car les gouttelettes ne sont pas encore déformées. Dans ce cas c'est une suspension de compacité maximale donnant à un réseau compact, où chaque sphère est au contact de 12 sphères adjacentes, ***Figure 10C.***

Différemment du domaine de dispersion diluée, les gouttelettes souffrent d'interactions interparticulaires et des interactions extérieures. Les forces qui influencent les particules sont : Les forces d'agitation thermique, les forces hydrodynamiques de la phase continue et les forces entre particules, van der Waals et/ou le liaison Hydrogène. Ces forces sont responsables des possibles instabilités (Solano, 2018).

(d) Domaine de dispersion hyperconcentrée

Les dispersions sont considérées fortement concentrées lorsque la fraction volumique dépasse sa valeur critique (Φc). À partir d'une fraction volumique de 0,74, les gouttelettes subissent une déformation et prennent une forme polyédrique. Ces particules liquides passent d'une forme sphérique à une forme dodécaédrique, permettant ainsi à la fraction volumique de s'approcher au maximum de 1,0. Même avec une fraction volumique très élevée, les gouttelettes conservent leur individualité et sont séparées les unes des autres par un film très mince de phase externe. Sur le plan rhéologique, les dispersions hyperconcentrée se comportent comme un liquide plastique. Elles nécessitent une contrainte de cisaillement élevée, appelée seuil d'écoulement, pour subir des déformations, des glissements et des déplacements. Ainsi, en dessous de leur seuil d'écoulement, elles présentent un comportement solide, tandis qu'au-dessus, elles adoptent un comportement rhéofluidifiant (Lissant, 1966); (Babak and Stébé, 2002) (Solano, 2018). On peut voir ce type de comportement sur la ***Figure 10D.***

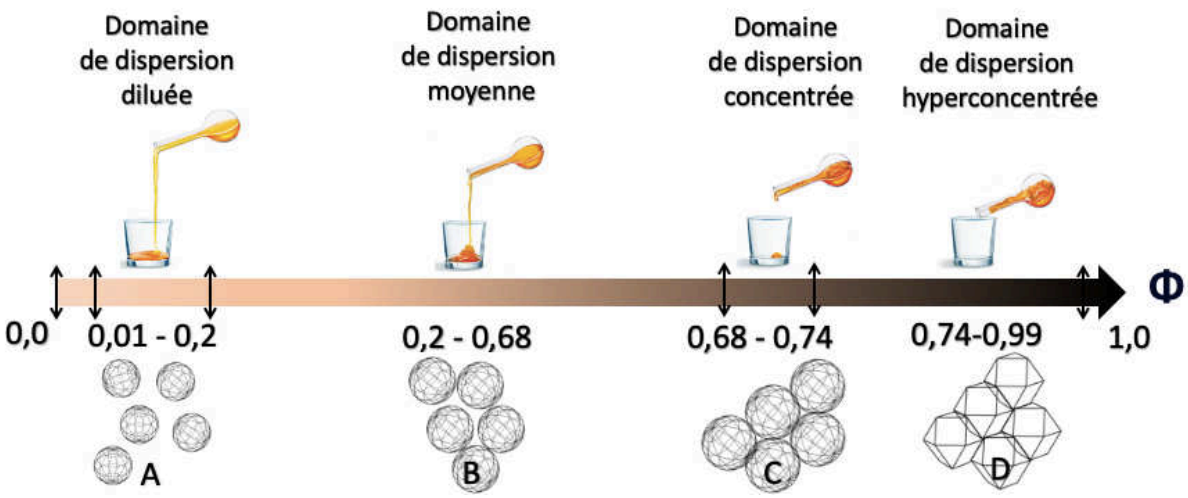


Figure 10: *Comportement schématique structurel.*
A : *Domaine de dispersion diluée ;* ***B*** *: Domaine de dispersion moyenne ;* ***C :*** *Domaine de dispersion concentrée et* ***D :*** *Domaine de dispersion hyperconcentrée (Lissant, 1966) ; (Couarraze, Grossiord and Huang, 2014).*

4. ÉMULSIONS TRÈS CONCENTRÉES - EAU DANS HUILE

4.1. Physico-Chimie des émulsions très concentrées

Dans la littérature, on retrouve différentes dénominations pour désigner les émulsions très concentrées : les "High Internal Phase Ratio Emulsions" (Lissant, 1966); (Mannheimer, 1972); (Pal, 1999); (Peker, Bora and Över, 2001), les "Highly concentrated emulsions" (Princen, 1979); (Aronson and Petko, 1993); (Babak and Stébé, 2002), les "Gels emulsions" (Kunieda *et al.*, 1987) ; (Pons *et al.*, 1993) ; (Ravey, Stébé and Sauvage, 1994) les "Hydrocarbon Gels" (Ebert, Platz and Rehage, 1988) et les "Biliquid Foams" (Sebba, 1972).

La structure d'une émulsion est influencée par divers facteurs essentiels, parmi lesquels la géométrie interfaciale des gouttelettes et leur arrangement spatial jouent un rôle majeur. Les émulsions très concentrées, généralement caractérisées par une concentration dépassant 0,74, se distinguent par la présence de gouttelettes de forme polyédrique, comme discuté précédemment. Mais il est important de souligner que le terme ETC met en avant la concentration de phase interne plutôt que la structure des gouttelettes. En d'autres termes, une émulsion contenant plus de 0,74 de phase interne n'est pas nécessairement toujours de forme polyédrique. En réalité, la distribution de la taille des gouttelettes est ce qui détermine si elles sont comprimées et/ou enchevêtrées, influençant ainsi leur comportement (Foudazi *et al.*, 2015).

La configuration de ces gouttelettes est étroitement liée à la fraction volumique, pouvant adopter des arrangements ordonnés ou désordonnés. En conséquence, la structure globale de l'émulsion est fortement conditionnée par cette fraction volumique.

Lorsque les émulsions très concentrées adoptent une structure polyédrique en raison de la compression des gouttelettes, on peut observer l'apparition de phénomènes tels que le "bord de plateau" et un "fin film inter-gouttelettes", comme illustré dans la ***Figure 11***. Le "bord de plateau" correspond à la zone où la majeure partie de la phase continue est retenue, comme le montre la ***Figure 11A***. En conséquence, une fine couche de phase continue persiste entre les gouttelettes, comme illustré dans la ***Figure 11B.***

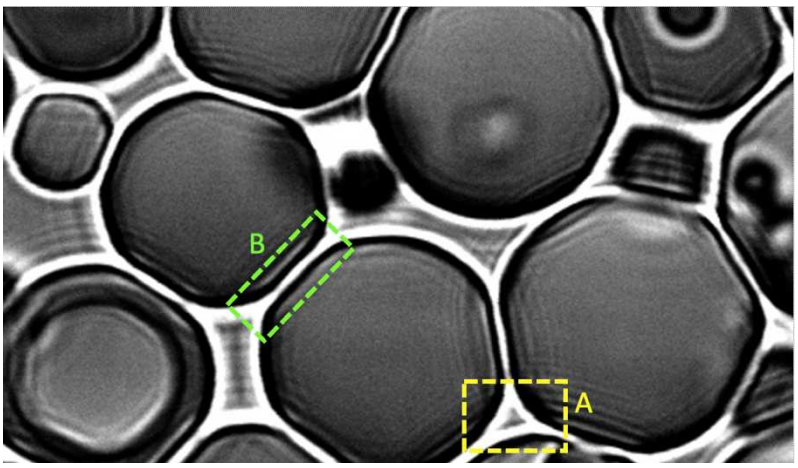


Figure 11: *Photo d'ETC au microscope confocal.*
L'image au microscope à grand focal d'une émulsion très concentrée de type eau dans huile, avec 0,88% de phase interne, présentant des gouttelettes de structure polyédrique. Mise en évidence d'un "bord de plateau" indiqué par la lettre ***A****, ainsi que la compression d'une gouttelette avec la formation d'un film huileux indiqué par la lettre* ***B.***

Pour une meilleure compréhension des émulsions très concentrées, il est essentiel de considérer deux niveaux d'analyse : le microscopique et le macroscopique. Ces deux niveaux de caractéristiques jouent un rôle dans la définition des propriétés spécifiques de chaque ETCs. En comprenant les interactions et les corrélations entre les caractéristiques microscopiques, telles que la taille et la distribution des gouttelettes, et les caractéristiques macroscopiques, comme la viscosité et la stabilité globale, il devient possible de contrôler et d'optimiser les propriétés de l'émulsion. Cette approche permet ainsi de répondre de manière plus précise aux exigences spécifiques des différentes applications industrielles, pharmaceutiques et alimentaires.

4.1.1. Caractéristiques Microscopiques

Les caractéristiques microscopiques sont classées essentiellement en trois types : **distribution de gouttelettes ; tension interfaciale et forces inter-gouttelettes possibles**.

(a) Distribution de gouttelettes

Il est important de comprendre que les gouttelettes se forment grâce à un cisaillement intense généré par un mélangeur. Cette force brise les gouttelettes en taille millimétrique, permettant ainsi d'obtenir des gouttelettes dont la distribution peut être mono ou polydispersé.

Les émulsions très concentrées (ETC) sont généralement caractérisées par leur polydispersité, qui est le résultat de la variabilité des taux de cisaillement observés dans le champ d'écoulement (Mason and Bibette, 1997) Ce cisaillement peut également entraîner la

rupture des films inter-gouttelettes, favorisant la formation de gouttelettes de plus grande taille dispersées au sein de celles de plus petite taille (Mason, Bibette and Weitz, 1996). Une autre occurrence courante et notable est lorsque les petites gouttelettes s'insèrent dans l'espace « bord de plateau » entre les gouttelettes plus volumineuses, comme démontré dans les études de Foudazi et Masalova en 2012 (Foudazi and Masalova, 2010). Pour toutes ces raisons, le choix du type de mélangeur utilisé ainsi que de sa vitesse ont une importance . Des détails plus précis concernant l'impact du taux de cisaillement seront abordés dans la section portant sur l'influence du processus.

(b) Tension interfaciale

La tension interfaciale est très importante dans les émulsions. Elle est causée par les interactions entre les différentes molécules des phases et le tensioactif utilisé. Cette tension, notée σ, dépend de la concentration du tensioactif. Le tensioactif a la capacité de former des micelles, qui sont en équilibre avec les molécules de tensioactif libres. Toutefois, une fois que la concentration de tensioactif à l'interface atteint un équilibre entre les micelles et les molécules d'agent de surface libres dans la masse, la tension interfaciale devient relativement insensible à des augmentations. Ce seuil est appelé concentration micellaire critique, ou CMC (Foudazi *et al.*, 2015).

La qualité de la tension interfaciale repose principalement sur deux facteurs clés : ***1)*** les types et les forces des interactions entre les constituants moléculaires, tels que les phases (aqueuse et huileuse) et le tensioactif ; ***2)*** la concentration de tensioactif.

Au cours des dernières décennies, l'utilisation de mélanges de tensioactifs pour stabiliser les émulsions très concentrées(ETCs) est devenue courante (Jost, Leiter and Schwuger, 1988); (Fu *et al.*, 2010). Ils ont remarqué aussi que les propriétés rhéologiques peuvent être modifiées en utilisant divers agents émulsionnants et en combinant différentes concentrations (Sanatkaran, Masalova and Malkin, 2014) ; (Derkach, 2015); (Derkach *et al.*, 2011). Cette synergie des émulsionnants dépend de la chimie moléculaire, notamment du groupe de tête, des propriétés structurales de la queue hydrophobe telles que la longueur, la présence ou non de doubles liaisons, et le nombre de bras. Cette synergie est responsable de la manière dont ces agents de surface se positionnent à la surface des micelles, conférant ainsi différentes caractéristiques microscopiques sur les ETCs (Derkach *et al.*, 2011).

(c) Forces inter-gouttelettes possibles

En plus de la répartition des gouttelettes et de la tension interfaciale, les forces inter-gouttelettes constituent une composante essentielle des caractéristiques microscopiques d'une émulsion.

De nombreux autres facteurs influent sur le type et l'équilibre des interactions entre les gouttelettes. Ces interactions découlent de diverses forces moléculaires, telles que les forces colloïdales électrostatiques, les forces de Van der Waals, ainsi que les effets d'encombrement stérique et d'autres forces d'attraction micellaire (Tadros, 2004); (Derjaguin and Landau, 1941). En raison de la complexité de ce sujet, cette partie se concentrera sur **les modèles théoriques** possibles et sur **la pression de disjonction**.

À l'heure actuelle, différents **modèles théoriques** ont été développés pour prendre en compte ces forces variées (Mishchuk, Saalfeld and Steichen, 2004). En raison de l'impact significatif de différentes forces, plusieurs modèles ont été développés pour illustrer leur influence. Un modèle largement utilisé est le modèle Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO), qui intègre la répulsion électrostatique et l'attraction de Van der Waals (Derjaguin and Landau, 1941); (Verwey, 1947). Un autre modèle important prend en compte la répulsion stérique, tel que décrit dans la théorie de De Gennes en 1987. Dans ce cas, lorsque le tensioactif utilisé comporte une chaîne polymérique dans la phase continue, une répulsion stérique peut se manifester lorsque l'épaisseur entre les gouttelettes devient similaire au rayon de giration d'une chaîne polymère (de Gennes, 1987).

D'autres modèles examinent les forces structurales oscillantes, comme décrit dans les travaux de Kralchevsky en 1995 et de Trokhymchuk en 2001. Ces forces oscillantes se réfèrent aux interactions complexes entre les gouttelettes et les structures environnantes, telles que les micelles et les films minces. Ces interactions peuvent influencer la distribution des micelles et la formation de films inter-gouttelettes, ce qui, à son tour, peut affecter la manifestation de l'attraction de déplétion. L'attraction de déplétion se produit lorsque les micelles se concentrent sur le bord du plateau, entraînant une force d'attraction au niveau de la couche interfaciale. Cela est dû à l'appauvrissement de la phase continue dans cette couche, ainsi qu'à la différence de pression osmotique entre le film inter-gouttelettes et le bord du plateau. Cette interaction est courante dans les émulsions très concentrées (Kralchevsky and Denkov, 1995); (Trokhymchuk *et al.*, 2001).

Les modèles tels que le DLVO, la répulsion stérique et les forces structurales oscillantes fournissent des cadres théoriques pour cette analyse. Comprendre ces mécanismes est important pour optimiser la formulation des émulsions dans divers domaines. La recherche continue dans ce domaine est nécessaire pour développer des solutions innovantes répondant aux défis pratiques.

Une autre force importante des inter-gouttelettes est la **pression de disjonction**. Elle est une des pressions responsables pour maintenir une interface courbe entre deux phases. Comme la pression de disjonction résulte d'un équilibre complexe entre diverses forces au sein d'une émulsion très concentrée, elle joue un rôle essentiel dans la résistance et l'interaction entre les gouttelettes, ce qui en fait un indicateur de stabilité significatif.

La pression de disjonction s'exerce pour empêcher la coalescence des gouttelettes, et une pression de disjonction élevée crée une force interne qui contrarie cette coalescence, maintenant ainsi des gouttelettes de rayon plus réduit. L'épaisseur du film entre les gouttelettes joue un rôle déterminant dans la prévention de la coalescence, en effet, une épaisseur de film plus importante est associée à une pression de disjonction plus élevée, car un film plus épais nécessite une force plus importante pour être rompu, empêchant ainsi la fusion des gouttelettes (Foudazi *et al.*, 2015). En résumé, la relation entre la pression de disjonction et la stabilité est la suivante : des gouttelettes de petit rayon, une pression de disjonction élevée et une épaisseur de film importante convergent vers une stabilité accrue de l'émulsion.

Cette prochaine partie concerne la relation entre la **pression de disjonction**, l'énergie libre et la distance de séparation entre les gouttelettes. Ces concepts sont importants car ils jouent un rôle crucial dans la compréhension de la stabilité et du comportement des émulsions.

La pression de disjonction est la pression exercée sur les gouttelettes lorsqu'elles sont très proches les unes des autres. Elle est liée à l'énergie libre du système. Cette énergie libre peut être représentée par des "puits de potentiel", qui sont des régions de l'espace où les gouttelettes sont attirées l'une vers l'autre par des forces telles que les forces de Van der Waals ou les forces électrostatiques. Si la distance de séparation entre les gouttelettes est inférieure à la distance centre à centre entre deux gouttelettes, cela signifie que les gouttelettes sont très proches l'une de l'autre. Dans ce cas, l'émulsion devient adhésive et présente un angle de contact non nul. En

revanche, si la distance de séparation est supérieure à la distance centre à centre, les émulsions résultantes sont de type répulsif. Cela crée une répulsion spatiale entre les gouttelettes, les maintenant séparées les unes des autres (Babak and Stébé, 2002).

Dans les régimes très concentrés avec des gouttelettes comprimées, la situation est similaire. L'équilibre entre les interactions inter-gouttelettes et la répulsion spatiale se reflète dans un puits de potentiel. Ce puits de potentiel contrôle la zone de contact inter-gouttelettes et l'épaisseur du film entre elles. La variation typique de l'énergie libre totale des gouttelettes, qu'elles soient répulsives ou adhésives.

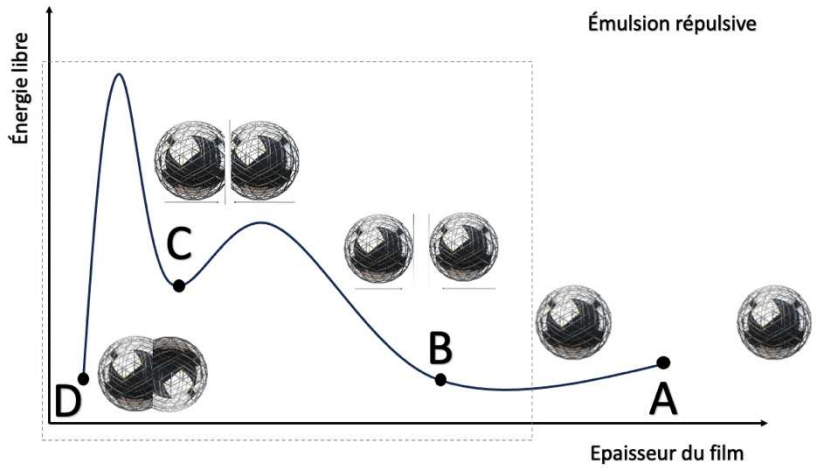
La ***Figure 13*** offre un aperçu du comportement des émulsions en fonction de leur fraction volumique, leur épaisseur de film et de leur énergie libre.

Le point A représenté l'énergie libre des gouttelettes individuelles lorsque celles-ci sont éloignées les unes des autres, mettant en lumière l'importance de cette configuration initiale pour maintenir la stabilité de l'émulsion.

Au point B, nous observons la séparation optimale entre les gouttelettes, caractérisée par une énergie minimale. Cette fraction volumique varie généralement entre 0,6 et 0,74, marquant un équilibre délicat dans l'émulsion.

Le point C symbolise la compression des gouttelettes avec une fraction volumique supérieure à 0,74. Cette compression conduit à une énergie minimale au niveau du point de contact entre les gouttelettes et la surface, optimisant ainsi l'énergie libre en réduisant l'énergie.

Enfin, **le point D** représente l'énergie libre de coalescence des gouttelettes, où le film devient instable sous l'effet d'une force mécanique appliquée, entraînant la coalescence des gouttelettes (Foudazi *et al.*, 2015).



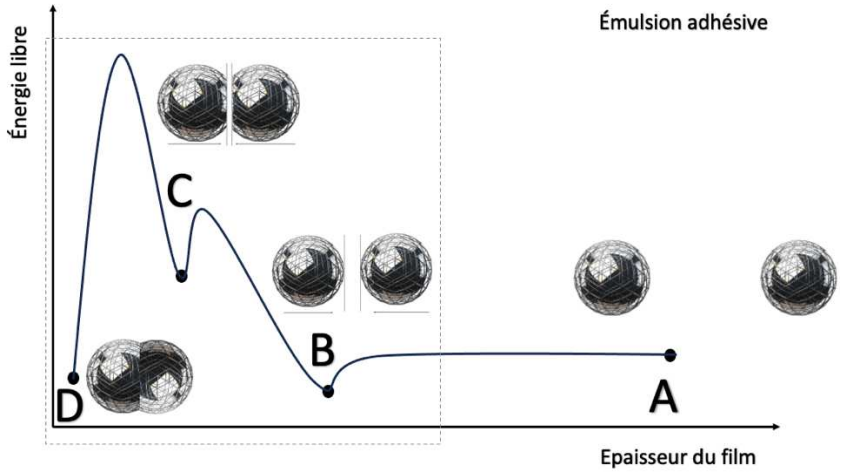


Figure 12 : *Graphique d'un comportement adhésif et répulsif.*
Comportement de la variation entre l'énergie libre et la compression de deux gouttelettes pour une émulsion répulsive et une émulsion adhésive.

Sur la même ***Figure 12****,* nous pouvons distinguer aussi les comportements contrastés des émulsions répulsives et adhésives. Le point B représente un état d'énergie libre plus bas, indiquant un certain équilibre à une fraction volumique de phase interne comprise entre 0,6 et 0,74. Cependant, il est également observable que dans l'émulsion adhésive, l'épaisseur du film est plus mince, ce qui suggère que les forces d'interaction entre les gouttelettes sont plus prédominantes que la force de répulsion du film inter-gouttelettes. En revanche, dans l'émulsion répulsive, nous observons l'inverse : une épaisseur de film plus importante, ce qui témoigne d'une répulsion plus marquée et dominante par rapport aux forces d'interaction.

En conclusion, cette partie offre un aperçu significatif du comportement des émulsions en fonction de leur fraction volumique, leur épaisseur de film et de leur énergie libre. L'observation de la différence de comportement entre une émulsion répulsive et une émulsion adhésive souligne l'importance des forces d'interaction et de répulsion entre les gouttelettes dans la stabilité de l'émulsion.

Dans cette partie nous avons ainsi pu constater l'importance de comprendre les multiples caractéristiques et influences microscopiques sur les émulsions très concentrées. Cette compréhension approfondie des aspects microscopiques est essentielle pour anticiper et maîtriser le comportement de ces émulsions dans divers contextes. À présent, nous nous tournons vers l'exploration des caractéristiques macroscopiques et de leur impact sur les émulsions très concentrées. Cette prochaine étape nous permettra d'approfondir notre compréhension globale des émulsions très concentrées et d'élargir notre capacité à comprendre et concevoir des formulations optimisées pour diverses applications.

4.1.2. Caractéristiques macroscopiques

Dans cette étude, les caractéristiques macroscopiques seront principalement abordées selon deux axes : ***(a) la pression osmotique*** et ***(b) la rhéologie***. Concernant la rhéologie, nous explorerons successivement les aspects du balayage contrainte, du balayage fréquence et enfin de l'écoulement.

(a) Pression osmotique

Lorsqu'on parle de la pression osmotique dans les émulsions, on se réfère à la pression exercée par les particules dispersées (dans ce cas, les gouttelettes) sur la phase continue (le milieu dans lequel elles sont dispersées) dans le but de trouver un équilibre. Cette pression est due aux différences de concentration entre les gouttelettes dispersées et la phase continue. Donc on peut imaginer que la pression osmotique ne peut pas se comporter de la même façon dans un milieu polydispersé (gouttelettes de tailles différents) ou dans un milieu monodispersé (gouttelettes de même taille) (Princen, 1983); (Foudazi *et al.*, 2015).

La pression osmotique au sein d'émulsions polydispersés est complexe en raison de la présence de gouttelettes de tailles différentes, chacune ayant des pressions de Laplace distinctes, à une pression osmotique fixe, les gouttelettes plus grosses ont tendance à se déformer plus facilement que les gouttelettes plus petites, qui restent essentiellement indéformables. Une autre complication réside dans le fait que les déformations des gouttelettes ne peuvent pas être directement reliées à leur fraction volumique, car les gouttelettes plus petites se concentrent sur le bord de plateau (Mason *et al.*, 1997).

Cependant, l'utilisation d'une émulsion monodispersé permet d'éliminer ces difficultés inhérentes. Dans une émulsion monodispersé, toutes les gouttelettes ont la même taille et la même pression de Laplace. Lorsque les gouttelettes d'une émulsion monodispersé sont soumises à une pression osmotique, leur surface $A(\varphi)$ augmente par rapport à celle des gouttelettes non déformées, notée A0, qui est équivalente à $4\pi NR^2$ pour une émulsion monodispersé, où N représente le nombre de gouttelettes et R le rayon non déformé. Pour toute émulsion monodispersé en d dimensions, la pression osmotique peut être calculée à l'aide de la formule suivante, ***Équation 4:***

$$\frac{\Pi(\mathrm{j})}{\frac{s}{R}} = \quad d\mathrm{j}^2 \; \frac{\partial}{\partial \, \mathrm{j}} \left[\frac{A(\mathrm{j})}{A0}\right]$$

Équation 4 : *Équation de la pression osmotique pour une émulsions monodispersé en d dimensions.*

Dans cette équation et dans ce qui suit, nous supposons que la tension superficielle (σ) reste constante. Au-dessous de la fraction volumique critique (Φc), les gouttelettes ne subissent pas de compression, ce qui signifie que leur aire de surface, notée A(φ), demeure constante ($A = A_0$), et aucune contribution de la tension superficielle n'est prise en compte pour la pression osmotique.

Cependant, lorsque les gouttelettes sont compressées en-dessous de la fraction volumique critique (Φc), leur surface augmente à mesure qu'elles entrent en contact avec les gouttelettes voisines, subissant ainsi une déformation, et cela se traduit par une augmentation de la pression osmotique (Π). L'équation d'état osmotique des émulsions est principalement gouvernée par la compression osmotique des gouttelettes à une fraction volumique donnée (Mason, Bibette and Weitz, 1996).

Concernant les émulsions très concentrée (ETC), la pression osmotique est égale à cette pression externe (Princen, 1983), et peut-être considéré comme un reflet des forces répulsives spatiales entre les gouttelettes voisine (Princen, 1983); (Mason *et al.*, 1997).

Dans un des études de Mason il est souligné que la pression osmotique des émulsions très concentrées (ETCs) augmente avec une fraction volumique croissante, tout comme dans les solutions conventionnelles (Mason *et al.*, 1997). Les chercheurs ont démontré que cette pression osmotique (Π) varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment la fraction volumique de la phase dispersée, la taille des gouttelettes et la tension interfaciale. Ils ont également mentionné que la répulsion électrostatique, qui constitue une composante majeure de la pression de disjonction, est présente dans leur système (Mason *et al.*, 1997).

En résumé, ces recherches mettent en lumière l'importance de comprendre et de quantifier les interactions inter-gouttelettes, en particulier la répulsion électrostatique, pour une meilleure compréhension des propriétés et du comportement des émulsions très concentrées.

La ***Figure 13*** démontre la pression osmotique en fonction de la fraction volumique obtenue dans différentes études. La comparaison des résultats a révélé que les interactions inter-gouttelettes augmentent significativement la pression osmotique de ETCs (Dimitrova and Leal-

Calderon, 2001); (Foudazi and Masalova, 2010); (Maestro *et al.*, 2013); (Mason and Bibette, 1997).

Cette augmentation de la pression osmotique peut résulter en une plus grande résistance à la compression des gouttelettes, ce qui peut affecter la stabilité et les propriétés rhéologiques de l'émulsion. En conséquence, cela peut avoir un impact sur divers aspects, tels que la texture, la viscosité et la réactivité de l'émulsion dans différents environnements et applications.

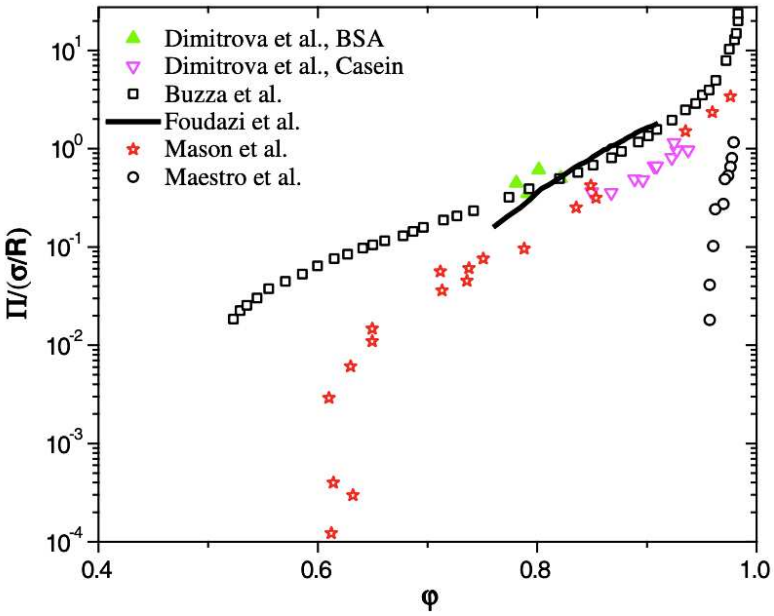


Figure 13 : *Diverses études examinant l'impact des fractions volumiques sur la pression osmotique.*

(b) Comportement Rhéologique

L'étude du comportement rhéologique constitue une méthode essentielle pour évaluer les caractéristiques macroscopiques, c'est-à-dire le comportement physique des émulsions très concentrées. La rhéologie, en tant que science de l'écoulement, permet d'observer comment les émulsions réagissent aux contraintes appliquées. Cette approche nous permet d'examiner le phénomène de compression des gouttelettes au sein des émulsions, comme mentionné précédemment.

Ce phénomène conduit à une augmentation notable de leur élasticité, traduisant ainsi une plus grande rigidité du système. Les gouttelettes exercent des forces sur leurs homologues voisines pour supporter la pression osmotique, comme cela a été observé précédemment. Toutes ces forces doivent être équilibrées pour maintenir l'équilibre mécanique. Même si les émulsions hautement concentrées sont constituées essentiellement de deux liquides non

miscibles, elles présentent une rigidité de cisaillement d'origine entropique pour des concentrations légèrement inférieures à un certain seuil (Mason *et al.*, 1997).

Cependant, lorsque la fraction volumique augmente, des changements surviennent dans les propriétés énergétiques des émulsions très concentrées. L'énergie interfaciale enthalpique, associée aux interactions entre les molécules à l'interface des gouttelettes, devient prédominante par rapport à l'énergie entropique, qui est liée au désordre moléculaire. Cela se produit car la contribution entropique tend à diminuer à mesure que les gouttelettes se rapprochent les unes des autres. Ainsi, avec une augmentation de la fraction volumique, l'importance de l'énergie interfaciale enthalpique dépasse celle de l'énergie entropique, principalement en raison de la réduction du désordre moléculaire lorsque les gouttelettes se rapprochent.

L'augmentation de l'aire interfaciale, résultant de la forme polyédrique des gouttelettes compressées, entraîne une augmentation de l'énergie libre de l'émulsion. Cependant, cette énergie libre peut être minimisée par l'épaisseur optimale du film inter-gouttelettes, qui crée une barrière énergétique significative contre la coalescence des gouttelettes. En d'autres termes, lorsque les gouttelettes sont très proches les unes des autres, la formation d'un film inter-gouttelettes d'une certaine épaisseur peut empêcher leur fusion en une seule gouttelette plus grande (Mason, 1999).

La relation entre la pression de disjonction, la stabilité et la taille des gouttelettes est complexe. Bien que certaines études prévoient la mise à l'échelle de la pression osmotique, du module de cisaillement et de la limite d'élasticité avec la pression de disjonction (Princen, 1983) ;(Princen, 1985) ; (Princen and Kiss, 1989) ; (Aronson and Petko, 1993) ; (Maestro *et al.*, 2013) ; (Babak *et al.*, 2001) ; (Barry, 1975) ; (Reinelt and Kraynik, 1996). Plusieurs travaux expérimentaux font état d'un écart par rapport à cette mise à l'échelle fondamentale (Masalova, Slatter and Wilson, 2004) ; (Irina and Ya, 2007) ; (Pons, Solans and Tadros, 1995) ; (Dimitrova and Leal-Calderon, 2001).

En résumé, le comportement rhéologique, de la dureté, des ETC est une conséquence directe de la concentration élevée en phase dispersée, ce qui entraîne une augmentation de la viscosité et de la résistance au mouvement relatif des gouttelettes, contribuant ainsi à une émulsion plus rigide ou plus dure. Plusieurs modèles tentent de décrire ces phénomènes, mais il y a des

déviations par rapport à la théorie fondamentale en raison de différents facteurs tels que l'agrégation de surface, l'interaction de Van der Waals, la viscosité de la phase continue, la viscoélasticité interfaciale et la pression de disjonction. Encore aujourd'hui des études cherche à améliorer les modèles existants pour prédire le comportement des émulsions très concentrées, en particulier en présence d'interactions inter-gouttelettes.

Des précisions supplémentaires sur le comportement rhéologique seront apportées à travers l'analyse en balayage contrainte, en balayage fréquence et lors de l'écoulement.

Balayage Contrainte

Le balayage contraint, aussi connue sous le nom de "stress sweep", est une technique d'analyse de la rhéologie qui implique l'application progressive d'une contrainte croissante à un matériau afin d'étudier sa réponse en termes de déformation ou de modules élastique (G'), qui représente sa dureté, et de module visqueux (G''), qui représente sa fluidité. Dans cette étude, cette méthode nous permet d'observer comment une émulsion très concentrée réagit à des contraintes variables.

Pour des émulsions très concentrées, à contraintes variables le module élastique(G') est toujours supérieur au module visqueux (G''), de sorte que la nature de l'émulsion est élastique. À mesure que la contrainte augmente, le module élastique diminue en raison de la désintégration de la structure inter-gouttelettes; cependant, G'' passe par un maximum, qui se trouve assez proche d'un point de croisement, où G' = G'' (Knowlton, Pine and Cipelletti, 2014). Étant donné que les pertes visqueuses dominent sur l'élasticité au-delà de ce croisement, peut être considéré comme la transition élastique-vers-visqueuse ou (appelée déformation de fluidisation). On peut voir ce comportement sur la ***Figure 14***.

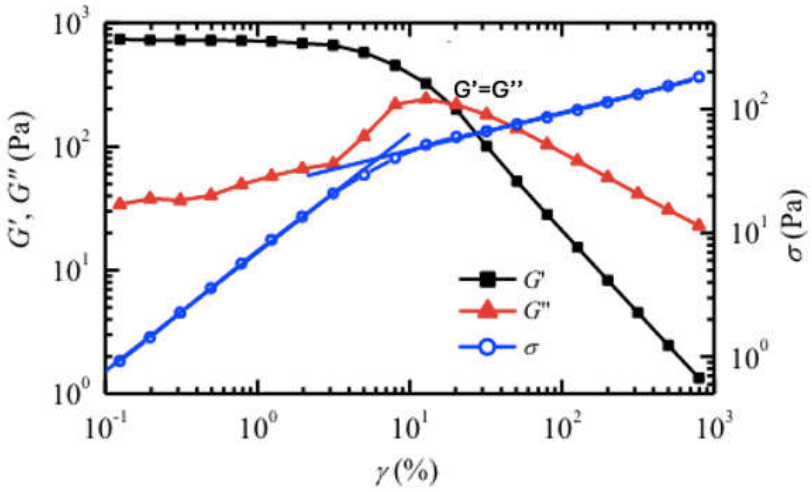


Figure 14 : *Balayage Contrainte.*
L'axe de gauche est représenté par les modules élastique(G') et visqueux(G'') vs amplitude de déformation γ, mesurés par rhéologie oscillatoire à une fréquence de 1 Hz, pour une émulsion à fraction volumique φ = 0,83. Le changement de comportement se passe par l'intersection de G' et G''. Déjà l'axe droit est représenté par la contrainte en fonction de la déformation γ. La limite d'élasticité rhéologique est définie par l'intersection des deux droites décrivant le comportement de σ à petite et grande déformation, respectivement (bleue) (Knowlton, Pine and Cipelletti, 2014).

Ce test de balayage contrainte peut être utilisé pour déterminer la région viscoélastique linéaire et non linéaire. Dans la région linéaire, les modules de stockage (G′) et de perte (G′′) sont indépendants de l'amplitude de déformation appliquée à une fréquence fixe et la contrainte résultante est une onde sinusoïdale. Cependant, dans la région non linéaire, les modules de stockage et de perte deviennent fonction de l'amplitude de déformation à une fréquence fixe et les formes d'onde de contrainte résultantes sont déformées par rapport aux ondes sinusoïdales. Dans la région linéaire, le test de contraintes oscillatoire est appelé SAOS (small amplitude oscillatory shear) et l'application du LAOS (large amplitude oscillatory shear) entraîne une réponse matérielle non linéaire (Hyun *et al.*, 2011). La ***Figure 15*** présente une comparaison du comportement lors d'un balayage de contrainte entre une gélule molle et un gel dur.

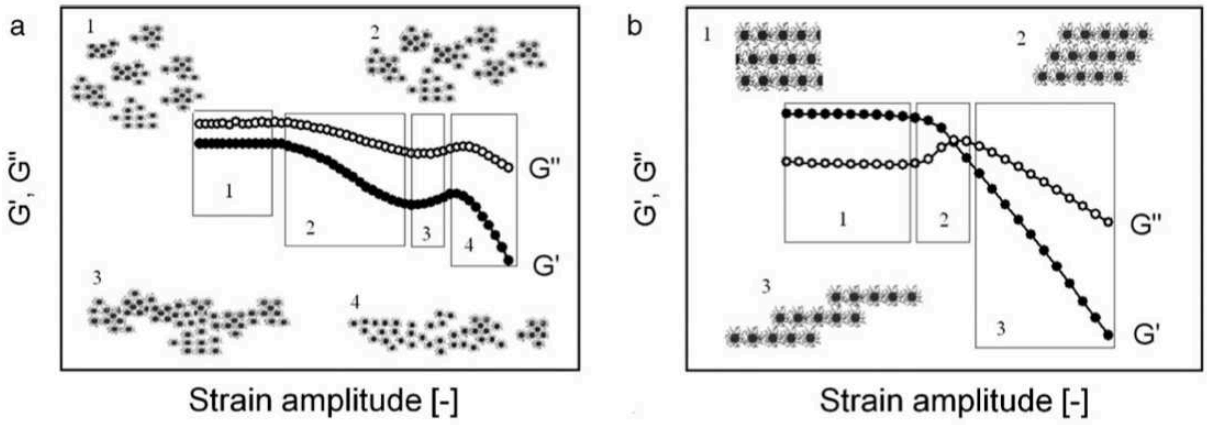


Figure 15 : *Balayage Contrainte.*
(a) Interprétation d'une gélule molle à 25◦ C, microstructurale : (1) amas de micelles dans la solution, (2) amincissement par contrainte dû à l'alignement des amas avec la direction de l'écoulement, (3) fort dépassement de contrainte, dû à la formation de grappes plus grandes, (4) un deuxième amincissement sous contrainte dû à la rupture ou à l'alignement avec la direction de l'écoulement. (b) Interprétation d'un gel dur, microstructurale correspondant : (1) réseau rapproché (cubique ou polyédrique) de micelles, (2) faible dépassement de contrainte dû à la rupture des structures ; (3) amincissement de la contrainte dû aux couches glissant les unes sur les autres dans le sens de l'écoulement
(Hyun et al.*, 2011).*

La transition du comportement de type solide au comportement de type liquide à l'échelle microscopique a été explorée à l'aide de techniques de microscopique et de spectroscopique (Hébraud *et al.*, 1997). Ils ont utilisé la spectroscopie d'onde diffusive pour étudier la dynamique microscopique des émulsions concentrées soumises à une déformation de cisaillement sinusoïdal. Leurs observations ont révélé que les réarrangements plastiques se produisent de manière hautement hétérogène. En d'autres termes, la plupart des éléments de l'échantillon subissent des déformations élastiques et retrouvent leur configuration microscopique d'origine après un cycle complet, tandis qu'une petite fraction de gouttelettes subit des réarrangements irréversibles qui touchent de manière récurrente la même sous-population de gouttelettes. L'utilisation de la microscopie optique est devenue une alternative utile à la spectroscopie d'onde diffusive pour étudier la transition entre les comportements solides et liquides dans de tels systèmes.

Une autre particularité des ETCs est son système encombré, affichent un comportement viscoplastique en raison de la contrainte structurale imposée par les particules ou les gouttelettes dispersées, limitant leur mobilité en raison du manque d'espace libre dans le système. En d'autres termes, il existe une limite de contrainte en dessous de laquelle les particules ou les gouttelettes perdent leur entropie et le système ne s'écoule pas (Trappe *et al.*, 2001). Il a besoin d'une certaine contrainte pour pouvoir couler.

Cette limite de contrainte est appelée contrainte seuil (τ_y). Cependant, il y a des débats concernant la réalité de cette contrainte seuil et sa dépendance à la fois du taux de cisaillement minimum expérimentalement atteignable et du mode de déformation (Barnes and Walters, 1985) ; (Barnes, 1999) ; (Møller, Mewis and Bonn, 2006) ; (Masalova, Malkin and Foudazi, 2008) avancent l'idée que la transition depuis la viscoélasticité linéaire lors de l'expérience de cisaillement oscillatoire peut être considérée comme la contrainte seuil, comme indiqué par les flèches dans la ***Figure 16***. Cependant, la contrainte seuil est généralement acceptée comme étant la contrainte en dessous de laquelle le matériau ne s'écoule pas. Ainsi, les valeurs de contrainte obtenues à partir des courbes de contrainte en fonction du taux de cisaillement, lorsque les taux de cisaillement approchent zéro, correspondent généralement à la signification physique de la contrainte seuil (Masalova, Malkin and Foudazi, 2008).

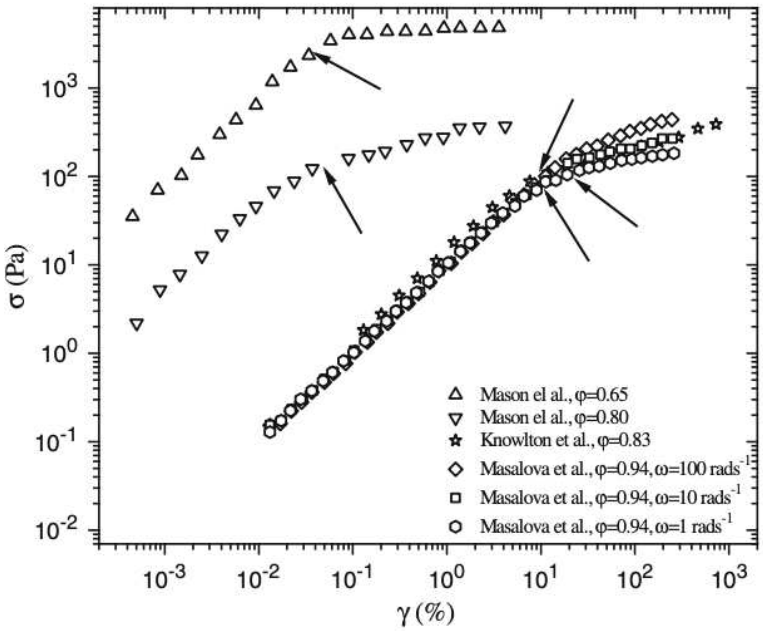


Figure 16 : *Comparaison des graphiques des balayages contrainte-déformation.* (Mason, Bibette and Weitz, 1996) *ont réalisé l'expérience à fréquence constante, ω = 1 rad s⁻¹, pour des ETCs huile dans eau avec différentes fractions volumiques (φ) et une taille de gouttelette de de 0,53 µm ; Knowlton et coll. Les données* (Knowlton, Pine and Cipelletti, 2014) *sont basées sur des ETCs huile-dans-eau à fréquence constante, ω = 1 rad s⁻¹, taille de gouttelette de 0,53 µm et fraction volumique de gouttelette constante de φ = 0,83 ; et* (Masalova, Malkin and Foudazi, 2008) *les données concernent des ETCs eau dans huile à plusieurs fréquences avec une taille de gouttelettes de 13 µm et une fraction volumique de φ = 0,94.*

En conclusion, l'étude du seuil d'écoulement dans les émulsions concentrées est un sujet complexe qui suscite des débats et des questions dans la communauté scientifique. Bien que la notion de contrainte seuil soit largement acceptée comme la contrainte en dessous de laquelle le matériau ne s'écoule pas, il existe des controverses sur sa réalité et sa dépendance par rapport au taux de cisaillement minimum atteignable et au mode de déformation. Des

chercheurs ont avancé l'idée que la transition depuis la viscoélasticité linéaire lors de l'expérience de cisaillement oscillatoire peut être considérée comme la contrainte seuil, tandis que d'autres estiment que les valeurs de contrainte obtenues à partir des courbes de contrainte en fonction du taux de cisaillement correspondent généralement à la signification physique de la contrainte seuil.

Pour finir cette partie, il est à noter que même si les émulsions très concentrées se comportent généralement de la même façon avec un module élastique plus important que le module visqueux, avec une présence d'un plateau en contraintes variables, plusieurs facteurs peuvent influencer ces propriétés. Parmi ces facteurs, on retrouve la composition des ingrédients utilisés dans la formulation ainsi que les conditions du processus de fabrication. De nombreuses études ont souligné l'impact significatif de la fraction volumique, des tensioactifs et des électrolytes sur les émulsions très concentrées (Aronson and Petko, 1993). De plus, le temps de mélange pendant le processus de fabrication joue également un rôle crucial dans la détermination des propriétés rhéologiques de ces émulsions, voir ***Figure 17*** (Tripathi *et al.*, 2017) ; (Paruta-Tuarez *et al.*, 2011). Ainsi, une compréhension approfondie de ces facteurs est essentielle pour contrôler et optimiser les caractéristiques des émulsions très concentrées.

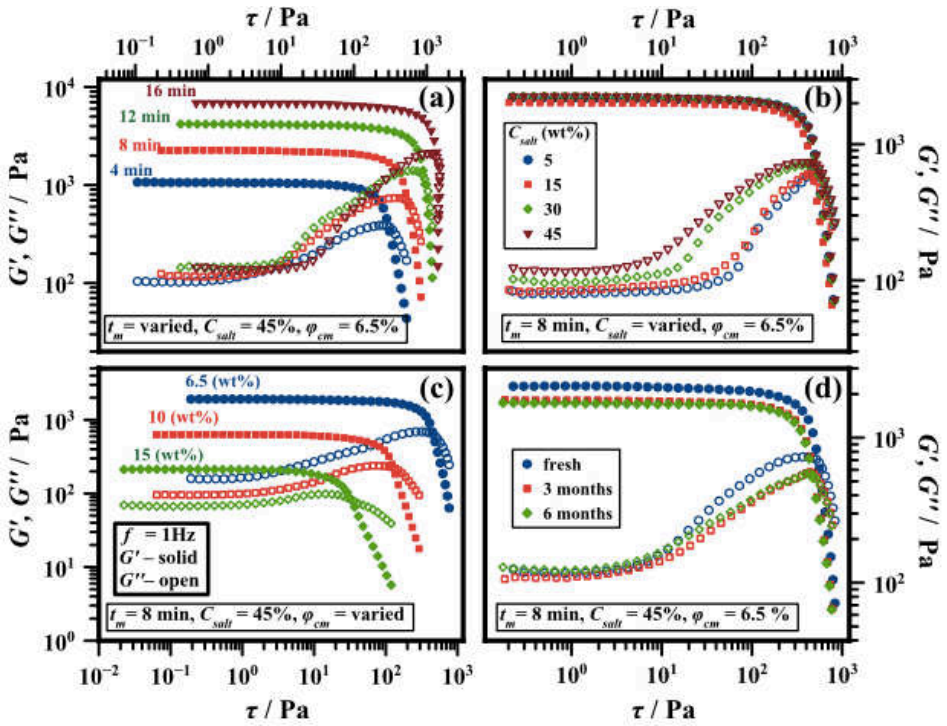


Figure 17 : *Graphiques de balayage contraint.*
Exemple des possibles facteurs que font varier le comportement du module élastique (temps de mélange, fraction volumique, concentration de sel et vieillissement de l'émulsion) (Tripathi et al.*, 2017).*

Balayage Fréquence

Après avoir observé comment une ETC réagit à une variation de contrainte, l'analyse en balayage de fréquence nous permettra d'explorer son comportement en réponse à différentes fréquences. Ce type d'analyse est important car il permette de comprendre comment les émulsions réagissent à des variations des fréquences, ce qui est essentiel pour évaluer leur stabilité et leur performance dans diverses applications. Ces tests fournissent des informations sur les transitions de phase, les propriétés de relaxation et les mécanismes de déformation des émulsions, ce qui est crucial pour concevoir des formulations efficaces et prévoir leur comportement dans des conditions réelles d'utilisation.

Concernant les caractéristiques d'une émulsion très concentrée, les propriétés viscoélastiques (matériel qui exhibe à la fois des comportements visqueux et élastiques lorsqu'il est soumis à des contraintes mécaniques) ont fait l'objet de nombreuses études (Princen, 1983); (Mason *et al.*, 1997); (Princen, 1985); (Benzi *et al.*, 2013). Ces études ont démontré une relation entre ces propriétés viscoélastiques et des caractéristiques comme : le diamètre moyen des particules dispersées, à la polydispersité, à la tension interfaciale, aux interactions entre les gouttelettes, et à la fraction volumique dispersée. À des concentrations nettement supérieures, les émulsions très concentrées sont coincées et présentent une diversité de modules de stockage qui restent indépendants de la fréquence.

Généralement, dans un profil rhéologique des ETCs, le module de stockage (G') est de plusieurs ordres de grandeur supérieur au module de perte (G''). Par conséquent, les émulsions très concentrées se comportent comme des solides. À une fraction volumique supérieure à 0,74, elles présentent une large gamme d'effets indépendants de la fréquence. La valeur du plateau du module élastique (G') peut être considérée comme un module d'équilibre (Mason *et al.*, 1997).

Si la viscosité de la phase continue joue un rôle important à haute fréquence, les réarrangements configurationnels contrôlent le comportement à basse fréquence. En conséquence, un minimum de G'' est observé en raison de mécanismes de relaxation différents aux basses et hautes fréquences.

Liu en 1996 a proposé un modèle pour les émulsions concentrées basé sur la déformation non affine. Le modèle prédit un niveau élevé de dissipation visqueuse dans les émulsions

denses soumises à des déformations par cisaillement oscillatoire à haute fréquence (Liu *et al.*, 1996). ***Équation 5*** Les données de Liu et al. sur le module complexe G* peuvent être représentées par l'expression suivante :

$$G^* = G' + iG'' = G'_P + A(\varphi)(i\omega)^{1/2} + \eta_\infty i\omega$$

Équation 5 : *Modèle de la viscosité complexe pour les émulsions très concentrée.*

Où *i* est l'unité imaginaire, ω est la fréquence angulaire, et $A(\varphi)$ dépend, de la fraction de volume. Cette expression contient un module de plateau à basse fréquence, G'_p ; une viscosité à haute fréquence, η_∞ , due à la phase continue dans les films ; et une contribution anormale en loi de puissance des fréquences intermédiaires qui est causée par le glissement des couches de gouttelettes les unes contre les autres le long de « plans faibles » orientés de manière aléatoire. En conséquence, le module complexe à cette orientation est localement minimum. La ***Figure 18*** présente un exemple de balayage fréquence illustrant la relation entre la variation de phase interne et la taille des gouttelettes.

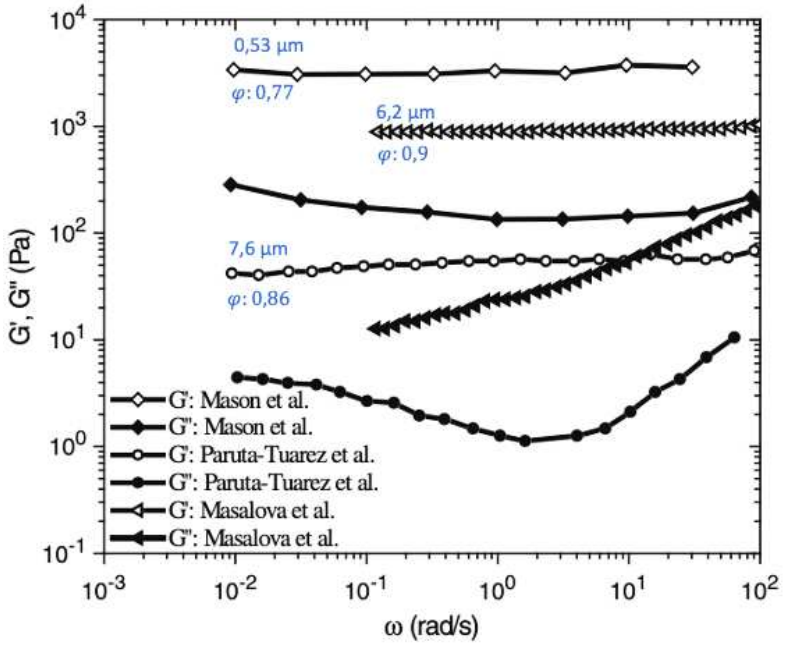


Figure 18 : *Analyse en balayage fréquence des ETCs.*
Les données de Mason et al. sont basées sur des émulsions monodispersé avec une taille de gouttelettes de 0,53µm, une fraction volumique de φ= 0,77 (Mason and Bibette, 1997). Les résultats de de Paruta-Tuarez et al. sont basées sur des émulsions E/H monodispersé avec une taille de gouttelettes de 6,2µm, une fraction volumique de φ= 0,90 (97,103) et les données de Masalova et al. avec une taille de gouttelettes de 7,6µm, une fraction volumique de φ= 0,86 (Paruta Tuarez, 2010)

Les données issues de diverses études suggèrent que des variations dans ces paramètres peuvent entraîner des comportements rhéologiques distincts, soulignant ainsi l'importance de

comprendre ces facteurs pour contrôler et optimiser les propriétés des émulsions très concentrées (ETCs) en fonction des besoins spécifiques des applications. De manière générale, deux observations se dégagent lors de l'analyse en balayage fréquence des ETCs : premièrement, la présence d'un plateau au niveau du module élastique indique une capacité de réarrangement significatives à différentes fréquences ; deuxièmement, il est possible de constater une forte relation entre la taille des gouttelettes et le module élastique.

Écoulement

L'analyse d'écoulement se basent sur la loi de Newton et sollicitent le caractère liquide des échantillons. L'échantillon, subit des perturbations mécaniques circulaires imposées par la rotation du mobile : Il est cisaillé. Ce cisaillement est caractérisé par un gradient de vitesse (s^{-1}) et une force (ou contrainte) (Pa). Il communique des informations comme la viscosité, la thixotropie, le fluage entre autres. Toutes ces informations sont importantes pour l'analyse macroscopique d'une émulsion.

Lorsque les ETCs sont soumises à des contraintes légèrement supérieures à la contrainte seuil, les gouttelettes sont comprimées et se déplacent en roulant les unes sur les autres, un phénomène appelé dilatance de Reynolds. À des taux de cisaillement plus élevés, une augmentation soudaine de la viscosité, appelée bosse dans la courbe de flux, est observée, indiquant que les gouttelettes se déforment pour fournir le volume nécessaire à l'écoulement (Malkin and Masalova, 2007). Dans ce contexte, les émulsions très concentrées montrent un glissement le long des parois (Princen, 1985) (Meeker, Bonnecaze and Cloitre, 2004) (Seth *et al.*, 2012) et la formation de bandes de cisaillement, des comportements similaires à ceux observés dans d'autres matériaux viscoplastiques (Bécu, Manneville and Colin, 2006). Ces observations mettent en évidence les propriétés complexes des émulsions très concentrées et leur comportement sous différentes conditions de cisaillement.

Meeker et al soutiennent que l'utilisation de géométries rugueuses pour les mesures rhéologiques fait disparaître la bosse de la courbe de flux (Meeker, Bonnecaze and Cloitre, 2004). Cependant, des études de Masalova et al. (Masalova *et al.*, 2006) ; (Masalova, 2007), ont montré que le glissement dans la rhéologie des ETCs peut être entravé en utilisant une géométrie sablée, tout en conservant la bosse à des taux de cisaillement intermédiaires. En effet, dans la région de faibles taux de cisaillement, une HCE polydispersée s'écoule lorsque les

gouttelettes plus grandes roulent sur les plus petites, tandis que dans les domaines de forts taux de cisaillement, la déformation intense des gouttelettes est le mécanisme dominant. En d'autres termes, les gouttelettes déformées ne se montent probablement pas les unes sur les autres dans le régime de forts taux de cisaillement, mais glissent entre les autres gouttelettes, et donc, l'effet de dilatance de Reynolds disparaît à des taux de cisaillement élevés (Malkin and Masalova, 2007). On peut conclure que le taux de cisaillement auquel le mécanisme d'écoulement change correspond à la bosse observée. Le modèle empirique suivant développé par Foudazi et al. (Foudazi and Masalova, 2010) peut être utilisé pour ajuster la courbe de flux des ETCs avec n'importe quelle distribution de taille de gouttelette, ***Équation 6*** *:*

$$\tau = \tau_y + K\dot{\gamma}^{0.5} + \left(\tau_y * - \tau_y\right)\left(1 - e^{-\dot{\gamma}/\dot{\gamma}*}\right)$$

Équation 6 : *Le modèle empirique développé par Foudazi et al.*

Où τy est la contrainte de seuil, K et n sont des constantes empiriques, et τy* et $\dot{\gamma}*$ sont la contrainte caractéristique et le taux de cisaillement de la bosse dans la courbe de flux.

Le comportement rhéologique des ETCs a été étudié par Becu et al. (Bécu, Manneville and Colin, 2006) avec un regard vers les comportement adhésifs et non adhésifs, et ils ont développé les courbes de flux locales et globales pour chaque type d'émulsion concentrée. Dans le cas des émulsions adhésives, la courbe de flux se déplace vers des contraintes plus élevées. De plus, la courbe de flux de l'émulsion adhésive n'est pas homogène, indiquant une transition discontinue caractérisée par la coexistence de matériaux de type bloqués (Bécu, Manneville and Colin, 2006). En revanche, le flux d'une émulsion non adhésive reste homogène tout au long de la transition de l'état solide à l'état liquide.

Une autre analyse des ETCs par écoulement est la relation entre la vitesse de déformation et viscosité (g) démontrent un comportement d'amincissement par cisaillement typique, même à des taux de cisaillement très faibles. Le comportement visqueux dépend de la taille des gouttelettes, de la polydispersité et des fractions massiques des deux phases entre autres. Une autre donnée est que le temps aussi il y a une influence sur la viscosité des ETCs comme vu sur étude de Tripathi, 2017 (Tripathi *et al.*, 2017), ***Figure 19****.* Cela corrobore les données des sections précédentes, soulignant à nouveau que l'épaisseur des couches de phase continue entre les gouttelettes est au cœur de la viscosité et de la consistance globales des ETCs. Des

couches de liquide plus fines entre les gouttelettes entraînent un tassement plus serré, réduisant la capacité de l'émulsion à s'écouler et entraînant une viscosité efficace plus élevée.

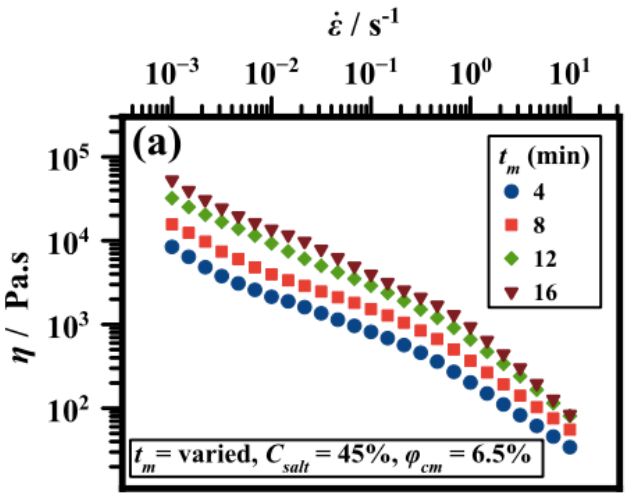


Figure 19 : *Graphiques d'écoulements des ETCs.*
Comportements d'écoulement des ETCs, eau dans huile, avec différents temps d'émulsifications avec une fraction volumique de 0,93.

Après avoir exploré les principales caractéristiques microscopiques et macroscopiques des émulsions très concentrées ainsi que leurs spécificités, nous allons maintenant découvrir leurs applications actuelles.

4.2. Applications des émulsions très concentrées

4.2.1. Généralités

Le comportement solide des émulsions hautement concentrées se prête à une diversité d'applications. Par exemple, ils remplacent les acides gras saturés et les huiles hydrogénées dans les produits alimentaires faibles en calories comme la mayonnaise et le chocolat (Hu *et al.*, 2016) (Jiao *et al.*, 2018) (Zeng *et al.*, 2017). Dans l'industrie pharmaceutique, des émulsions hautement concentrées sont utilisées pour encapsuler et protéger les probiotiques ou les actifs, améliorant ainsi leur dispersibilité et leur biodisponibilité (Araiza-Calahorra, Akhtar and Sarkar, 2018) (Lin *et al.*, 2007) (Su *et al.*, 2018a). En cosmétique et dermocosmétique, ces émulsions sont utilisées dans les crèmes pour obtenir une consistance plus épaisse (Ratschow *et al.*, 2014). Ils trouvent également leur utilité dans la science des matériaux, en particulier dans la création de matériaux poreux pour les dispositifs biomédicaux (Davis, 2002) (Hobiger, Paljevac and Krajnc, 2022). Par exemple, des polyHIPE injectables et biodégradables avec une porosité interconnectée ont été développés pour combler les défauts osseux et améliorer la cicatrisation des plaies (Reeve and Amigoni, 2008). Une autre application matérielle innovante

comprend la couche absorbante de serviettes hygiéniques formée par la polymérisation d'un HIPE (Rawat, Christo and Wimalasena, 2020). Entre autres, les HIPE sont utilisés dans l'industrie minière comme explosifs commerciaux et de dynamitage en raison de leurs propriétés favorables telles que la résistance à l'eau, la viscosité adaptable et d'excellentes performances de détonation (Yates and Dack, 1987).

4.2.2. Applications des émulsions très concentrées en cosmétique

Les HIPE présentent un comportement rhéologique visqueux et viscoélastique élevé, ce qui signifie qu'ils présentent des caractéristiques à la fois visqueuses et élastiques lorsqu'ils sont soumis à une déformation (Cameron and Sherrington, 2005). Ces propriétés sont très recherchées dans le domaine de la cosmétique et de la dermocosmétique.

De plus, en raison de leur volume de phase interne important, les HIPE eau dans huile (sans huile) et huile dans eau (H/E) sont capables d'accueillir des quantités importantes d'actifs hydrophiles et hydrophobes, respectivement (Gao *et al.*, 2021). Étant donné que de nombreux actifs sont sensibles aux changements de pH et de température, à l'agitation mécanique et à l'oxydation, la structure des HIPE protège et préserve efficacement ces actifs (Zeng *et al.*, 2017) (Su *et al.*, 2018b), améliorant ainsi leur longévité (Zhou *et al.*, 2018) (Ryan and Symington, 2015) (Yang *et al.*, 2018).

Un autre avantage des HIPE sans HIPE est leur capacité à hydrater efficacement la peau. Cet effet résulte de leur concentration élevée en eau et de leur structure unique, qui empêche la perte d'eau en renforçant le film interfacial entre la phase huileuse, l'émulsifiant et l'eau. Il en résulte un film interfacial robuste et dense qui empêche la perte d'eau tout en facilitant une libération progressive de la phase aqueuse. La semi-perméabilité de ce film favorise également la réparation de la barrière épidermique et établit un gradient de vapeur d'eau optimisé sur la peau, le tout sans être excessivement occlusif (Tansirikongkol, Visscher and Wickett, 2007) (Visscher *et al.*, 2001).

De plus, les HIPE possèdent des propriétés sensorielles recherchées en cosmétique. Ces émulsions ont un effet « quick break ». En effet, étant riches en eau, ils se désintègrent rapidement sous l'effet des forces de cisaillement rencontrées lors de l'application de la crème, procurant une sensation attractive, rafraîchissante et nourrissante (Ratschow *et al.*, 2014). Ces facteurs sont essentiels, car les produits cosmétiques et dermatologiques doivent répondre à des critères esthétiques et sensoriels spécifiques pour être acceptés par les consommateurs (Ratschow *et al.*, 2014).

Cependant, en raison de leurs caractéristiques distinctives, les HIPE sont susceptibles d'être instables, ce qui pose des défis lors de la fabrication, du conditionnement et du pompage des produits cosmétiques contenant des HIPE (Reeve and Amigoni, 2008).

4.3. Synthèse bibliographique et veille concurrentielle

L'analyse bibliographique demeure toujours nécessaire et primordiale pour la compréhension approfondie et la visibilité des sujets de recherche. Une recherche bibliographique a été effectuée avec le mot-clé "high internal phase emulsion". Ensuite, ce mot-clé a été affiné en le filtrant avec "water in oil", puis avec "skin", et enfin avec le mot-clé "cosmetic", ***Figure 20***. L'objectif était de vérifier les dernières découvertes et innovations dans le domaine des émulsions très concentrées, en mettant particulièrement l'accent sur l'industrie de la cosmétique et de la pharmaceutique. À la suite de cette recherche, nous avons observé que parmi ces 20 références, 90% étaient des brevets, illustrant ainsi l'importance de ce type d'émulsion dans l'industrie. Comme on peut voir sur Erreur ! Source du renvoi introuvable.

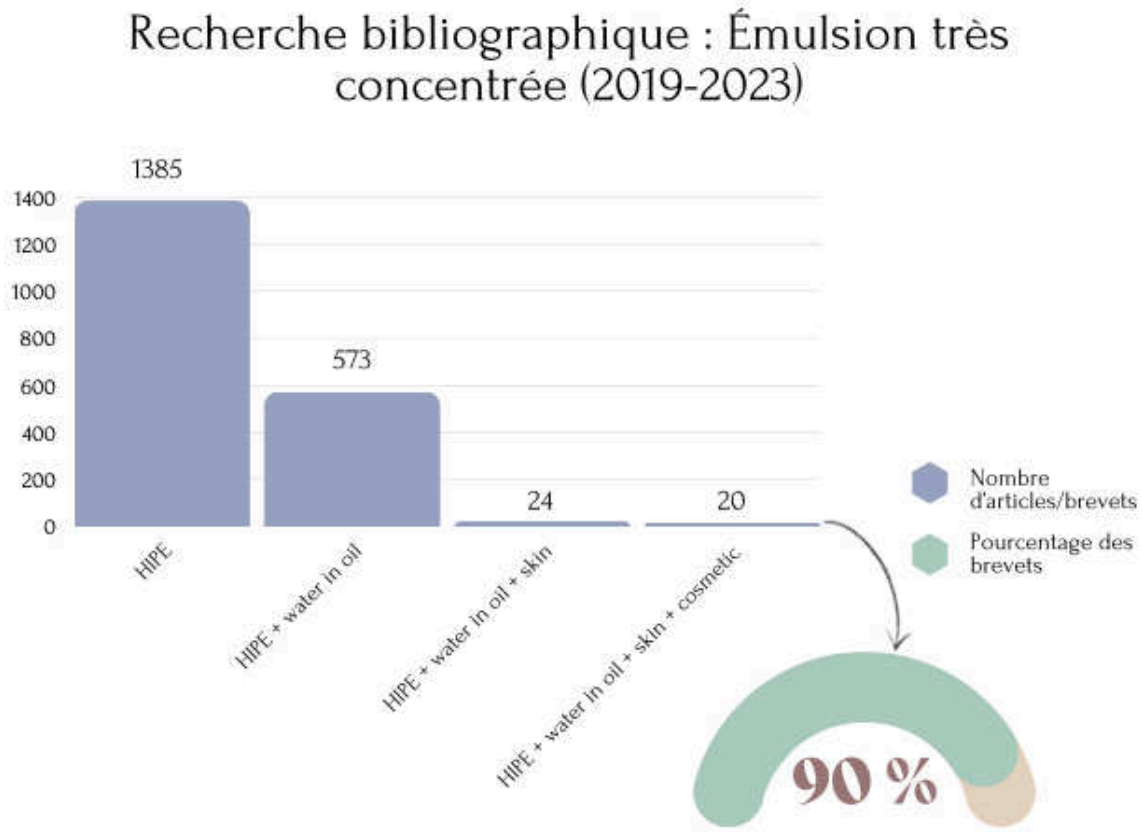


Figure 20 : *Recherche bibliographique des émulsions très concentrée. Depuis 2019 dans l'objectif de connaître les nouvelles découvertes et inventions.*

Dans la recherche sur les émulsions très concentrées, nous avons observé une forte présence de pays tels que les États-Unis et l'Angleterre, avec la participation de grands groupes tels que

l'américain The Procter & Gamble et l'anglais Unilever. Unilever détient près de 40% des brevets dans le domaine des émulsions très concentrées, suivi de près par The Procter & Gamble avec 27%. D'autres entreprises telles que Alchemy Ingredients (Royaume-Uni), Kimberly Clark (États-Unis), Mitsubishi Chemical (Japon), Blisspack (Corée) sont également actives dans ce secteur. Des entreprises renommées telles que Johnson & Johnson, Shiseido et L'Oréal jouent également un rôle sur le marché des émulsions très concentrées comme on peut voir sur la ***Figure 21***.

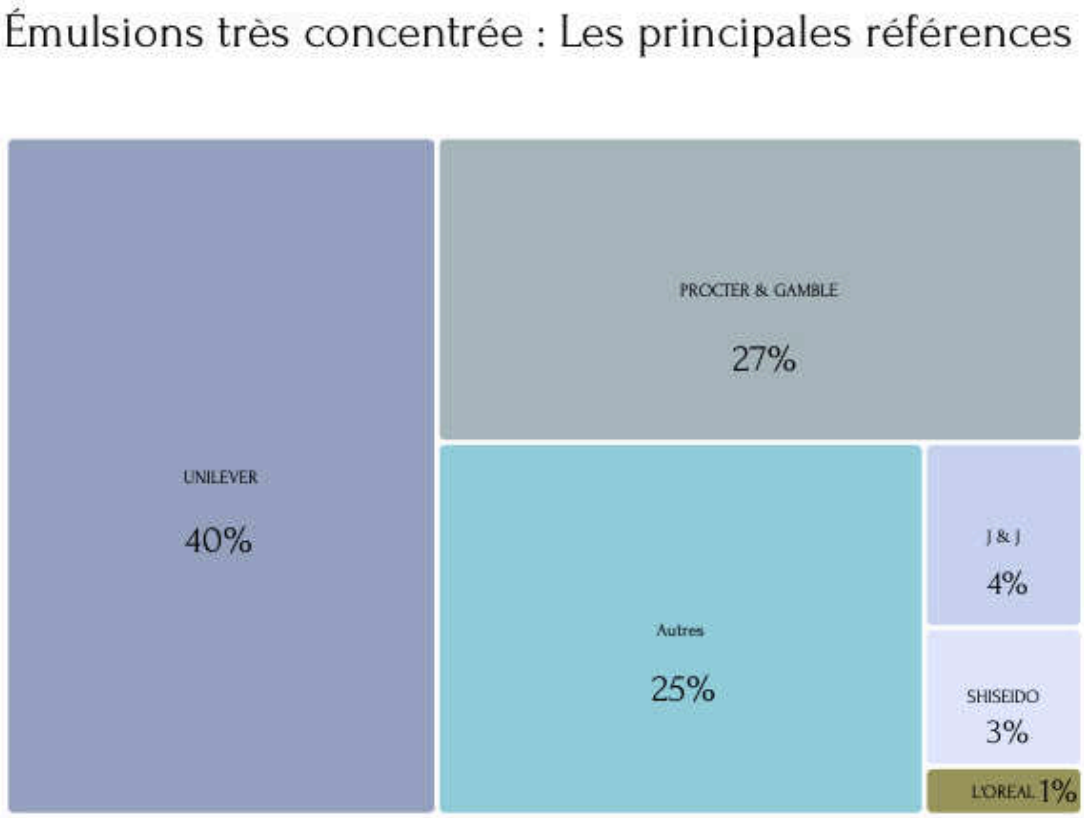


Figure 21 : *Les principales entreprises et groupes qui détiennent des brevets relatifs aux ETCs.*

UNILEVER a été le pionnier dans le domaine des émulsions très concentrées, en déposant des brevets. Depuis 1980, Unilever s'efforce de trouver des moyens de stabiliser ces émulsions qui suscitent un grand intérêt. Pour cela, ils ont utilisé une base d'huile minérale, notamment de la paraffine, dans le but de stabiliser ce type d'émulsion, comme illustré dans le brevet (Berthod and Ferret, 1982). En 1999, Unilever s'est concentré sur les produits d'hygiène tels que les après-shampoings et les shampooings pour les émulsions très concentrées. Actuellement, ils utilisent un système de mélange de silicones, comme détaillé dans le brevet (Ma *et al.*, 2001). En 2019, Unilever a publié son dernier brevet sur les HIPEs, axé sur la réduction des mauvaises odeurs dans les produits cosmétiques (Tomashevskaia and Pehratovic, 2019).

Non pas très loin le groupe PROCTER & GAMBLE en 1991 se lance aussi sur les émulsions très concentrée eau dans huile. En revanche ils sont focalisés plutôt sur les propriétés absorbantes en forme de mousses.

Les inventions concernent à des procédés continus pour préparer certaines ETCs que contiennent des types particuliers de matériaux monomères dissous dans l'huile. La phase de l'émulsion est faite de telle sorte que lorsque les émulsions sont soumises à des conditions de polymérisation, elles obtiennent des structures de mousse polymères particulièrement utiles. Ces structures de mousse trouvent une utilité particulière pour absorber des fluides corporels aqueux. Ces mousses conviennent donc à une utilisation dans des produits absorbants tels que des couches et d'autres produits de gestion de l'incontinence. Ce type d'émulsion peut aussi être utilisé pour absorber des liquides tels que des solutions de nettoyage. , pour les surfaces dures, par des produits intermédiaires tels que des serpillères et des lingettes (Desmarais, Dick and Shiveley, 1995) (Noel *et al.*, 2002). La dernière innovation dans le milieux absorbante ça a été en 2016 avec des matériaux pour contrôler et réduire les mauvaises odeurs excrétées par le corps humain ou animal, tels que l'urine, les règles, le sang, les matières fécales ou le mucus ou les produits chimiques ou tout type de déchet fluide (Holland *et al.*, 2016).

En ce qui concerne les autres références liées à d'autres groupes ou entreprises, elles se sont principalement concentrées sur les produits de soin, mettant particulièrement l'accent sur les méthodes potentielles de stabilisation des émulsions. Bien que les émulsions très concentrées soient connues depuis longtemps, la mise en place de leur structure pose toujours des défis en termes de stabilisation, surtout dans un contexte où les consommateurs deviennent de plus en plus exigeants quant à la naturalité et à l'origine de leurs produits. Une recherche bibliographique portant sur la stabilité des émulsions très concentrées révèle que près de 42% des articles et brevets se concentrent sur ce sujet, représentant presque la moitié des références disponibles. En ce qui concerne les articles, on constate une prédominance d'articles d'origine chinoise abordant cette problématique.

5. IMPORTANCE DE LA STABILITÉ

La création, l'amélioration ou l'innovation d'un nouveau produit est toujours un défi. Il faut respecter un cahier des charges étendu qui englobe des contraintes techniques, tels que les procédés de fabrication et de remplissage, ainsi que des contraintes liées aux consommateurs, comme les éventuelles allergies ou irritations cutanées, et les contraintes réglementaires en constante évolution. En parallèle de toutes ces contraintes, il est essentiel de répondre aux besoins des consommateurs en termes de performance et de plaisir. Malgré tous ces obstacles, l'objectif est de formuler un produit stable qui garantisse la sécurité des consommateurs.

Durant sa vie, un produit cosmétique traverse plusieurs étapes exposées à diverses perturbations. Pendant la phase de fabrication, il est soumis à des agitations mécaniques en plus de subir des agitations intenses. Ensuite, le produit subi une étape de conditionnement, durant laquelle les émulsions sont soumises à des pressions et à des perturbations au moment du remplissage des flacons et/ou des pots. Par la suite, le produit est transporté (par camion, avion ou bateau) puis stocké pendant plusieurs mois, à des températures variables, parfois même inconnues. Enfin, une fois entre les mains des consommateurs, le produit est conservé le plus souvent dans une salle de bain où il est exposé à une forte humidité, une utilisation fréquente, avec un potentiel risque de contamination. En conclusion tout au long de ce cycle, le produit est soumis à des perturbations mécaniques, thermiques, et microbiologiques.

Ainsi la stabilité d'un produit représente un concept assez complexe qui englobe plusieurs critères, notamment la stabilité de la composition, la stabilité physique de l'ensemble, la stabilité microbiologique, la stabilité de l'efficacité dans le temps, la stabilité esthétique malgré les nombreuses manipulations, la stabilité de la compatibilité avec l'emballage et la stabilité de la sécurité du produit. Tout cela donne au sujet de la stabilité une importance majeure nécessitant des travaux continus au sein d'un domaine de recherche très actif (Bedoux, 2016).

Cependant, dans le cadre de cette étude, nous nous concentrons sur deux aspects spécifiques de la stabilité, à savoir la stabilité physico-chimique et la stabilité microbiologique, conformément aux recommandations de l'ANVISA en 2004 (Huynh-Ba and Beumer Sassi, 2018). En ce qui concerne la stabilité physico-chimique des produits, le défi majeur consiste à ce jour à anticiper le comportement de ces caractéristiques et à élargir les plages des tests mécaniques effectués de manière à s'assurer certaines marges de sécurité sur les possibles

évolution des produits. Des tests sur des produits à court et moyen terme servent de paramètres de suivi et d'outils de compréhension du comportement de ces derniers.

5.1. Les émulsions : un état métastable

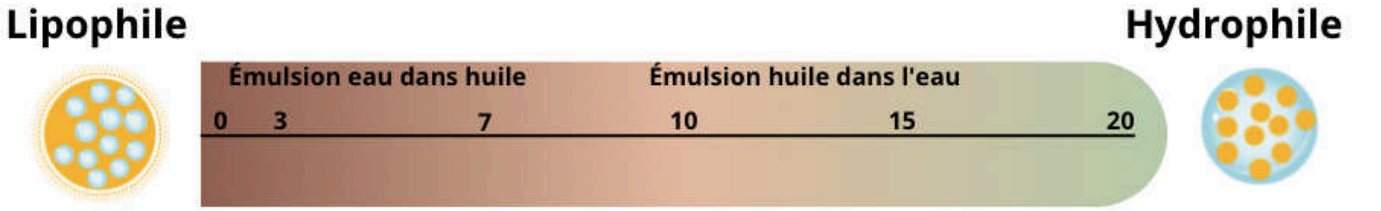
Les premières études relatives aux émulsifiants ont débuté en 1913 grâce aux travaux de Bancroft (Bancroft, 1913). Il a été le premier à évoquer la règle empirique de formulation selon laquelle "la phase continue de l'émulsion sera celle qui solubilise de préférence le tensioactif". Par la suite, le concept de l'équilibre hydrophile-lipophile (HLB) a été introduit et développé par Griffin en 1949 (Griffin, 1949). Il a élaboré les premières formules pour le calcul de la valeur HLB, adaptées à différents types d'agents de surface non ioniques. Depuis lors, plusieurs méthodes expérimentales ont été mises au point pour simplifier la détermination de la valeur HLB (Bregni, 2009).

Quelques années plus tard, Davies a proposé une formule empirique permettant de calculer la HLB d'une molécule en se basant sur la nature chimique des groupes constitutifs, comme indiqué dans le ***Tableau 11***. Il considère un équilibre hydrophile/lipophile établi à 7, attribuant une tendance hydrophobe à un tensioactif dont la HLB est inférieure à 7, et une tendance hydrophile à un tensioactif dont la HLB est supérieure à 7 7 (Ludot, 2013).

$$HLB = 7 + \sum \text{valeurs associées aux groupes hydrophiles} + \sum \text{valeurs associées aux groupes hydrophobes}$$

Groupements	Valeurs
$-SO_4Na$	38,7
-COONa (ou K)	19,1 (ou 21,1)
-COOR	2,4
-COOR (Sorbitane)	6,8
-COOH	2,1
-OH	1,9
-OH (Sorbitane)	0,5
-O	1,3
=CH-	
$-CH_2-$	-0,475
$-CH_3$	
$-CH_2-CH_2-O$	0,33
$-CH_2-CH_2-CH_2-O$	-0,15

Tableau 11 : *Les groupements de nature chimique et leurs valeurs HLB.*



Émulsifiants eau dans huile

Source	Nom commercial	INCI	HLB
PEG +Silicone	ABIL EM 90	Cetyl PEG/PPG-10/1 Dimethicone	5
Silicone	ABIL EM 120	Bis-(Glyceryl/Lauryl) Glyceryl Lauryl Dimethicone; Caprylic/Capric Triglyceride	4
Glycérine ou sucre	ISOLAN G134	Polyglyceryl-4 Isostearate	5
Glycérine ou sucre	ISOLAN PDI	Diisostearoyl Polyglyceryl-3 Dimer Dilinoleate	5
Ésters	TEGO SMOV	Sorbitan Oleate	4

Émulsifiants huile dans l'eau

Source	Nom commercial	INCI	HLB
Silicone	ABIL Care85	Bis-PEG/PPG-16/16 PEG/PPG-16/16 Dimethicone; Caprylic/Capric Triglyceride	10
Glycérine ou sucre	TEGO Care CG90	Cetearyl Glucoside	13
Glycérine ou sucre	TEGO Care PL4	Polyglyceryl-4 Laurate	11
Glycérine ou sucre	TEGIN G	Glycol Stearate SE	12
Ésters	TEGO SML	Sorbitan Laurate	10
Éthoxylés	Polysorbate 60	Polysorbate 60	15

Figure 22 : *Exemples des tensioactifs pour leurs applications dans les domaines de HLB.*

Les tensio-actifs peuvent avoir plusieurs applications, comme : ***(i) détergent ; (ii) moussant et (iii) émulsifiant.***

(i) Détergent :

Les produits d'hygiène et d'entretien jouent un rôle fréquemment prépondérant dans la vie quotidienne, et par conséquent, ils revêtent une importance significative au sein de l'industrie chimique (Delistavrou and Tilikidou, 2022). Au sein de l'industrie cosmétique, les formulations destinées à l'hygiène corporelle comprennent principalement des produits tels que les savons, les shampooings, les gels douche, etc. Les tensioactifs, dans ce contexte, peuvent opérer selon deux mécanismes : d'une part, les micelles de détergent solubilisent les impuretés à base de matières grasses, mais pour que cela soit efficace, la concentration de détergent doit être supérieure à la concentration micellaire critique (CMC) ; d'autre part, le deuxième mécanisme est connu sous le nom de "rolling up", il s'agit d'une émulsification spontanée des impuretés grasses à partir de la surface de la peau ou des cheveux (Chevalier and Bolzinger, 2020). Les tensioactifs de type détergent peuvent être situés dans la plage de valeurs de l'indice HLB (Hydrophile-Lipophile Balance) comprise entre 13 et 16, à

l'instar du cocoglucoside, qui présente un indice HLB de 13, ou du Laureth-13, qui présente un indice HLB de 16, comme illustré dans la ***Figure 22***.

(ii)Moussant :

Les mousses sont couramment définies comme des dispersions d'un gaz, le plus souvent de l'air, dans un liquide contenant un troisième composant. Les tensioactifs jouent un rôle crucial en s'adsorbant à l'interface entre le gaz et le liquide, stabilisant ainsi la formation de bulles de mousse en réduisant la tension superficielle (Ludot, 2013). Il convient de noter que la présence de mousse ne doit pas nécessairement être associée à un pouvoir nettoyant, bien que cette perception soit souvent ancrée dans la culture. Cependant, la mousse offre l'avantage de maintenir le produit en place plus longtemps à la surface (peau ou cheveux), ce qui permet de prolonger l'efficacité du nettoyage ou de faciliter la pénétration des substances actives dans les cheveux. En général, les tensioactifs les plus efficaces présentent des chaînes hydrophobes plus longues, telles que l'oléyle, tandis que les agents moussants les plus performants sont caractérisés par des chaînes plus courtes, c'est-à-dire des chaînes alkyles de faible longueur (Chevalier and Bolzinger, 2020).

(iii)Émulsifiant :

Dans l'objectif de maintenir une formule stable le plus longtemps possible. Le domaine de HLB 3 et 7 est le plus favorables pour des **émulsifiants eau dans huile,** que sont des émulsifiants plutôt lipophiles, comme : Le Cetyl PEG/PPG-10/1 dimethicone avec un HLB 5 ; le Polyglyceryl-4 isostearate avec un HLB 5 ; le Sorbitan oleate avec un HLB 4, entre autres. Concernant les **émulsifiants huile dans l'eau**, plutôt hydrophile, avec un domaine de HLB entre 10 et 15, comme le Polysorbate 60 avec un HLB de 15 ; le Cetearyl Glucoside avec un HLB de 13 ; Polyglyceryl-4 Laurate avec un HLB de 11, entre autres. Plus d'informations sur la ***Figure 22***

Même si HLB peut être un bon guide il faut savoir que l'échelle HLB ne prends pas en compte l'environnement chimique de la molécule, ni de sa conformation. Il n'est donc qu'une traduction empirique de la courbure spontanée. Une courbure très positive est caractérisée par un HLB élevé et une courbure négative est caractérisé par un HLB faible. En tout cas l'échelle HLB est encore un bon moyen de quantifier le caractère hydrophile, hydrophobe des émulsionnants et d'orienter le choix de l'émulsionnant plus adapter pour l'application souhaité et sa stabilité.

5.1.2. Phénomènes d'instabilité

Comme déjà vu prédécèdent des émulsionnants moléculaires ou macromoléculaire adsorbé à la surface des gouttelettes aident à leur stabilité. Il existe principalement deux phénomènes de déstabilisation : **des phénomènes migratoires** et **des phénomènes d'augmentation de taille**.

5.1.3. Des phénomènes migratoires

Ces phénomènes sont des mécanismes causés par la différence de densité entre la phase continue et la phase dispersée qui entraîne une séparation. Quand la migration des gouttelettes se fait vers le haut on parle de **crémage** tandis que lorsque les gouttelettes migrent vers le bas, on parle de **sédimentation** (Thiam, Bremond and Bibette, 2011). Deux forces agissent sur les gouttelettes : les poids de la gouttelette qui est orienté vers le bas et la poussée d'Archimède qui elle est orientée vers le haut. La force résultante va permettre de provoquer le phénomène de crémage ou la sédimentation, ***Équation 7*** (Chevalier, Bolzinger and Puel, 2015a).

$$F = \Delta\rho\, vg = \Delta\rho \left(\frac{4\pi}{3} R^3\right) g$$

- $\Delta\rho =$ *différence de massa volumique entre la phase interne et la phase continue*
- $g = 9{,}81\ N/Kg$

Équation 7 : *L'équation que représente la force finale sur le phénomène de crémage ou de la sédimentation.*

Ce mécanisme peut être retarder en réduisant la taille des gouttelettes et la différence de volume entre elles. Une autre possibilité est d'augmenter la viscosité de la phase continue (Springinsfeld, 2009). Dans ce type de phénomène les gouttelettes restent intactes et peuvent être redispersibles facilement en revanche comme le crémage ou la sédimentation sont des phénomènes où les produits restent non homogènes, ils ne sont pas bien acceptés par les acteurs du marché cosmétique.

5.1.4. Des phénomènes d'augmentation de taille

Il s'agit de mécanismes d'attraction des gouttelettes entre elles influant directement la fluctuation de la taille de ces dernières. Les phénomes irréversibles plus connues sont : ***(a) la coagulation, (b) la coalescence ainsi que le (c) mûrissement d'Ostwald.***

(a) Coagulation

La coagulation des particules, associée à la croissance, revêt un rôle fondamental dans la détermination de l'évolution de la distribution de la taille des particules au sein d'une émulsion. En conséquence, de nombreuses études, qu'elles soient de modélisation ou expérimentales, ont été menées pour une meilleure compréhension et maîtrise du phénomène de coagulation des gouttelettes, en vue d'assurer une production industrielle efficace et de haute qualité (Cheng *et al.*, 2018).

Selon la théorie de Smoluchowski en 1917, la coagulation des particules est principalement due aux mouvements browniens au sein de la phase dispersée. Cette théorie ne prend en considération aucune force agissant entre les particules, mais seulement lorsque celles-ci entrent en contact et que ce contact est suffisamment fort et attractif. Dans de telles circonstances, les deux gouttelettes coagulent immédiatement au moment du contact. En revanche, une étude de Rice en 1966 intègre des forces et d'autres paramètres, notamment *: i) des forces agissent entre les gouttelettes avant leur collision ; ii) toutes les collisions ne se traduisent pas nécessairement par une coalescence ; iii) la fusion en une seule sphère survient après un certain délai, avec la possibilité pour les gouttelettes de rester attachées sans coalescence facile ; iv) les gouttelettes peuvent se détacher d'agrégats non coalescents* (Rice and Whitehead, 1967).

Aujourd'hui, nous comprenons que les forces d'attraction intermoléculaires sont responsables de la coagulation et, par conséquent, de la formation d'un agrégat plus volumineux, ce qui accélère le phénomène de crémage (H/E) ou de sédimentation (E/H). Les forces d'attraction opérant entre les gouttelettes sont généralement désignées sous le terme de forces de van der Waals, qui résultent des dipôles électriques des atomes.

Pour ralentir la coagulation, il est essentiel de mettre en jeu des forces de répulsion, telles que : les forces électrostatiques, les forces stériques, les forces de déplétion, les forces de solvation. Cependant, les forces de répulsion électrostatiques et stériques sont les plus couramment utilisées et connues.

Dans un contexte pratique, pour retarder ce type de phénomène, l'utilisation d'un émulsifiant ionique permet d'obtenir une répulsion électrostatique, tandis qu'un émulsifiant non ionique génère une répulsion stérique. Il est à noter que ces émulsifiants doivent être

suffisamment adsorbés à l'interface. Cependant, dans le domaine des produits cosmétiques, les émulsifiants ioniques ne sont pas toujours recommandés en raison de leur nature potentiellement irritante. Dans ces cas, les émulsifiants non ioniques sont préférés. Parmi leurs avantages figurent : leur applicabilité aux émulsions de type huile dans l'eau ou eau dans huile ; la connaissance de la "méthode HLB (Hydrophile-Lipophile Balance)", qui permet de trouver un équilibre approprié entre la partie hydrophile et lipophile des émulsifiants, facilitant ainsi leur choix ; la réputation générale de faible irritation associée aux émulsifiants non ioniques.

La répulsion stérique est possible lorsque la molécule d'émulsifiant s'oriente vers la phase dispersante et présente une taille importante. Cette configuration permet de créer une barrière efficace empêchant l'approche des gouttelettes, avec une force stérique devant être supérieure aux forces de van der Waals (Chevalier, Bolzinger and Puel, 2015b).

(b) Coalescence

La coalescence est un phénomène qui consiste en une fusion irréversible. Elle se passe en trois étapes. La première étape est une étape de rapprochement des deux gouttelettes (coagulation), la deuxième étape consiste à la formation d'un trou puis sa croissance, la troisième étape correspond quant à elle à la fusion entre ces deux gouttelettes (relaxation de forme gouvernée par la tension interfaciale) (Springinsfeld, 2009), ***Figure 23***. Il faut savoir que l'ouverture de ce trou est un processus thermiquement activé : il existe en effet une barrière d'activation dont l'origine est attribuée à une tension de ligne sur le pourtour du trou. Lorsque le trou est assez grand, alors le gain en énergie de surface est tel que cette énergie de ligne est compensée et entraîne la fusion de ces deux gouttelettes (Deminiere *et al.*, 1998).

Ce phénomène peut séparer complétement les deux phases. Le film de la phase dispersante et ses émulsionnants se réorganisent ou disparaissent lors de la coalescence. Une première forme de stabilisation cinétique est l'utilisation des émulsifiants avec une chaîne longue, hydrophobe et saturée. Ces émulsifiants vont former un fil très rigide qui s'opposent à la coalescence (Chevalier, Bolzinger and Puel, 2015b). Et La deuxième forme attribue la stabilisation cinétique à la formation d'un réseau tridimensionnel de particules dans la phase continue qui « piège » les gouttes et les empêche d'entrer en contact. Cette dernière explication a été proposée notamment pour des systèmes à base d'argiles, dans lesquels les gouttes sont immobilisées à cause de la forte viscosité de la phase aqueuse (Arditty, 2004)

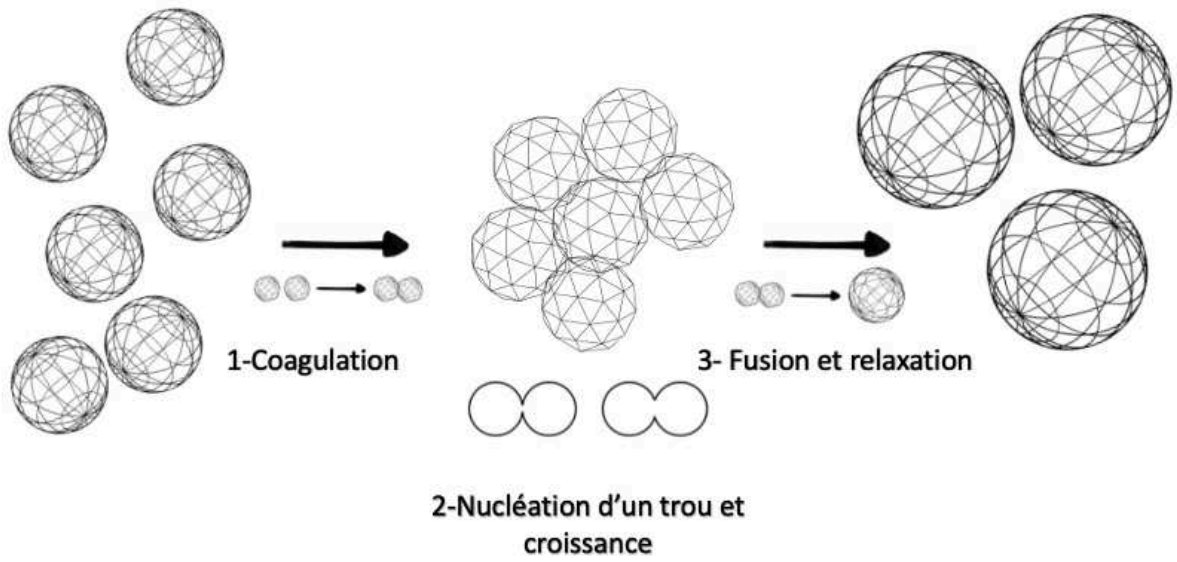


Figure 23 : *Les trois étapes du processus de coalescence.*

(c) Mûrissement d'Ostwald

La mûrissement d'Ostwald est une conséquence de la tension interfaciale existant entre deux liquides non miscibles. La conséquence est la disparition des petites gouttelettes au profit des plus grosses. Ce phénomène est dû à la différence de la pression intérieure avec l'extérieur (Springinsfeld, 2009). Souvent on considère que la phase aqueuse et la phase huileuse sont immiscibles ; la vérité est que ces deux phases ont une solubilité très faible. Cette solubilité va dépendre de la taille des gouttelettes. La concentration en équilibre avec une petite gouttelette est supérieure à celle d'une plus grosse gouttelette. On peut voir ça grâce à la loi de Kelvin, ***Équation 8****:*

$$ln\left[\frac{C_{sat}\,(\alpha)}{C_{sat}\,(\infty)}\right] = \frac{2\gamma\, V_{mol}}{\alpha\, RT}$$

- $\alpha = \ rayon\ de\ la\ gouttelete$
- $\gamma = \ tension\ interfaciale$
- $V_{mol} = \ volume\ molaire\ de\ l'huile$
- $C_{sat} = \ courbure\ interfaciale\ sur\ la\ solubilité$
- $C_{sat}(\infty)\ solubilité\ \ de\ l'huile\ dans\ une\ phase\ aqueuse\ en\ équilibre\ avec\ une\ phase\ huileuse\ en\ excès.$

Équation 8 : *Équation de la loi de Kevin*

La vitesse de ce phénomène va dépendre des deux aspects : la distribution de la taille de gouttelettes (dépend du processus d'émulsification) et la solubilité de l'huile dans l'eau. Plus les huiles sont « polaires » (plus solubles dans l'eau), plus rapidement le phénomène peut

s'opérer. Donc une possibilité de retarder ce phénomène est de rajouter des huiles « apolaires » (hydrophobes). Le mûrissement d'Ostwald n'en sera pas complétement nul, car l'émulsion évolue toujours vers l'équilibre, mais les conséquences seront minimisées (Chevalier, Bolzinger and Puel, 2015b).

6. IMPORTANCE DES INGRÉDIENTS ET DES PROCÉDÉS

L'élaboration d'une émulsion stable et de haute qualité dans le domaine de la formulation des produits cosmétiques reposent sur deux piliers essentiels : les ingrédients utilisés et les procédés de fabrication employés. Ces deux facteurs interagissent de manière complexe pour influencer la stabilité, la texture, la durée de conservation, et les performances des produits émulsionnés. Le choix judicieux des ingrédients, tels que les huiles, les émulsionnants, les agents épaississants, les actifs cosmétiques, ainsi que la manipulation précise des paramètres de procédé, tels que la vitesse de rotation, le débit d'incorporation, le type de mélangeur, revêtent une importance cruciale pour obtenir une émulsion répondant aux normes de qualité requises et aux attentes des consommateurs (Barel, Paye and Maibach, 2009). Dans la prochaine section, nous examinerons l'impact des ingrédients et des procédés sur les ETCs.

6.1. Les Ingrédients

Les ingrédients sur lesquels nous allons nous concentrer dans cette étude des ETC sont : la quantité de phase interne (eau), les tensioactifs, les huiles, les électrolytes et les sels, car ce sont ceux que nous avons étudié dans notre travail.

6.1.1. La Phase interne (eau)

La fraction volumique de la phase dispersée (φv) est un paramètre clé dans l'étude des émulsions, et elle a fait l'objet de recherches approfondies. Das et Gosh (1990) ont examiné la relation entre φv et la polydispersité des émulsions en utilisant des modèles théoriques pour les émulsions mono, bi et tridisperses. Ils ont déterminé les différentes configurations possibles d'empilement des gouttes, telles que cubiques, cubiques centrées, cubiques à faces centrées et hexagonales compactes, ainsi que les fractions d'empilement critiques (φc) associées à chacune de ces configurations. Ces résultats ont permis de comprendre comment φc varie en fonction de la polydispersité du système et de l'organisation des gouttes. L'étude a révélé que la valeur maximale de φc pour les émulsions monodisperses est de 0,7405, atteinte lorsque les gouttes s'organisent en une configuration cubique à faces centrées ou hexagonale compacte, confirmant les travaux antérieurs de Lissant (1966) (Lissant, 1966). Cependant, Das et Gosh ont également

montré que φc évolue en fonction de la polydispersité du système, atteignant une valeur maximale de 0,8916 dans le cas d'un système tridispersé (Das and Ghosh, 1990).

Les observations expérimentales de (Jager-Lezer *et al.*, 1998) avec des émulsions polydisperses ont abouti à une valeur de φc de 0,67, cohérente avec les résultats de Das et Gosh, suggérant une organisation des gouttes en réseau cubique centré. En outre, Das et Gosh ont étendu ces modèles aux émulsions concentrées eau-dans-huile (H/E) avec des fractions volumiques élevées (0,74 < φv < 0,90) et ont confirmé que les configurations cubiques à faces centrées ou hexagonales compactes étaient valables.(Das and Ghosh, 1990).

L'influence de la fraction volumique (φv) sur les propriétés rhéologiques a été examinée par plusieurs chercheurs (Aronson and Petko, 1993a) (Pons *et al.*, 1993) (Ravey, Stébé and Sauvage, 1994) (Masalova *et al.*, 2006) (Pons, Solans and Tadros, 1995)(Jager-Lezer *et al.*, 1998) (Langenfeld, 1999) (Pal, 1999)(Dimitrova and Leal-Calderon, 2001). Ils ont constaté que les paramètres rhéologiques tels que le module élastique (G'), le module visqueux (G''), et la contrainte critique (τc) augmentaient avec l'augmentation de la fraction volumique (φv) lorsque φv > φc. Ces résultats mettent en évidence l'importance de la fraction volumique dans la rhéologie des émulsions.

6.1.2. Les tensioactifs

L'influence des tensioactifs sur les émulsions concentrées Eau-dans-Huile (E/H) a été étudiée par Aronson et Petko (1993), qui ont examiné l'évolution de la taille moyenne des gouttes (dm) en fonction du temps pour différents tensioactifs présentant des valeurs de HLB distinctes. Leurs résultats ont montré que lorsque 1,83 < HLB < 4,9, le diamètre moyen initial des gouttes des émulsions diminuait à mesure que le HLB augmentait, et que cette diminution était d'autant plus lente pour les tensioactifs ayant un HLB élevé.

En ce qui concerne la concentration en tensioactif, plusieurs études ont révélé que les émulsions concentrées et très concentrées sont en réalité composées de micelles inverses pour les émulsions E/H et de micelles directes pour les émulsions H/E (Ravey and Stébé, 1990) (Pons *et al.*, 1993)(Ravey, Stébé and Sauvage, 1994)(Babak and Stébé, 2002). Lorsque la concentration en tensioactif est très faible, l'absence de micelles conduit à une moindre stabilité de l'émulsion, car le potentiel attractif entre les gouttes augmente, favorisant ainsi la coalescence (Aronson, 1989) (Langenfeld, 1999).

D'autre part, à des concentrations élevées en tensioactif, Aronson a observé la formation d'agglomérats (floculation) dans des émulsions concentrées H/E lorsque la quantité de

tensioactif dépassait 4 % en poids. Cette floculation entraînait la crémation de l'huile, et l'auteur a suggéré que cette concentration élevée de tensioactif excluait les micelles entre les gouttes, provoquant leur rapprochement et la floculation (Aronson, 1989).

En ce qui concerne les propriétés rhéologiques, Aronson, Mason et Bibette ont montré que les émulsions concentrées H/E à faible concentration en tensioactif avaient un comportement quasi-newtonien. À mesure que la concentration en tensioactif augmentait, les gouttes devenaient plus petites, ce qui entraînait une augmentation de la viscosité et transformait l'émulsion en un liquide viscoélastique. Il existe donc une concentration critique à laquelle se produit la transition du comportement newtonien au comportement viscoélastique (Aronson, 1989)(Mason and Bibette, 1997).

6.1.3. Les huiles

Concernant les huiles, les recherches menées par Kunieda et ses collaborateurs ont apporté des éclaircissements importants sur l'impact des différentes huiles aliphatiques et aromatiques sur la formation des émulsions concentrées eau dans huile (E/H) (Kunieda *et al.*, 1987a). Leurs résultats ont conduit à trois conclusions significatives : tout d'abord, un changement dans la structure moléculaire de l'huile a une incidence sur la formation des émulsions. Cela signifie qu'à des conditions de procédé identiques et pour des fractions volumiques (φv) égales, la formation d'émulsions dans différentes huiles requiert des rapports tensioactif/huile (RTH) spécifiques à chaque type d'huile. Deuxièmement, la fraction volumique maximale de la phase dispersée varie en fonction du type d'huile utilisé. Enfin, avec les huiles aromatiques, la formation d'émulsions concentrées s'est révélée impossible (Chen and Ruckenstein, 1991).

Une autre étude menée par Solano en 2006 a également démontré que plusieurs types d'huiles de la famille des alcanes, telles que le décane, le dodécane, le tétradécane et l'hexadécane, ainsi qu'une huile cyclique, la décaline. En utilisant le même émulsifiant, le même ratio émulsifiant/huile (à 0,25), et une fraction volumique de 0,93, cette étude a révélé trois conclusions principales. Premièrement, la valeur du module élastique augmente avec le nombre de carbones de l'huile linéaire. Deuxièmement, à nombre de carbones équivalent, l'huile cyclique produit une émulsion avec une valeur du module élastique deux fois plus élevée que celle d'une huile linéaire. Troisièmement, quelle que soit l'huile utilisée, la variation du module élastique avec la vitesse d'agitation reste constante (Alvarez Solano, 2006).

En ce qui concerne la stabilité de ces émulsions, le rôle de l'huile dans les phénomènes de crémage, de floculation, de coalescence et de mûrissement d'Ostwald a été peu étudié jusqu'à présent.

6.1.4. Les électrolytes

Par ailleurs, l'ajout d'un électrolyte dans la phase aqueuse des émulsions E/H a été observé comme un facteur augmentant la stabilité de l'émulsion et conduisant à une augmentation des propriétés rhéologiques (Aronson and Petko, 1993a)(Pons *et al.*, 1993). Une concentration faible en électrolyte peut prévenir le mûrissement d'Ostwald en limitant la diffusion de l'eau dans la phase continue (Kabalnov, Pertzov and Shchukin, 1987)(Kabalnov and Shchukin, 1992). Car lorsque de l'électrolyte est ajouté dans la phase aqueuse, l'indice de réfraction est augmenté ce qui diminue ainsi la force d'attraction entre les gouttelettes d'eau pour que l'émulsion se stabilise davantage. Les résultats rhéologiques montrent que les émulsions avec électrolyte sont beaucoup plus stables que celles sans électrolyte. (Park, Wan-gu Cho and Lee, 2003).

Les chercheurs, notamment Kabalnov et ses collègues, Kunieda et Solans, interprètent cette amélioration de la stabilité aussi comme résultant d'un effet de "packing" du film de tensioactif à l'interface eau/huile. Ce phénomène est attribué à la déshydratation de la partie hydrophile du tensioactif, renforçant ainsi les interactions tensioactif-tensioactif et rendant le film interfacial plus rigide(Kunieda *et al.*, 1987a)(Kabalnov and Shchukin, 1992). La plupart des études sur les effets de la concentration en sel sur la stabilité de l'émulsion et la rhéologie interfaciale sont rapportées pour les émulsions diluées. Mais des études de (Park, Wan-gu Cho and Lee, 2003) et (Tripathi *et al.*, 2017a) démontrent que la présence de sel ramené à une certaine stabilité dans les émulsions très concentrées (Tripathi *et al.*, 2017a).

6.1.5. Les polymères

Les gélifiants ou polymères permettent de contrôler les propriétés rhéologiques (l'augmentation de la viscosité), ils peuvent empêcher le déplacement de la phase dispersée vers le haut ou vers le bas, ils ajustent les propriétés sensorielles et ralentissent le déphasage comme : le crémage ou la sédimentation. Ils peuvent être de nature huileuse ou aqueuse. Plusieurs études démontrent que la présence d'un gélifiant collabore à la stabilité des formules ou à l'augmentation de la viscosité des produits. L'efficacité des polymères dépend de la taille et de la forme de leurs molécules ainsi que des conformations qu'elles adoptent dans le solvant (BeMiller and Whistler, 1963). En résumé, leur efficacité dépendra de la concentration du polymère dans la phase aqueuse ou huileuse ainsi que des caractéristiques structurelles du système polymère (BeMiller and Whistler, 1963)(Quintana *et al.*, 2002). La gomme xanthane, la gomme guar et la fécule de pomme de terre sont des exemples d'hydrocolloïdes pouvant être incorporés dans la phase aqueuse des émulsions alimentaires afin d'en augmenter la viscosité

(Quintana *et al.*, 2002). Certains exemples de polymères lipophiles sont l'ethylcellulose, le polyéthylène glycol (PEG) et ses dérivés, ainsi que des acrylates (Gilbert and Savary, 2020).

Après avoir vu les possibles influences des ingrédients, nous constatons qu'ils peuvent exercer diverses influences sur les émulsions très concentrées. Qu'ils agissent en tant qu'agents émulsifiants ou stabilisants pour assurer la stabilité de l'émulsion, ils peuvent également influencer sa viscosité, sa texture et ses propriétés physico-chimiques. En résumé, les ingrédients jouent un rôle clé dans la formation et la qualité des émulsions concentrées. Nous allons désormais examiner les impacts de divers procédés.

6.2. Les Procédés

Dans cette section, afin de mieux comprendre l'influence des procédés, nous aborderons quatre points essentiels : la rupture des gouttelettes, les régimes d'écoulement, le type de mélangeur et la vitesse du mouvement.

6.2.1. Les rupture des gouttelettes

Concernant la formation des gouttelettes et, par extension, des émulsions, il est important d'introduire quelques concepts et grandeurs supplémentaires. Les gouttelettes dans une émulsion résultent de la rupture d'une goutte plus grande sous l'influence de forces externes. Cette rupture commence par la déformation d'une goutte de rayon R. Pour déformer une goutte, une pression extérieure (P) doit être appliquée, supérieure à la pression de Laplace ($\sim\sigma/R$), qui tend à maintenir la goutte sphérique. Ici, σ représente la tension de surface en [$N.m^{-1}$]. Le rapport entre ces deux grandeurs est un nombre sans unité (N) qui caractérise la déformation, ***Équation 9***. Plus la valeur de ce nombre est élevée, plus la déformation est importante. Au-delà d'une valeur critique (Nc), la goutte subira une rupture (Risso, 2000).

$$N = \frac{PR}{\sigma}$$

Équation 9 : *Équation que représente la rupture d'une goutte sous l'influence de forces externes.*

Maintenant, examinons comment calculer la pression (P) exercée sur une goutte lors de la formation d'une émulsion. Cette pression dépend du type de mélangeur utilisé, en particulier du régime hydrodynamique entourant la goutte, qu'il soit laminaire ou turbulent. Pour

caractériser ce régime, nous utilisons le nombre de Reynolds "particulaire" ***Équation 10*** qui exprime le rapport entre les forces inertielles et les forces visqueuses agissant sur la gouttelette (Vyhnalikova, Huilier and Burnage, 1998). Les variables impliquées comprennent la masse volumique de la phase continue(ρ_c), le diamètre de la goutte (d en mètres), la viscosité de la phase continue (η_c) et le gradient de vitesse ($\dot{\gamma}$).

$$Re = \frac{\rho_c \, d^2 \, \dot{\gamma}}{\eta_c}$$

Équation 10 : *Équation du nombre de Reynolds*

Il est important de connaître les ruptures de gouttelettes dans le processus d'une émulsion car cela peut avoir un impact significatif sur la stabilité et la qualité de l'émulsion finale. Les ruptures de gouttelettes peuvent se produire lors de différentes étapes du processus, telles que l'émulsification, l'agitation ou le stockage de l'émulsion. Elles peuvent être causées par divers facteurs tels que la force de cisaillement, la turbulence, la température ou la présence d'agents émulsifiants inadéquats. Pour ces raisons nous allons voir plus en détail les régimes d'écoulements un des responsables des ruptures de gouttelettes et de l'homogénéisation des émulsions.

6.2.2. Les régimes d'écoulement

Lorsque l'on mélange les deux phases dans un processus d'émulsification, il est essentiel d'assurer à la fois un effet de cisaillement pour déformer et rompre les gouttes, ainsi qu'une homogénéisation complète dans l'ensemble du récipient. Ils existent deux types d'écoulement : ***(a) l'écoulement laminaire et (b) l'écoulement turbulent.***

(a) Écoulement laminaire

Dans le processus d'émulsification, il existe principalement deux types d'écoulements, l'écoulement de cisaillement simple et l'écoulement hyperbolique.

- Lorsqu'un écoulement de cisaillement simple se produit, la goutte se déforme en une forme ellipsoïde. Si le nombre capillaire (Ca) est suffisamment élevé, cela peut entraîner la rupture de la goutte. Cependant, au fur et à mesure de l'émulsification, le (Ca) diminue. Lorsqu'il atteint une valeur critique (Ca_{crit}), la goutte ne peut plus se diviser. Ce nombre capillaire critique correspond au diamètre maximal de la goutte qui peut être fractionnée par des contraintes externes, et il dépend du rapport des viscosités (Rv) (Harnby, Edwards and Nienow, 1993) :

- Lorsque Rv est inférieur à 0,2, la goutte commence par se déformer en ellipsoïde, entraînant la formation de petites gouttelettes satellites lors de la rupture.
- Lorsque Rv est d'environ 1, la goutte se déforme initialement en ellipsoïde, puis une surface en forme de vague se forme, suivie de la rupture en gouttelettes, y compris des gouttelettes satellites.
- Si Rv est compris entre 1 et 3,8, la goutte se déforme en ellipsoïde au départ, puis une surface en forme de vague se développe, conduisant à la rupture de la goutte en deux gouttes plus petites.
- Lorsque Rv est supérieur à 3,8, la goutte se déforme en ellipsoïde, mais si la viscosité de la phase dispersée est bien plus élevée que celle de la phase continue, il devient extrêmement difficile de provoquer la rupture de la goutte

En résumé, un R_v plus faible peut faciliter la rupture des gouttes en gouttelettes plus petites.

- Concernant à l'écoulement hyperbolique, il provoque également une déformation de la goutte sous forme d'ellipsoïde, avec son grand axe aligné dans le sens de l'écoulement.

  Les travaux de Grace (Grace and Harold, 1982) ont mis en évidence la dépendance du nombre capillaire critique (Ca_{crit}) en fonction du rapport des viscosités (Rv), que ce soit dans un écoulement de cisaillement simple ou un écoulement hyperbolique. Cette recherche a permis d'établir les conditions de rupture d'une goutte. Il est plus aisé d'émulsionner lorsque la phase dispersée a une viscosité moindre que celle de la phase continue. Lorsqu'il s'agit d'un écoulement hyperbolique, cette facilité d'émulsification se traduit par une valeur plus basse du nombre capillaire critique (Ca_{crit}) par rapport à un écoulement de cisaillement simple, à un rapport (Rv) équivalent.

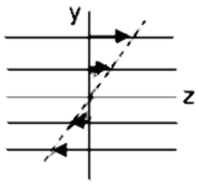
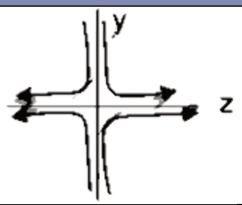
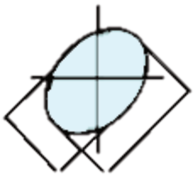
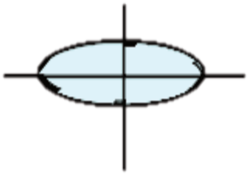
Types d'écoulements	Simple	Hyperbolique
Lignes d'écoulement		
Formes des gouttes		
Résumés	- Dans un écoulement de cisaillement simple, les lignes de courant se déplacent parallèlement les unes aux autres, créant une force de cisaillement. - Ce type d'écoulement provoque une déformation des gouttes d'une émulsion en ellipsoïdes. - Le fractionnement des gouttes (division d'une goutte en plusieurs plus petites) peut se produire lorsque le nombre capillaire (Ca) est suffisamment élevé. - La rupture des gouttes peut générer de petites gouttelettes satellites.	- Dans un écoulement hyperbolique, les lignes de courant s'éloignent de manière radiale, créant un écoulement élongationnel. - Ce type d'écoulement provoque également une déformation des gouttes en ellipsoïdes, mais avec le grand axe aligné dans le sens de l'écoulement. - L'émulsification est facilitée en écoulement hyperbolique, ce qui peut se traduire par une valeur plus basse du nombre capillaire critique (Ca_{crit}) par rapport à un écoulement de cisaillement simple à un rapport de viscosités (R_v) donné.

Tableau 12: *Résumé des types d'écoulements : simple et hyperbolique*

Dans un écoulement hyperbolique, les lignes de courant s'éloignent de manière radiale, créant un écoulement élongationnel. Ce type d'écoulement provoque également une déformation des gouttes en ellipsoïdes, mais avec le grand axe aligné dans le sens de l'écoulement.

L'émulsification est facilitée en écoulement hyperbolique, ce qui peut se traduire par une valeur plus basse du nombre capillaire critique (Ca_{crit}) par rapport à un écoulement de cisaillement simple à un rapport de viscosités (Rv) donné.

L'un des facteurs déterminants pour influencer la déformation et la rupture des gouttes est la viscosité de la phase continue. En effet, la force visqueuse qui provoque la déformation et la rupture des gouttes (si elle est suffisamment élevée) est directement liée à cette viscosité. Cependant, cette relation n'est valable que jusqu'à un certain seuil de fraction volumique de la phase dispersée Φ, surtout dans le cas des émulsions très concentrées (ETC). Un résumé sur l'écoulement simple et hyperbolique sont le ***Tableau 12***.

Au-delà de cette valeur critique de fraction volumique, une goutte contenue dans l'émulsion n'est plus uniquement influencée par les forces exercées par la seule phase continue, qui ne forme alors qu'un mince film autour de la goutte. Les forces visqueuses agissant sur l'ensemble de l'émulsion qui entoure la goutte. Par conséquent, c'est la viscosité de l'émulsion qui doit être prise en considération pour calculer le nombre capillaire (Ca), au lieu de la viscosité de la phase continue seule (Arditty, 2004).

(b) Écoulement turbulent

La théorie de Hinze-Kolmogorov explique que, dans un écoulement turbulent, la rupture des gouttes est principalement causée par des forces inertielles. Ces forces résultent des variations de pression au sein des tourbillons environnants, et la différence de pression associée peut être formulée comme suit, ***Équation 11*** (Hinze, 1955) :

$$\Delta p_{(x)} = \varepsilon_3^2 \, x_3^2 \, r_3^2$$

- *$\Delta p(x)$ = Taux de dissipation de l'énergie cinétique turbulent (w/m3)*
- *ρ= Massa volumique de la phase continue (kg/ m3)*
- *$\Delta p(x)$ = Différence de pression (Pa)*
- *χ= Longueur du tourbillon (m)*

Équation 11 : *Équation de la théorie de Hinze-Kolmogorov*

Si $\Delta p_{(x)}$ est plus élevée que la pression de Laplace (ΔP_L) à proximité d'un tourbillon, la rupture de la goutte est possible. Cette rupture peut être plus efficace si le diamètre de la goutte est égal à la taille du tourbillon.

En résumé un écoulement laminaire, les particules de fluide se déplacent de manière ordonnée et parallèle les unes aux autres, comme des couches glissant les unes sur les autres. Cela crée un flux régulier et prévisible, avec peu ou pas de turbulence. Cependant, dans un écoulement turbulent, les particules de fluide se déplacent de manière chaotique et désordonnée, avec des tourbillons et des remous. Cela crée un flux irrégulier et difficile à prévoir, avec des fluctuations rapides de la vitesse et de la pression.

6.2.3. Les méthodes et mélangeurs classiques

Comme précédemment expliqué, la rupture des gouttes et la création d'une émulsion nécessitent une injection d'énergie et une mise en mouvement des fluides. Dans cette section, nous allons discuter de plusieurs mélangeurs et techniques couramment utilisés en laboratoire et dans l'industrie pour former des émulsions. Étant donné le grand nombre de ces géométries, nous aborderons la réalisation d'émulsions au moyen de ces mélangeurs de manière générale, sans détailler les spécificités propres à chaque géométrie.

L'intérêt principal sera de déterminer leur efficacité dans la création d'émulsions très concentrées. Il existe essentiellement 3 types des mélangeurs : ***(i) écoulement radial ; (ii) écoulement axial*** **et** ***(iii) écoulement tangentiel.*** Les émulsions très concentrées sont le plus souvent associées à un écoulement radial, comme en témoignent plusieurs études (Tripathi *et al.*, 2017a) (Paruta Tuarez, 2010) (Yang *et al.*, 2018). En revanche, l'écoulement axial est moins fréquent, comme démontré dans l'étude menée par (Zhang, Dai and Wong, 2008). Enfin, il est également possible de rencontrer des émulsions très concentrées avec un écoulement tangentiel, comme cela a été observé dans l'étude de Caubet en 2010 (Caubet, 2010).

(i) Les mélangeurs pour un écoulement radial :

L'écoulement radial est le mouvement où il se propage depuis le centre vers l'extérieur, ou vice versa, selon le contexte. Cet écoulement est caractérisé par des lignes de courant qui divergent ou convergent à partir d'un point central. Il se produit généralement en 4 zones de circulations, deux au-dessous et deux au-dessus de l'agitateur. Ce changement de circulation que crée le cisaillement. L'écoulement radial est connu pour sa capacité à favoriser un mélange efficace des fluides ou des particules, car il crée des zones de cisaillement élevé et de turbulence, aidant ainsi à homogénéiser les composants du mélange. Les exemples de mélangeurs sont : turbines et le rotor-stator.

(ii)Les mélangeurs pour un écoulement axial :

Dans l'écoulement axial, l'émulsion se déplace en suivant un mouvement parallèle à l'axe de l'agitateur, circulant de haut en bas au centre à travers la section rotative de l'agitateur, puis de bas en haut le long des parois. Dans ce processus, la recirculation joue un rôle essentiel. Les agitateurs responsables de la génération de cet écoulement axial incluent les hélices, adaptées aux milieux moins visqueux, et les rubans hélicoïdaux, particulièrement efficaces pour les milieux plus visqueux. Ce type

d'agitateur est fréquemment utilisé dans diverses applications industrielles pour garantir un mélange efficace et homogène des composants, en particulier lorsque les fluides présentent une gamme de viscosités variables.

(iii)Les mélangeurs pour un écoulement tangentiel :

L'écoulement tangentiel est un déplacement du liquide tangentiellement le long de la paroi. Ce type d'agitateur est très intéressant lorsque l'émulsion est visqueuse, pour évier les sédimentations sur la paroi. Les agitateurs sont des ancres.

Il convient de souligner que les agitateurs présentent toujours les deux caractéristiques (axial er radial) de l'écoulement, bien que l'une soit généralement prédominante par rapport à l'autre, comme illustré dans la ***Figure 24***, ci-dessous.

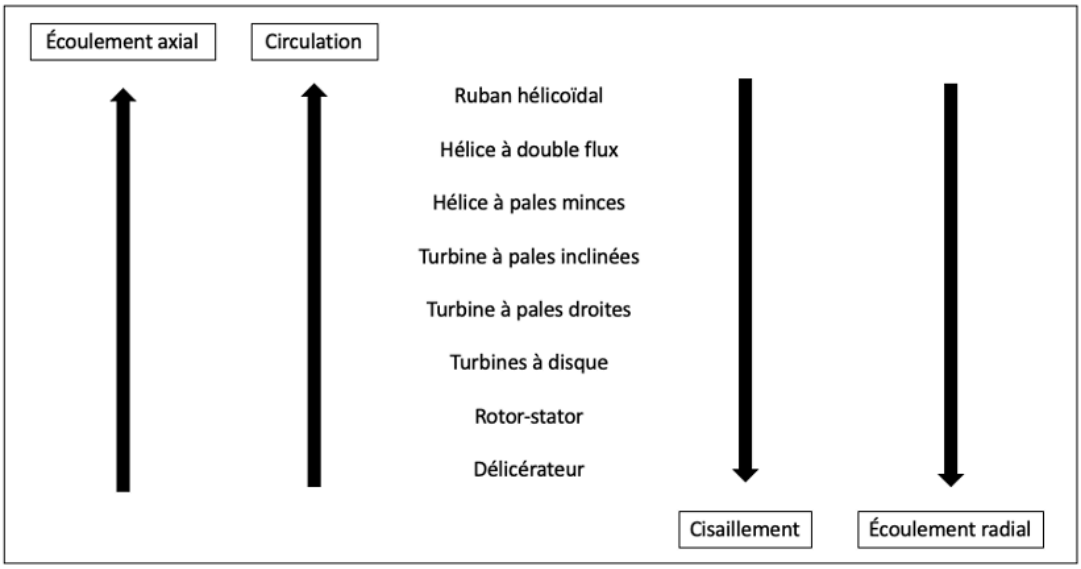


Figure 24 : *Classement des mélangeurs.*
Les caractéristiques de circulation /cisaillement et écoulement axial/radial (Chevalier, Bolzinger and Puel, 2015b).

Lors de la réalisation d'une émulsion, ces agitateurs peuvent avoir des vitesses de rotation allant de quelques centaines jusqu'à plusieurs milliers de rotations par minute (rpm), afin d'assurer un mélange homogène en fonction de leur géométrie, du volume et de la viscosité des fluides. Le mélange se fait généralement en milieu fortement cisaillé ou en régime turbulent (Dicharry, 1994). L'émulsification est relativement rapide, et la taille finale des gouttes est obtenue en quelques minutes. La phase continue est généralement celle dans laquelle le tensioactif se dissout le mieux, selon la loi empirique de Bancroft (Babak and Stébé, 2002). Toutefois, cette loi ne s'applique que lorsque les quantités volumiques des deux phases en présence sont proches. Dans le cas contraire, la phase continue aura tendance à être celle dont le volume est le plus important au début du mélange.

Obtenir des émulsions très concentrées (ETC) avec ce type de mélangeur n'est pas facile, et il faut souvent plusieurs étapes. Dans un premier temps, une émulsion intermédiaire contenant un volume équivalent de phase aqueuse et huileuse peut être réalisée en ajoutant rapidement les deux phases l'une à l'autre. Le choix du tensioactif est crucial pour obtenir l'émulsion souhaitée : huile dans eau (H/E) ou eau dans huile (E/H). Ensuite, le reste de la phase dispersée est ajouté progressivement (parfois même goutte à goutte) jusqu'à obtenir l'ETC (Fradette, Brocart and Tanguy, 2007)(Alvarez *et al.*, 2010). Il arrive également que la vitesse de rotation ou le type d'agitation soient modifiés entre ces deux étapes. Dans un premier temps, une vitesse élevée permet une émulsification plus rapide et une taille de goutte plus petite et homogène. Ensuite, la deuxième phase est incorporée sous agitation plus douce pour limiter l'inversion de phase (Bibette *et al.*, 1992). D'autres études ont également ajouté doucement la phase huileuse à une vitesse de 700 r/min pendant 1 minute, puis augmenté la vitesse à 1400 r/min jusqu'à l'émulsification. Des méthodes de préparation ETCs similaires ont été utilisées dans des études antérieures, telles que celles de Foudazi, Masalova et Malkin, en fonction des besoins spécifiques de chaque cas (Foudazi and Masalova, 2010)(Masalova, Slatter and Wilson, 2004) (Malkin *et al.*, 2004).

6.2.4. Vitesse et temps de mélange

La vitesse de mélange et la durée du processus de mélange se sont avérées avoir des impacts significatifs à l'échelle microscopique et macroscopique, par conséquent, sur les propriétés rhéologiques des émulsions. En raison de cela, ce sont des variables cruciales pour la formation des émulsions et leur stabilité. Une vitesse de mélange plus élevée et une durée de mélange prolongée favorisent la formation de gouttelettes plus petites, enveloppées par une fine pellicule de la phase continue. Une étude de Tripathi a mis en évidence que l'allongement de la durée de l'émulsification entraîne une plus grande polydispersité des gouttelettes ainsi que des tailles de gouttes réduites. Cela se traduit par des échantillons présentant des gouttelettes plus petites qui affichent une viscoélasticité plus élevée, avec un module élastique (G') renforcé. De plus, l'épaisseur effective du film de phase continue entre les gouttelettes peut être considérée comme le paramètre clé pour contrôler la viscoélasticité globale des échantillons HIPE(Tripathi *et al.*, 2017a).

Une autre étude menée par Zhang en 2018 a également démontré comment la vitesse d'émulsification peut influencer les structures des émulsions très concentrées. (Zhang *et al.*,

2018) . Plus la vitesse de rotation est élevée, plus les gouttelettes sont petites, et plus le temps de mélange est long, plus les gouttelettes sont petites, comme le montre la ***Figure 26***. En conséquence, l'émulsion a une capacité accrue à récupérer sa viscosité après un fort cisaillement. Cela suggère qu'il est plus facile de retrouver la situation initiale lorsque la taille des gouttelettes de la phase dispersée est réduite. La stabilité de la structure des ETCs sous cisaillement est améliorée avec la diminution de la taille des gouttelettes. Cependant, contrairement au modèle de cisaillement, la taille des gouttelettes n'a pas eu d'effet sur la capacité de récupération des ETCs en mode oscillation (balayage contrainte). Le module élastique G′ des ETCs avec différentes tailles de gouttelettes dans la phase de récupération était similaire au module élastique G′ de la phase du repos, ***Figure 25*** (Zhang *et al.*, 2018).

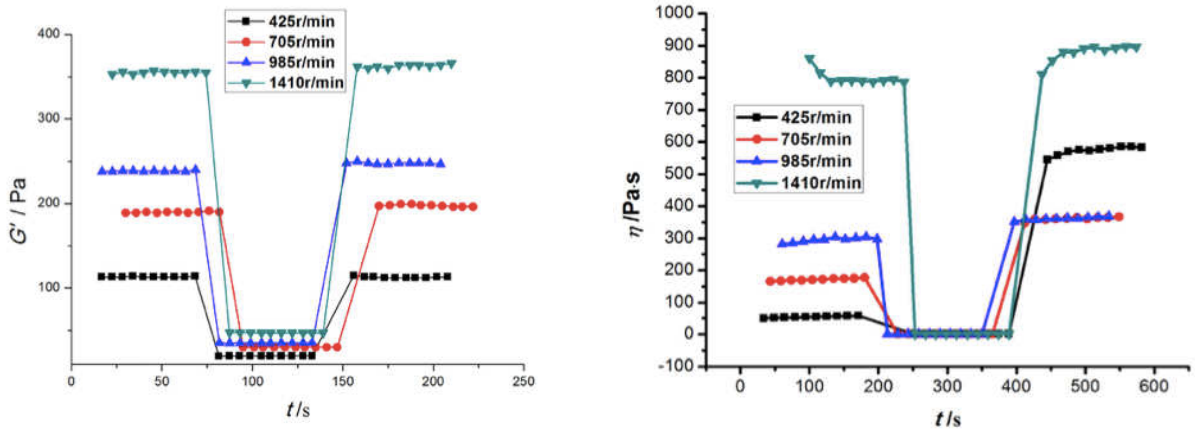


Figure 25 : *Graphiques des ETCs et ses capacités de récupération.*
Capacité de récupération des ETCs formés à différentes vitesses de rotation, en fonction de l'oscillation (A). Capacité de récupération des ETCs formés à différentes vitesses de rotation, en fonction du cisaillement (B)
(Zhang et al.*, 2018).*

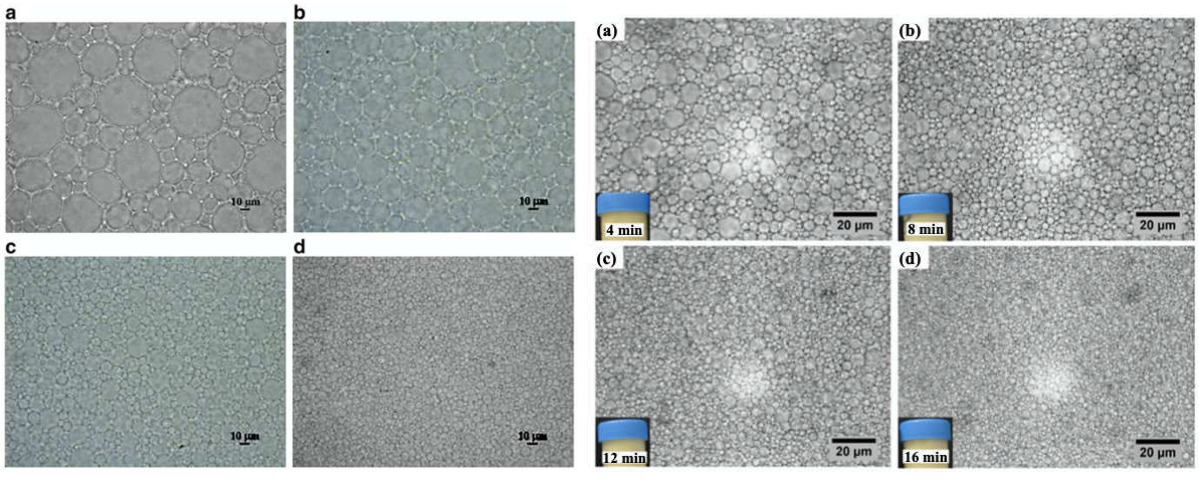


Figure 26 : *Images de microscopie optique.*

À gauche la représentation de la taille des gouttelettes d'une émulsion très concentrée eau dans huile, par rapport la vitesse de cisaillement.
a. 425r/min ; b. 705r/min ; c. 985r/min et d.1410r/min (Zhang , 2018). À droite la représentation de la taille de gouttelette par rapport au temps. a. 4min ; b. 8min ; c. 12min et d. 16min (Tripathi et al.*, 2017a)*

En conclusion, cette partie de la thèse met en lumière l'importance cruciale des ingrédients, tels que l'huile, l'émulsionnant, le sel et le polymère, ainsi que du procédé, incluant la rupture des gouttelettes, le type de mélangeur, et la vitesse et le temps d'homogénéisation, dans la formulation et la stabilité des émulsions. Il est clair que le choix judicieux des ingrédients et la manipulation appropriée du processus de fabrication jouent un rôle déterminant dans la qualité et la durabilité des émulsions résultantes. Cependant, il est essentiel de noter que la stabilité des émulsions reste un défi continu et nécessite une exploration continue de nouveaux ingrédients, processus et techniques pour atteindre des formulations encore plus stables et fonctionnelles.

7. PROTOCOLE DE STABILITÉ

Après avoir compris l'importance de la stabilité dans l'industrie et avoir vu les principaux phénomènes d'instabilité dues aux possibles influences des ingrédients (émulsionnants, huiles, sel entre autres) et procédures (type de mélangeur, vitesse et débit d'incorporation), l'étape suivante est de pouvoir connaître les types et possibles méthodes d'analyse. Il s'agit de tests de stabilité qui permettent de s'assurer que le produit répond aux normes physiques, chimique et microbiologique prévues lorsqu'il est stocké dans des conditions normales et raisonnablement prévisibles. Le produit est ainsi exposé à des différentes conditions normales et/ou extrêmes pour simuler les possibles situations que les produits puissent subir (Reeve and Amigoni, 2008).

Actuellement, dans la réglementation cosmétique CE n° 1223/2009 il n'existe pas de définition officielle pour la stabilité (Bedoux, 2016). En revanche il existe plusieurs documents officiels que présentent lignes directrices pour l'étude de stabilité comme :

- ICH Guidance for Industry (FDH) (ICH Q1C Guideline, 2019)
- Guidelines on stability testing of cosmetic products (Cosmetic Europe) (COLIPA GUIDELINES and Efficacy Evaluation of Cosmetic, 2008)
- Cosmetic products stability guide (ANVISA) (ANVISA, 2005)
- Annexe II- Produits de protection solaire : stabilité. Proposition de condition d'études (ANSM) (AFSSAPS, 2007)
- Lignes directrices pour l'application de l'annexe I du règlement n° 1223/2009 (CE) (ISO 11930:2019, 2019)

Cependant, il incombe au fabricant de définir les conditions des tests de stabilité en précisant les paramètres utilisés, les méthodes employées, ainsi que les critères de tolérance.

Cependant, il incombe au fabricant de définir les conditions des tests de stabilité en précisant les paramètres utilisés, les méthodes employées, ainsi que les critères de tolérance.

Conformément aux directives de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS) et de la Conférence internationale sur l'harmonisation (CIH), un protocole de stabilité a été établi pour les produits solaires, qui peut également servir d'exemple pour les

analyses de stabilité des produits cosmétiques en général. Ce protocole comprend six points clés : ***(i) la quantité de lots à analyser, (ii) la fréquence et la durée des essais, (iii) la description des conditions de stockage à température réelle, (iv) la validation du type de méthodes et de ses paramètres, (v) la définition des analyses appropriées, et (vi) les critères d'acceptation des résultats*** (AFSSAPS, 2007), le résumé sont sur la ***Figure 27***.

(i) Le nombre des lots :

Le nombre de lots requis pour un suivi de stabilité doit être d'au moins trois. Ces lots comprennent la première production, un lot pilote et un troisième lot destiné au laboratoire (servant de produit de référence pour le dossier cosmétique). De plus, il est impératif qu'au moins l'un de ces lots soit représentatif d'une production typique et fasse l'objet d'essais en temps réel, à une température ambiante de 22,5°C ± 2,5°C, avec une justification complète et appropriée.

(ii) La fréquence et durée des tests :

En ce qui concerne les tests à long terme, pendant la première année, des analyses régulières sont effectuées tous les 3 mois. Pour la deuxième année, la fréquence des tests est réduite à une fois tous les 6 mois. Ensuite, les tests sont réalisés annuellement jusqu'à la date d'expiration du produit.

(iii) La description des conditions de stockage à long terme (temps réel) :

Les conditions de stockage sont définies comme les variations acceptables de la température et de l'humidité relative (RH). La durée est de minimum de 12 mois et le test peut se passer dans trois conditions :

- 25°C ± 2 °C 60% RH ± 5% RH
- 30°C ± 2 °C 65% RH ± 5% RH
- 30°C ± 2 °C 75% RH ± 5% RH

(iv) La validation des méthodes d'analyse de référence :

Elle vise à garantir la fiabilité des données, en s'assurant que ces méthodes sont exactes, spécifiques et précises. Cette validation permet de fournir des preuves documentées que la méthode rempli son objectif prévu. Si les résultats sont sensibles aux variations des conditions d'analyse, celles-ci doivent être contrôlées de manière adéquate, ou une mise en garde doit être incluse dans la procédure.

(v) Les méthodes d'analyse :

Elles sont sélectionnées en fonction de la forme galénique, de la composition et de la fonction du produit. En ce qui concerne les produits solaires, les analyses sont

divisées en deux parties. La première concerne les paramètres de contrôle non spécifiques, liés à la formulation et au conditionnement du produit. Ensuite, la deuxième partie porte sur les paramètres de contrôle spécifiques, tels que les filtres solaires.

Paramètres liés à la formulation

- Analyses organoleptiques : couleur, odeur, aspect macroscopique et microscopique ;
- Analyses physico-chimique : pH et viscosité ;
- Propreté microbiologique ;
- Test d'efficacité des agents de conservation.

Paramètres liés au conditionnement

- Vérification de l'étanchéité (ex : masse) ;
- L'évaluation de la perte d'eau et des substances volatiles ;
- Intéractions contenu/contenant. L'absence de mise en œuvre de cet essai est justifiée et les justifications versées au dossier.

D'autres études complémentaires peuvent être réalisées selon le type de galénique et le type de produit. Par exemple : l'analyse par colorimétrie, l'analyse de texture, la rhéologie, les études d'efficacité, les analyses biochimiques entre autres.

(vi)Critères d'acceptation de résultats :

Pour qu'un résultat physique, chimique ou microbiologique soit accepté, il doit être comparé à ceux des autres lots fabriqués dans des conditions similaires. Le degré de variation d'un lot à l'autre déterminera si cette production demeure conforme aux spécifications ou non. C'est pourquoi la répétabilité et la reproductibilité sont des aspects indispensables dans ce contexte.

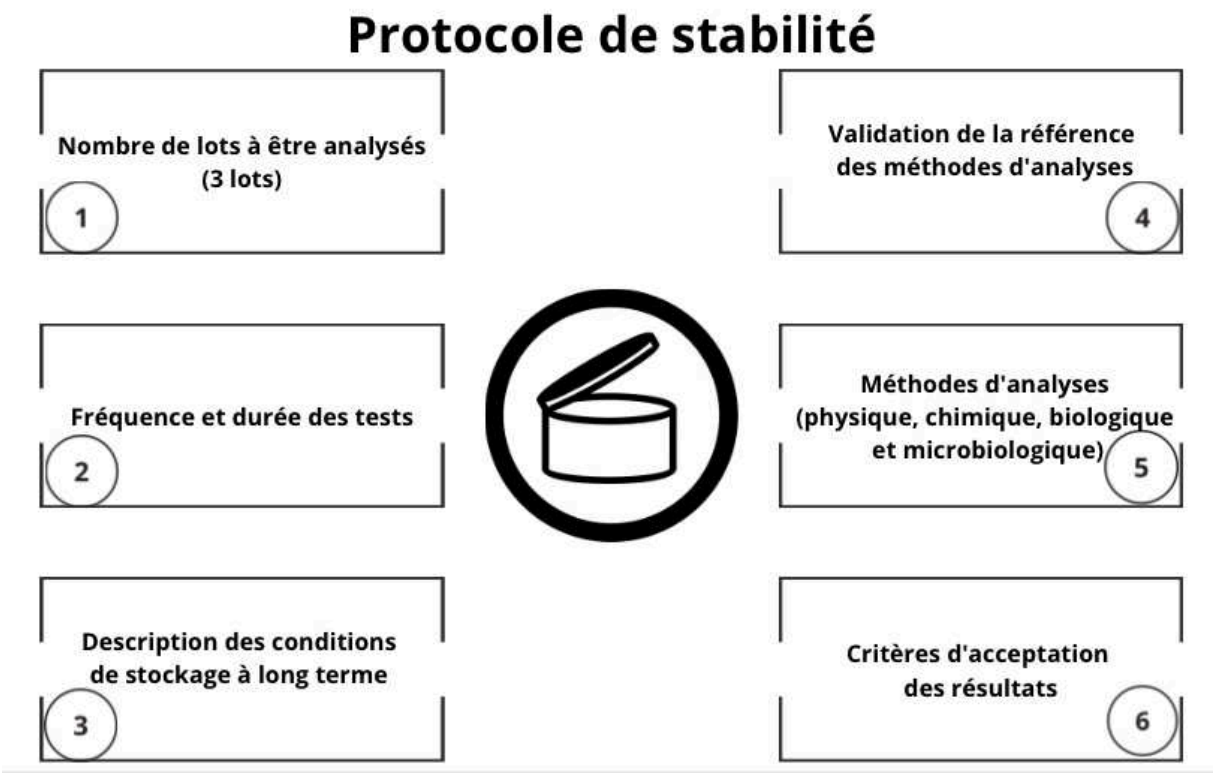


Figure 27 : *Protocole de stabilité d'un référentiel pharmaceutique.*
« La Conférence internationale sur l'harmonisation » (CIH) dans l'objectif d'harmoniser les protocoles de stabilité de produits solaires
(Rahi and Rana, 2019).

Il est essentiel de noter que ce protocole doit être répété chaque fois que le produit subit des modifications susceptibles d'affecter sa stabilité et/ou sa sécurité, telles que des changements de processus, d'équipement, d'ingrédients ou de fournisseurs, ainsi que des modifications de conditionnement ou de pilote, entre autres (Huynh-Ba and Beumer Sassi, 2018).

7.1. Protocole en temps réel et accélérés

Il existe essentiellement deux conditions d'analyse : ***(i) stabilité en temps réel ; (ii) stabilité en conditions moyennes ou accélérés*** (ICH Q1C Guideline, 2019)(AFSSAPS, 2007).

(i) La stabilité réelle :

Est la manière plus fiable de vérifier comment un produit va vieillir dans le temps « sur étagère ». La température ambiante peut varier entre 25 °C et 30°C. Conforme CIH ou AFSSAPS.

(ii) Les tests en conditions moyennes ou accélérés :

Ont comme objectif de permettre un diagnostic plus rapide et d'observer leurs limites de stabilité. Le test en conditions accélérés sont recommandés, par exemple, par des cycles, entre -10 °C et +50 °C. Une autre possibilité sont de cycles de centrifugation intenses ou des cycles de refroidissement/ réchauffement répétées (Afssaps). Les valeurs adoptées par l'ANVISA sont :

- Réchauffement d'échantillon

  T = 37°C ± 2°C

  T= 40°C ± 2°C

  T= 45°C ± 2°C

  T= 50°C ± 2°C

- Refroidissement d'échantillon

  Réfrigérateur : 5°C ± 2°C

  Congélateur : -5°C ± 2°C ou -10°C ± 2°C

En revanche les tests en conditions accélérés ne dispensent pas les tests en temp réel.

Conforme CIH, la fréquence des tests accélérés, il se passe tous les 3 mois (0, 3 et 6 mois). Quand il y a un grand décalage entre 3 et 6 mois, il est conseillé de prendre en compte le résultat de tests à long terme(réels)(Rahi and Rana, 2019). On peut voir sur le ***Tableau 13***.

Type d'analyse	Conditions d'analyse	Période	Fréquence
Temps réel	25°C ± 2°C 60% RH ± 5% RH 30°C ± 2°C 65% RH ± 5% RH 30°C ± 2°C 75% RH ± 5% RH	12mois	0, 6, 9 et 12mois
Accéléré	40°C ± 2°C 75% RH ± 5% RH	6mois	0, 3 et 6mois

Tableau 13 : *Les trois conditions d'analyse et ses périodes de fréquence, conforme CIH.*

7.2. Méthodes d'analyse

Les analyses sont divisées essentiellement en quatre analyses : les analyses organoleptiques, les analyses physiques, les analyses chimiques et les analyses microbiologiques.

7.2.1. Analyses organoleptiques

Les analyses organoleptiques font partie des premiers tests. Ils sont des tests que vont comparer : (***i) son apparence, (ii) sa couleur et (iii) son odeur.*** Pour celui-ci il faut utiliser un échantillon comme référence, bien conservé, à une température adéquate et abrité de lumière.

(i) Apparence :

Les caractéristiques de l'échantillon sont évaluées visuellement en recherchant d'éventuelles modifications macroscopiques. L'apparence peut être décrite de différentes manières, par exemple : granuleuse, sèche, humide, cristalline, pâteuse, gélifiée, liquide, visqueuse, volatile, homogène, hétérogène, transparente, opaque, laiteuse, etc.

(ii) Couleur :

Différentes méthodes sont utilisées pour évaluer la couleur, parmi lesquelles les méthodes visuelles et spectrophotométriques sont les plus courantes. Méthode visuelle : Dans cette méthode, la couleur de l'échantillon est comparée à une référence établie, généralement contenue dans un flacon aux spécifications identiques. La comparaison se fait à la lumière naturelle ou à l'aide de sources lumineuses spéciales, telles que des chambres équipées de différentes sources lumineuses. Méthode Spectrophotométrique :Dans cette approche, l'échantillon du produit à étudier, qu'il soit pur ou en solution, est soumis à une analyse spectrophotométrique dans la plage de lumière visible. Le spectre obtenu est ensuite comparé à un spectre de référence. Les variations d'intensité de la bande (hyperchromie et hypochromie) indiquent des altérations dans l'intensité de la couleur, voire une modification de la matière colorante. Cette méthode est particulièrement courante pour l'analyse de produits tels que les fards à paupières, le blush, le fond de teint, les rouges à lèvres, etc.

(iii) Odeur :

L'odeur de l'échantillon est comparée directement au modèle établi, en la sentant (ANVISA, 2005).

Les classifications des analyses organoleptiques sont sur le ***Tableau 14*** ci-dessous.

Analyse organoleptique	Classifications
Apparence	- Normal, sans altération - Légèrement séparé, légèrement précipité ou légèrement trouble - Séparé, précipité ou trouble
Couleur et Odeur	- Normal, sans altération - Légèrement modifié - Modifié - Fortement modifié

Tableau 14: *Les classifications organoleptiques d'apparence, couleur et odeur.*

7.2.2. Analyses chimiques

Ces analyses revêtent une importance capitale pour examiner les modifications dans la structure de la formulation, même lorsque ces changements ne sont pas visuellement perceptibles. Elles sont essentielles pour identifier les problèmes potentiels de stabilité, qu'ils proviennent des ingrédients utilisés ou du processus de fabrication. Les méthodes analytiques utilisées dans cette démarche incluent :

(i) Analyse de la composition chimique :

Cette analyse repose sur des techniques avancées telles que la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et la spectrométrie de masse (MS) (Smith and Dolan, 2017). La chromatographie HPLC permet la séparation et la quantification précises des composants individuels dans un échantillon, tandis que la spectrométrie de masse permet d'identifier et de quantifier des composants spécifiques, y compris ceux en faibles concentrations (Kreimer *et al.*, 2015). Les variations observées dans la composition chimique peuvent révéler des réactions indésirables ou des altérations des ingrédients du produit (Vardar-Ünlü *et al.*, 2007).

(ii)Analyse de la pureté :

L'évaluation de la pureté fait appel à des techniques analytiques avancées telles que la spectroscopie infrarouge (IR) et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) (Kreimer *et al.*, 2015). La spectroscopie IR permet d'identifier et de quantifier les impuretés et les contaminants dans les produits cosmétiques, tandis que la spectroscopie RMN peut fournir des informations détaillées sur la structure des composants (Zhang, Zong and Liu, 2018).

(iii)Analyse du pH :

La mesure du pH est cruciale pour évaluer la stabilité et l'efficacité des produits cosmétiques. Les variations de pH peuvent être surveillées à l'aide d'un pH-mètre, et des ajustements peuvent être effectués pour maintenir le pH optimal (Rosso *et al.*, 2016). Les mesures de pH sont effectuées aussi pour une évaluation thermique en exposant le produit à des températures élevées ou basses et en surveillant les changements de composition. Ces tests de stockage thermique aident à évaluer la stabilité du produit face à des conditions environnementales extrêmes.

(iv)Analyse de l'oxydation :

Les produits cosmétiques contenant des ingrédients sensibles à l'oxygène, comme les huiles végétales, sont soumis à des tests chimiques et spectroscopiques pour détecter la formation de produits d'oxydation (Gülçin, 2012). Ces méthodes permettent de surveiller l'altération des composants due à l'oxydation.

(v)Analyse de la dégradation des colorants :

Les produits cosmétiques colorés font l'objet d'analyses spectroscopiques pour surveiller la dégradation des colorants au fil du temps, garantissant ainsi le maintien de la couleur désirée (Bekto and Huang, 2022).

Il convient de noter que la liste précédente répertorie les analyses chimiques potentielles en cosmétologie. Cependant, la sélection des tests spécifiques dépendra du type de produit cosmétique, de ses fonctions, de la composition des ingrédients, ainsi que de la complexité de la formulation. Par exemple, pour les produits de maquillage, il est impératif de réaliser des tests de colorimétrie afin de détecter toute altération de la couleur due aux colorants. En revanche, pour les émulsions, ces tests peuvent être moins prioritaires étant donné la fonction du produit.

7.2.3. Analyses physiques

La notion de stabilité physique d'un produit cosmétique est directement liée à sa capacité à conserver ses propriétés physiques. Le manque de stabilité est caractérisé par les modifications en sa structure et donc de ses réseaux intermoléculaires ou de sa distribution spatiale. Comme les émulsions sont métastables, différents processus et méthodes sont observés au fur et à mesure du temps et en différents conditions. Les méthodes analytiques utilisées dans cette démarche incluent :

(i) Analyse rhéologique :

La rhéologie est l'étude des propriétés de l'écoulement des produits. Elle est souvent utilisée pour évaluer la stabilité des formulations cosmétiques, en particulier des émulsions, en mesurant la manière dont elles réagissent aux contraintes mécaniques (Barnes, 1999). Il faut savoir qu'une crème, depuis son élaboration à l'échelle industrielle va être soumise à d'importantes perturbations mécaniques par des tuyaux vers des mélangeurs ou vers des cuves de stockage. En plus elle passe par des vannes et subit de fortes pressions lors du remplissage des flacons.

L'objectif de la rhéologie est de simuler les diverses situations auxquelles une crème est soumise tout au long de sa durée de vie. Ainsi, des analyses de viscosité à différents niveaux de cisaillement, tant faibles que forts, sont nécessaires pour observer le comportement des échantillons dans ces conditions. Cela permet de s'assurer que la force appliquée sur l'échantillon ne conduira pas à sa déstructuration. De plus, étant donné que les crèmes doivent souvent être stockées pendant de longues périodes, des analyses à très bas niveau de cisaillement sont également réalisées pour évaluer leur viscosité à différentes périodes, telles que J+1, 1 mois, 3 mois, 6 mois, voire 1 an. Cela permet d'observer leur évolution et leur vieillissement au fil du temps (Bedoux, 2016).

Quelques signes de déstabilisation peuvent être vérifiés, tels que l'évolution des paramètres du seuil d'écoulement au cours du stockage, car cela indique un changement dans la structure du produit. Un autre exemple est la floculation qui est facilement détectable par une augmentation de la viscosité à cisaillement nul et une diminution du caractère thixotrope. Le phénomène de coalescence peut être détecté en effectuant des mesures d'écoulement à des intervalles de temps réguliers au cours du stockage, car il provoque une diminution significative des paramètres de la courbe (module élastique, consistance, viscosité à cisaillement nul, plateau du domaine de viscoélasticité linéaire) (Reeve and Amigoni, 2008).

(ii)Analyse microscopique :

Les techniques de microscopie, telles que la microscopie optique, la microscopie électronique à balayage (MEB) et la microscopie confocal, permettent d'examiner la structure et la morphologie des produits cosmétiques à l'échelle microscopique. Elles peuvent révéler des informations sur la distribution des phases, les éventuelles séparations de phases et d'autres caractéristiques structurelles (Ruste, 2003)(Shyam, 2004).

(iii)Analyse de la diffusion de lumière :

Cette méthode repose sur la mesure de la variation de la diffusion de la lumière à travers un échantillon au fil du temps. Elle permet de détecter les phénomènes tels que la sédimentation, le crémage, la coalescence et la séparation de phases dans les produits colloïdaux. Le TURBISCAN est couramment utilisé pour évaluer la stabilité des émulsions cosmétiques (Mengual *et al.*, 1999).

(iv)Analyse de la diffusion nucléaire (NMR) :

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (NMR) est utilisée pour étudier les changements dans la mobilité des molécules au sein d'une formulation. Elle peut révéler des informations sur la dynamique des molécules, la stabilité des émulsions et la détection de possibles interactions entre les composants (Fournial, 2008).

(v)Analyse de la taille des particules :

Les techniques telles que la diffraction laser (DLS) permettent de mesurer la taille des particules présentes dans une formulation. Ces mesures peuvent fournir des informations sur la distribution des tailles de particules et sur la stabilité des émulsions (Falke and Betzel, 2019).

Galénique	Analyses de stabilité
Émulsion colloïdale H/E de Pickering	Analyse visuelle Analyse sensorielle Analyse de taille des gouttes Analyse diffusion de lumière Microscopie optique
Émulsion huile essentielle	pH et conductivité Analyse de taille des gouttes Viscosimètre/ Rhéologie Potentiel zêta Point flash
Nano-émulsion	Analyse de taille des gouttes Potentiel zêta Microscopie électronique à balayage
Émulsions H/E	Analyse visuelle Test centrifugation Rhéologie Microbiologie
Émulsions Très Concentrée E/H	Analyse visuelle Viscosimètre/ Rhéologie Microscopie otique/confocal

Tableau 15 : *Exemples d'analyses de stabilité possibles pour chaque type de galénique (Bedoux, 2016).*

Comme vu précédemment, il existe plusieurs types d'analyses de stabilité, mais il est important de souligner que ces analyses dépendront directement du type de galénique de chaque produit, ***Tableau 15***. Chaque galénique a ses propres spécificités et ses configurations différents (Bedoux, 2016).

7.2.4. Analyses microbiologiques

La société actuelle est de plus en plus intéressée et exigeante. Un des rôles plus importants des entreprises cosmétiques est d'assurer la qualité microbiologique des matières premières et des produits finis dans les conformités du Règlement (CE) n° 1223/2009 (RÈGLEMENT (CE) No 1223/2009, 2009). Le principal objectif de la conservation microbiologique est d'assurer la sécurité des consommateurs. Un produit contaminé, peut être dangereux pour les consommateurs et provoquer des infections cutanées et des irritations. Le deuxième objectif, est la stabilité du produit cosmétique. Avec le développement des microorganismes, est possible d'avoir des changements de pH et des interactions que peuvent entraîner des problèmes de stabilité comme changement de texture, pH, couleur et d'odeur.

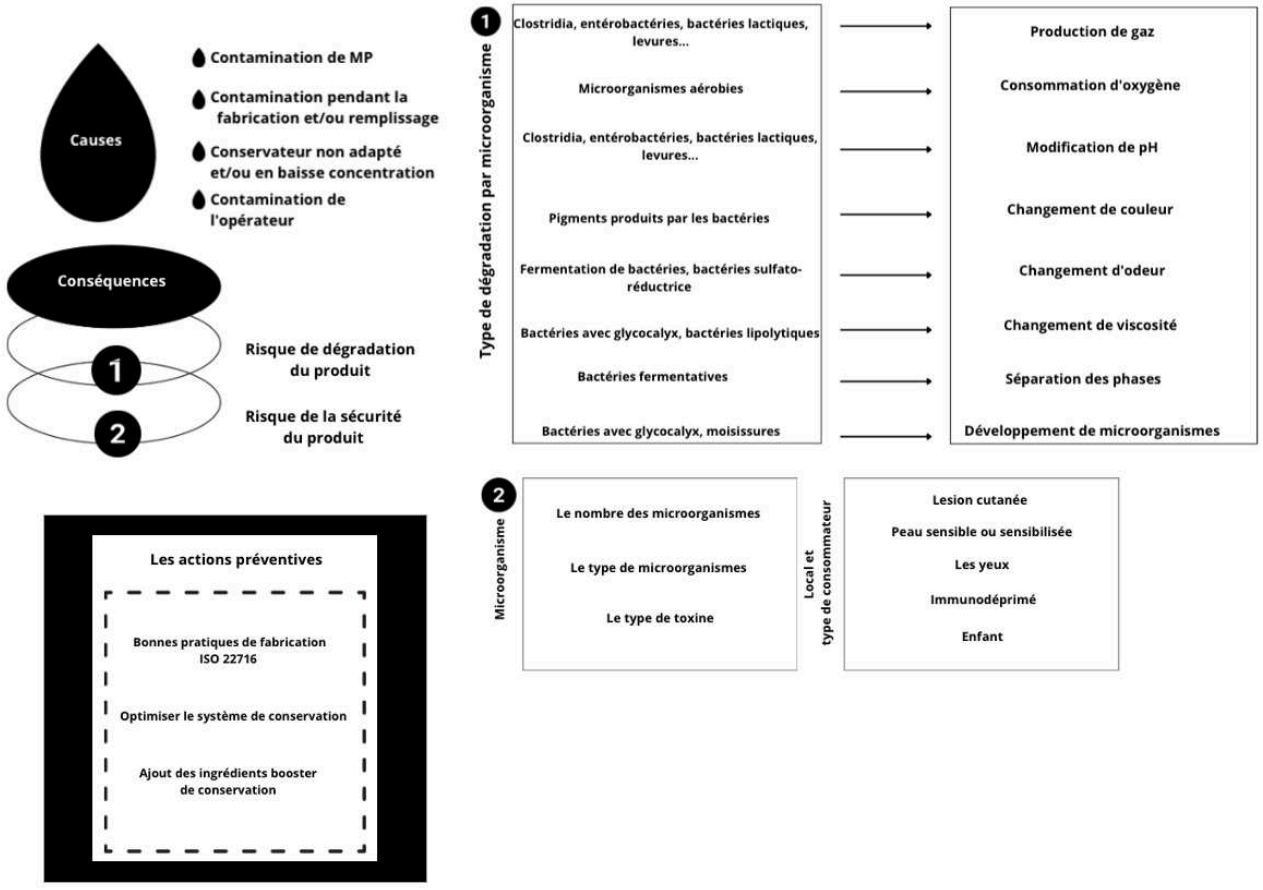


Figure 28 : *Causes, conséquences et actions préventives de la contamination des cosmétiques.*

La majorité des soins cosmétiques sont constitué en grande part d'eau et d'un pH entre 5,0 et 7,0. Ces conditions sont favorables au développement des bactéries, moisissures ou levures, comme : *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphyloccocus aureus* et *Candida albicans* (Berthele *et al.*, 2014). Pour cette raison il est nécessaire qu'un système puisse conserver et protéger les formules. Un résumé des causes, conséquences et actions préventives de la contamination se trouve sur la, ***.***

Figure 28.

Figure 28 : *Causes, conséquences et actions préventives de la contamination des cosmétiques.* (Halla *et al.*, 2018).

Basé sur la norme ISO 17516 : 2014 et au Comité Scientifique Européen pour la Sécurité des Consommateurs, il existe deux catégories différentes de produits cosmétiques, concernant les limites qualitatives et quantitatives des microorganismes (ISO 17516:2014, 2014). Les produits de la **catégorie 1** qui sont destinées aux enfants moins de 3 ans, personnes âgées, peau endommagée (acnéique ou atopique), contour des yeux et les muqueuses, où les limites acceptables sont à 100 ufc/ml ou 100 ufc/g du produit. Ensuite les autres produits de la **catégorie 2** où les limites sont plus hautes et ne doivent pas dépasser de 1000 ufc/ml ou 1000 ufc/g (Feuilloley and Orange, 2019).

Entre tous les produits cosmétiques ils existent aussi des produits qui s'appellent « produits de faible risque ». Cette appréciation repose sur la norme ISO 11930 (L'évaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique). Ce sont des produits à faible risque de développement microbiologique.

À cause de leurs caractéristiques qui créent un milieu défavorable à la croissance des microorganismes, les exemples plus communs sont : le pH extrêmement bas autour de 3 ou extrêmement haut autour de 10, la présence de plus de 20% d'alcool, les solvants organiques, les anhydres, l'activité de l'eau (A*w*) moins de 0,75 et la température de remplissage. Les exemples de produits cosmétiques sont : rouge à lèvres, baumes pour les lèvres, soin peeling, vernis à ongles, parfums, toniques, huiles corporelle, crayons…)((Feuilloley and Orange, 2019).

Une étude, dans les conditions de la norme ISO 11930 :2020 concernant la détermination de l'influence des facteurs comme éthanol, pH et quantité d'eau libre; dit que généralement un seul facteur ne suffit pas à garantir une conservation microbiologique, il faut au moins deux facteurs pour permettre la conservation(Siegert, 2012). Par exemple, une concentration élevée

d'éthanol associé à un pH extrême pourrait inhiber le développement microbiologique dès le premier jour (J0) (Berthele *et al.*, 2014).

En pratique pour atteindre un faible risque, il faut souvent combiner plusieurs paramètres (pH, A*w*, glycols) mais il ne faut jamais oublier les conditions de procédé d'hygiène de fabrication et remplissage (Feuilloley and Orange, 2019). Ensuite, une autre catégorie sont les produits à usage unique et les produits qui ne peuvent être ouverts. Une justification scientifique est toutefois requise.

« Challenge Test »

Quand un produit ne correspond pas aux conditions des produits de faible risque ou des produits d'usage unique, il est notamment nécessaire de vérifier le système de conservation. Pour justifier de cette qualité microbiologique, la norme ISO 11930 est la responsable d'évaluer la stabilisation antimicrobienne d'un produit cosmétique. La première édition a été publiée en 2012 sous le titre « Cosmétiques – Microbiologie – Évaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique ». Cette norme est utilisée pour vérifier l'efficacité d'un produit cosmétique (Siegert, 2012). La nouvelle révision est sortie en 2019.

La méthode d'essai se nomme « challenge test » ou « preservative efficacy test » et est établi par la pharmacopée européenne pour les médicaments et les produits cosmétiques. A partir d'une suspension calibrée de microorganismes de référence, il est étudié dans un échantillon de produit cosmétique : l'évolution du nombre de microorganismes à des intervalles de temps définis ainsi que l'efficacité du système conservateur incorporé à la formulation. Les souches de bactéries et levures utilisées sont celles habituellement retrouvées au niveau de l'épiderme *Candida albicans, Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa.* La population microbienne est évaluée pendant 7J, 14J et 28J.

Quand une formule satisfaite aux exigences des critères A, le produit est protégé contre la prolifération microbienne et donc il ne présentera aucun risque pour les consommateurs. En revanche quand un produit ne répond pas aux critères A mais qu'il répond aux critères B, la formule doit démontrer l'existence de facteurs de protection non liés à la formulation comme : un emballage airless et/ou des exigences élevées dans les bonnes pratiques de fabrication. Si cette analyse permet la démonstration, le produit respectera les exigences de la norme.

De plus, si la formule ne satisfait pas les critères A ni les critères B. La formule ne satisfait pas aux exigences de la norme et donc la formule n'est pas protégée du développement microbien (Feuilloley and Orange, 2019).

La différence entre les critères A et les critères B est que les critères A sont plus exigeants que les critères B. Pour pouvoir satisfaire les exigences de critères A la réduction logarithmiques de la population bactérienne est imposée dès le jour 7 (réduction logarithmique de 10^3) alors que le critère B n'impose qu'à partir du jour 14 (ISO 11930:2019, 2019). Pour cette raison, il faut trouver un moyen de protéger les formules cosmétique, afin d'augmenter leur durée de vie et principalement de garantir la sécurité du consommateur. Un agent conservateur peut être une substance d'origine naturelle ou synthétique. Il doit être efficace vis-à-vis d'un large spectre d'inhibition de micro-organismes et de plus il doit avoir une durée de vie équivalente ou supérieure à la date d'utilisation.

Conformément à la Réglementation (CE) n° 1223/2009, la définition des « agents conservateurs », fournit les substances qui sont exclusivement ou principalement destinées à empêcher le développement de micro-organismes dans le produit cosmétique. Les conservateurs autorisés sont listés dans l'annexe V (RÈGLEMENT (CE) No 1223/2009, 2009).

La stratégie la plus commune de protection d'un produit cosmétique est basée sur des agents antimicrobiens. Parmi les agents de conservation décrits dans la liste de la réglementation, on trouve les parabènes, les acides organiques, le triclosan, les libérateurs de formaldéhyde entre autres. Ces substances chimiques ont des mécanismes d'action différents. Ils vont agir conformément à leur structure chimique et à leur réactivité des groupes fonctionnels. En revanche ils peuvent provoquer des effets toxiques ou des sensibilisations pour le consommateur. Il est donc nécessaire de poursuivre la recherche vers des systèmes de conservation efficace et non toxique (Halla *et al.*, 2018). Actuellement dans le marché cosmétique se trouve de nouvelles molécules alternatives dotées d'activités antimicrobiennes, des ingrédients multifonctionnels comme des émollients, des surfactants et des formules avec une réduction d'activité d'eau. Tous ces éléments collaborent à la création d'une formule sans conservateur listé ou à la réduction significative de conservateurs synthétiques, souvent associé à des sensibilités ou des réactions allergiques (Maurício *et al.*, 2017).

Comme parfois tous ces éléments ne sont pas suffisants pour satisfaire les exigences des critères A, des mesures comme des packagings hermétiques et une production irréprochable (NF EN ISO 11930) sont nécessaires (Halla *et al.*, 2018).

Après avoir saisi l'importance de la stabilité, nous allons maintenant orienter notre attention vers un autre élément essentiel de la formulation : la texture.

8. IMPORTANCE DE LA TEXTURE

Après avoir saisi l'importance des ingrédients et des procédés pour garantir la stabilité d'une formule, nous avons également constaté que ces éléments influencent directement la structure, tant microscopique que macroscopique, des produits, conférant ainsi des caractéristiques sensorielles uniques. Cette diversité découle de la nature spécifique de chaque formule. C'est pourquoi, dans cette section, nous aborderons l'importance de la texture du point de vue de **la perception physique de la texture** ses **méthodes mécaniques de l'analyse de texture** ainsi que **la perception émotionnelle de texture.**

8.1. Perception physique de la texture

Actuellement, les consommateurs recherchent non seulement l'efficacité des produits cosmétiques, mais également un moment de bien-être. La texture d'une crème cosmétique peut directement influencer l'expérience sensorielle, notamment en facilitant l'application, en favorisant l'absorption par la peau et en influant même sur la perception des résultats. Par exemple, une crème à la texture veloutée peut donner l'impression d'une peau plus lisse et plus douce, ce qui influe sur la perception de la qualité du produit. De plus, la texture d'une crème cosmétique peut influencer les émotions des utilisateurs en procurant confort, plaisir sensoriel, confiance, réconfort et estime de soi. Une expérience sensorielle positive peut renforcer la satisfaction et la fidélité à l'égard du produit, contribuant ainsi au bien-être émotionnel de l'utilisateur.

Conforme une définition de Szczesniak en 1963 concernant la texture : « La texture est l'ensemble des caractéristiques mécaniques, géométriques et de surface qui peuvent être ressenties par le toucher, la vue et parfois l'ouïe » (Szczesniak, 1963). Par exemple, lorsque vous regardez un produit dans son pot avant de l'utiliser, ou lorsque vous ressentez sa texture sur votre peau après l'application, ces situations influencent votre perception du produit. Cette perception peut être évaluée en contact avec la peau ou sans contact. L'évaluation sensorielle de la texture peut être réalisée en quatre étapes, l'apparence, la prise sur le doigt (pick-up), l'application et la sensation au toucher. Ces étapes correspondant aux sensations perçues tout au long de l'utilisation du produit (Schwartz, 1975) (Civille and Dus, 1991). Nous pouvons voir les détails sur la ***Figure 29.***

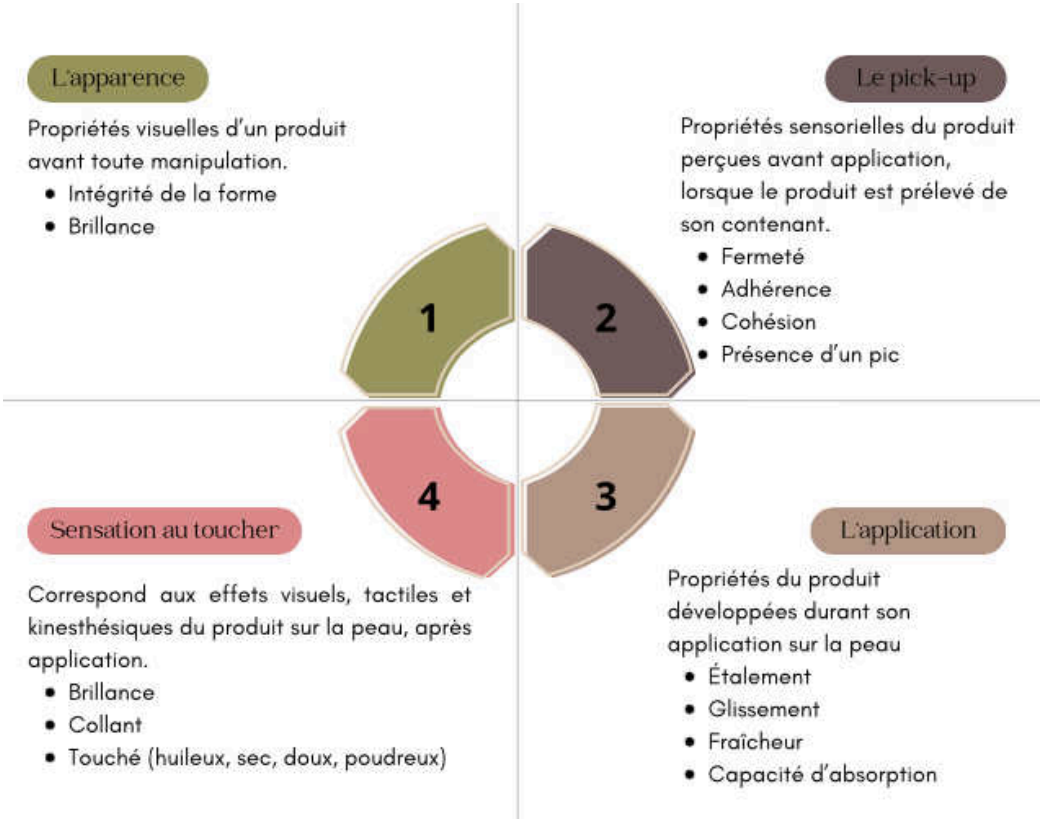


Figure 29 : *Étapes de l'analyse sensorielle.*
Les 4 étapes décrites par Ceville pour une analyse sensorielle de texture.
(Civille and Dus, 1991).

L'analyse de la texture est associée à l'analyse sensorielle, qui est définie comme l'examen des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes de sens (Norme ISO 5492, 2008). Ces méthodes d'analyse sensorielle permettent une évaluation qualitative et quantitative de manière objective. Parmi ces méthodes, on trouve l'Analyse Quantitative Descriptive Analysis (QDA) (Stone *et al.*, 2004) et l'Analyse de Spectre Descriptif (ASD) (Civille and Dus, 1991).

Avec la QDA, des panéliste (experts formés) utilisent des termes prédéfinis pour décrire les aspects sensoriels du produit et notent leur intensité. Cependant, le SDA permet une approche plus libre où les évaluateurs peuvent utiliser des termes plus variés pour décrire les sensations.

Bien que les analyses sensorielles soient très intéressantes, elles présentent des contraintes en termes de coût élevé et de temps nécessaire à leur réalisation. Les différentes étapes impliquées, telles que le recrutement d'un panel, la formation des membres du panel et l'animation des séances, ces analyses peuvent être longues et complexes en raison de la variabilité inhérente aux réponses humaines, entre autres facteurs (Picard and Bonnefille, 2020).

8.2. Méthodes mécaniques d'analyse de texture

Par conséquent, les méthodes d'analyse mécanique de texture deviennent particulièrement attrayantes. En effet, les attributs sensoriels de la texture sont généralement étroitement liés aux propriétés mécaniques du produit, notamment la fermeté, la consistance, le caractère collant et la cohésion. De plus, ces méthodes offrent l'avantage d'être moins coûteuses et plus rapides à mettre en œuvre.

Les deux principales techniques instrumentales adaptées sont : la rhéologie, la tribologie et la texturométrie. Dans cette étude, nous allons se focaliser sur la rhéologie et la texturométrie. Ces deux méthodes se sont révélées être particulièrement pertinentes pour corréler un certain nombre d'attributs sensoriels de produits pour prédire des propriétés sensorielles de texture (Picard and Bonnefille, 2020).

8.2.1. Rhéologie

Tout comme l'analyse rhéologique est efficace pour prédire les comportements des émulsions en termes de stabilité, elle permet également de simuler les contraintes et les cisaillements auxquels une crème cosmétique est soumise (Picard and Bonnefille, 2020). Par exemple, elle peut reproduire des actions telles que la sensation au toucher (pick-up) lorsqu'on prélève le produit, ou encore le mouvement de cisaillement lorsque le produit cosmétique est appliqué sur la peau ou les cheveux (Estanqueiro, Amaral and Sousa Lobo, 2016). En plus, la sensation après l'application et le toucher final(huileux, glissant, sec…) peut être lié à la tribologie qu'étudie les phénomènes liés au contact et au frottement entre les surfaces (Cyriac, Xin Yi and Chow, 2022). En résumé, les propriétés mécaniques de la texture, liées à la réaction du produit à une contrainte, comme la viscosité, la dureté, la cohésion, l'élasticité ou l'adhérence du produit, sont décrites durant les phases d'évaluation du pick-up et de l'application du produit sur la peau (Gilbert, 2012).

Une étude de Sherman (1970) a souligné qu'avant ce qu'une corrélation puisse être faite entre mesures rhéologiques et évaluations sensorielles, le gradient de cisaillement appliqué doit être connu. Bien que cela puisse sembler évident, le comportement d'un produit non-newtonien à un gradient de cisaillement en particulier ne garantit pas son comportement à un autre gradient de cisaillement (Sherman, 1970). Ci-dessous, à la ***Figure 30*** vous trouverez un graphique indiquant les actions correspondantes aux cisaillements (Picard and Bonnefille, 2020).

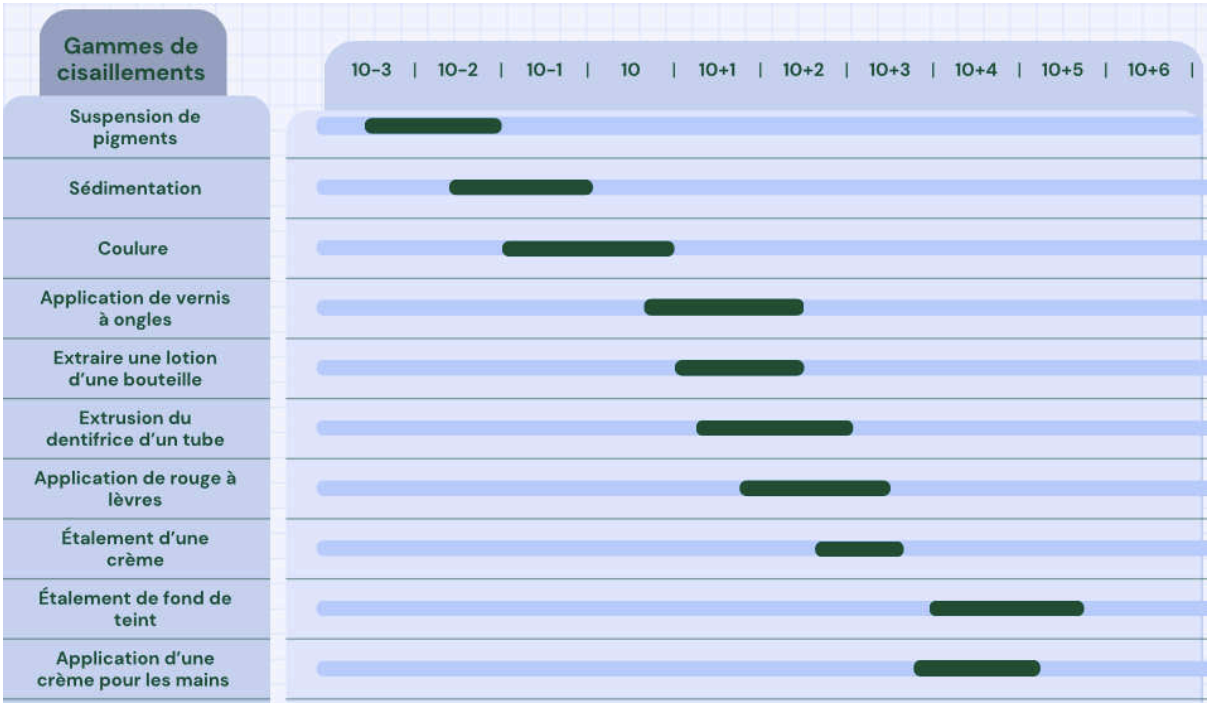


Figure 30 : *Graphique avec les gammes de cisaillements.*

Pour une analyse de pick-up, il est important de le faire au moment où la crème est en repos absolu, ce qui signifie que les structures ne sont pas perturbées. Dans ces conditions, on peut mesurer la tangente delta, qui représente la relation entre le module élastique (G') et le module visqueux (G''), dans le domaine de viscoélasticité linéaire (DVEL) (Cyriac, Xin Yi and Chow, 2022) (Lukic *et al.*, 2012). D'autres études observent une viscosité nulle lors d'une analyse d'écoulement à très faible cisaillement. En tout cas, toutes ces analyses sont également liées à la fermeté ou à la consistance du produit lors de la première prise au doigt(Dimuzio, Abrutyn and Cantwell, 2005). Pour observer l'étalement des crèmes, on peut étudier la transition d'un module élastique à un module visqueux, c'est-à-dire au moment où la crème passe d'une forme solide à liquide. Dans un balayage contraint, le G' est égal à G''. Ou sinon observer le seuil d'écoulement (Dimuzio, Abrutyn and Cantwell, 2005). Alternativement, pour l'étalement sur la paume de la main, la viscosité peut être observée à un cisaillement de 600 s^{-1} (Morávková and Petr, 2011).

Sur le ***Tableau 16*****,** vous allez trouver quelques études qu'on fait les possibles corrélations entre les mesures rhéologiques et la texture.

Galénique	Mesures instrumentales	Corrélations établies entre propriétés sensorielles et paramètres instrumentaux	Référence
6 crèmes H/E	Balayage en gradients de cisaillement de 44 à 440 s , puis de 440 à 44 s , par palier de 44 s . Obtention de la contrainte seuil et de la viscosité plastique	- Consistance corrélée à la contrainte à 44 s^{-1} sur la courbe 'up' - Étalement corrélé à la viscosité plastique	(Suzuki and Watanabe, 1971)
15 crèmes (H/E et E/H)	Balayage en gradients de cisaillement de 0 à 600 s en 1 min, puis de 600 à 0s^{-1} en 1 min: mesure de l'aire de la boucle d'hystérèse (thixotropie), de la viscosité apparente η (600 s^{-1})	- Dureté, douceur, brillance, étalement, fraicheur et chaleur corrèles significativement (P=0,95) à η(600s^{-1}) - Dureté, douceur, étalement, fraîcheur et chaleur corrèles à la thixotropie	(Morávková and Stern, 2019)
12 crèmes hydratantes, contenant 3 polymères différents à 4 concentrations	- Balayage contrainte afin de déterminer le DLVE - Balayage en fréquences de 1 à 100 rad/s à 10 % de déformation : obtention de G', G'', tan δ	Fermeté, épaisseur, étalement, absorption, brillance, collant	(Wang, Kislalioglu and Breuer, 1999)
15 laits pour le corps (8 H/E et 7 E/H)	Balayage en gradients de cisaillement de 0 à 600 s^{-1} en 2 min, puis de 600 à 0 s^{-1} en 2 min également : mesure de l'aire de la boucle d'hystérèse (thixotropie), de la viscosité apparente η(600 s^{-1})	Étalement sur la paume de la main et étalement sur le dos de la main, et brillance du film corrèles à η(600 s^{-1}) mais pas d'autres prédictions possibles	(Stern, Valentova and Pokorny, 2002)
85 crèmes commerciales et formulées	- Balayage de gradients de cisaillement à 29°C, de 0 à 500 s^{-1} avec 180 points (0,5 s/point) et de 500 à 0s^{-1} avec 240 points (2 s/point) : mesure de la contrainte seuil, de la viscosité plastique - Balayage en déformations à 1 Hz à 29°C : mesure du DLVE, G', G'', tan δ et viscosité dynamique en fonction de la déformation - Fluage effectué à une contrainte fixée pendant 120s, puis recouvrance pendant 120 s, à 25°C : obtention d'une contrainte critique, de la	Cohésion prédite par la valeur de viscosité dynamique η' à la fin du DLVE et par la contrainte seuil issue du test d'écoulement	(Wortel, 2005)

	viscosité nulle de viscosité infini		
6 émulsions H/E	- Balayage en contraintes de 0,1 à 200 Pa à une fréquence de 1 Hz - Écoulement: balayage en gradients de cisaillement de 1 à 1000 s^{-1} - Fluage effectué à une contrainte fixée du DLVE pendant 30 min, puis recouvrance pendant 90 min. 44 paramètres rhéologiques collectes	- Fermeté, corrélée à la viscosité à cisaillement nul - Étalement corrélé au balayage contraint quand G'=G'' - Cohésion corrélée au point de croisement G'=G'' en balayage en contrainte	(Dimuzio, Abrutyn and Cantwell, 2005)
31 émulsions H/E et E/H (laits et crèmes)	Balayage en gradients de cisaillements de 0 à 600 s^{-1} en 1 min, puis de 600 à 0 s^{-1} en 1 min à 25°C. Une modélisation a été réalisé par la loi de puissance pour les laits. Et pour les crèmes par Herschel- Buckley Pour le lait, l'obtention du paramètres consistance K, de l'indice de viscosité et de la viscosité apparente (viscosité à 10 s^{-1}) Pour les laits, obtention de la viscosité plastique de la contrainte seuil et de l'indice de viscosité n pour les crèmes.	Difficulté de prélèvement d'un lait de sa bouteille prédit par la viscosité apparente (coefficient de corrélation r_p=0,91)	(Morávková and Stern, 2019)
4 émulsions E/H variant par l'émollient incorporé	Rhéologie : - Cisaillement de 0 à 40s^{-1}, puis de 40 à 0s^{-1} en 60s Mesure de l'aire de la boucle d'hystérèse (thixotropie), viscosités maximale et minimale. - Balayage en contraintes de 0,01 à 100 Pa à 1Hz : mesure de contraintes seuils et du DLVE - Balayage fréquences de 0,1à10Hz à 1Pa: mesures de G',G'' tangente delta ,et la viscosité complexe	- Épaisseur corrélée à la thixotropie, à la contrainte seuil et à la fermeté - Glissant corrélé à la viscosité nulle et la viscosité infinie - G' et G'', à la consistance - La cohésion et à l'indice de viscosité - Fermeté, facilité de prélever le produit du pot par texturomètre et par la rhéologie, la viscosité nulle, à la thixotropie et à la contrainte seuil	(Lukic *et al.*, 2012)

	Texturomètre : Test de pénétration, effectué dans un pot de 50 mm de diamètre rempli de crème à 75%, avec le disque de 45 mm de diamètre, à 2 mm/s sur 25 mm de profondeur : mesure de la fermeté, la consistance, la cohésion et l'indice de viscosité	

Tableau 16 : *Corrélations établies entre propriétés sensorielles et paramètres instrumentaux*

Les recherches sur le ***Tableau 16***, ont démontré des liens entre les perceptions sensorielles et les paramètres rhéologiques/mécaniques. Cependant, peu de ces corrélations ont abouti à des modèles efficaces de prédiction des propriétés sensorielles étudiées. Les relations entre ces propriétés sensorielles et les mesures instrumentales ont principalement été établies par des comparaisons de classement ou le calcul de coefficients de corrélation (Pearson ou Spearman). Seules deux études ont montré une capacité de prédiction des propriétés sensorielles (Wortel, 2005). Ils ont développé un modèle de prédiction de la cohésion sensorielle en combinant les paramètres de viscosité dynamique mesurés à la fin du test de vieillissement accéléré (test oscillatoire sous contrainte) et le seuil de contrainte (test d'écoulement). Ce modèle, basé sur 85 émulsions, a été validé à travers des tests sur 10 nouvelles formulations (Morávková and Petr, 2011), ils ont également démontré que la difficulté d'extraction d'un lait ou d'une lotion de son flacon pouvait être prédite par la viscosité apparente η (viscosité à 10 s^{-1}), avec un coefficient de corrélation de Pearson très élevé (rp = 0,91) entre les deux paramètres.

Nous avons pu remarquer aussi que seulement les études de (Wortel, 2005) et (Dimuzio, Abrutyn and Cantwell, 2005), présentant la plus grande variété de tests rhéologiques utilisés, (fluage, des mesures de rhéologie oscillatoire en amplitude et des mesures d'écoulement). Ils ont également mis en œuvre de nombreuses analyses statistiques uni et multivariées Analyse en Composantes Principales (ACP). Ces deux études ont clairement montré qu'une propriété sensorielle n'était pas forcément corrélée simplement à un unique paramètre rhéologique, du fait de l'aspect multidimensionnel de la texture à prendre en compte.

Il est important de souligner que la méthodologie instrumentale, permettant d'évaluer les performances sensorielles des produits destinés à une application cutanée, est plutôt limitée, en raison du manque de normes industrielles en matière de tests. L'établissement de normes fiables pour la caractérisation rhéologique et texturale est un défi en raison de la complexité des formulations semi-solides, connues pour présenter la thixotropie et la viscoélasticité. Un

autre défi pour les formulations semi-solides comprenne le glissement: cisaillement des parois à un cisaillement faible ou intermédiaire et l'effet de bord à des taux de cisaillement élevés. Enfin, tous ces facteurs doivent être pris en compte afin de développer une approche de mesure efficace établissant une relation fiable entre la rhéotribologie et les propriétés sensorielles (Cyriac, Xin Yi and Chow, 2022).

Cette section a mis en évidence la relation entre les mesures instrumentales et la texture à travers plusieurs crèmes. Nous avons également constaté la complexité de corréler ces deux caractéristiques. Parmi toutes les recherches examinées, il est apparu que bien que les structures et les caractéristiques des émulsions très concentrées aient fait l'objet d'études approfondies, aucun lien ou corrélation entre ces caractéristiques physico-chimiques et leurs textures n'avait été établi jusqu'à présent. Dans la prochaine section nous allons voir l'analyse de texture mécaniques par texturomètre.

8.2.2. Texturomètre

Cette analyse est considérée comme complémentaire de la rhéologie. Le texturomètre permet d'évaluer différents aspects de la texture tels que la fermeté, la dureté, l'élasticité, la viscosité, la cohésion, l'adhérence la friabilité et bien d'autres encore. En pratique, le texturomètre peut être utilisé pour comparer les textures de différents échantillons, suivre les changements de texture au cours du stockage ou évaluer l'effet des ingrédients ou des méthodes de fabrication sur la texture, et même prédire les préférences des consommateurs.

Le principe des analyses effectuées par un texturomètre est assez simple : un capteur de force est relié à un bras animé d'un mouvement vertical, pour lequel la vitesse de test est paramétrée. Sur le capteur de force, il y a une sonde. La forme de cette sonde peut varier en fonction du type de test. Par exemple, pour une analyse de dureté sur un stick ou un rouge à lèvres, il s'agit généralement d'une aiguille. Pour des crèmes ou des laits cosmétiques, la sonde sera plutôt cylindrique. L'appareil enregistre alors grâce au capteur de force, la réaction du produit suit à la sollicitation appliquée (Picard and Bonnefille, 2020). Vous trouverez ci-dessous un ***Tableau 17*** avec quelques exemples des tests avec le texturomètre.

Type de test	Principe	Exemple d'étude		
		Application	Réponses	Références
Pénétration	Consiste à faire pénétrer une sonde dans le produit cosmétique et à mesurer la force nécessaire pour atteindre une certaine profondeur	Mesure de la cire pour cheveux.	***Dureté/fermeté*** (force positive maximale requise pour pénétrer dans l'échantillon)	(Smewing, 2007)
Compression	Mesure la résistance que présente le produit à la compression qui lui est appliquée. La contrainte appliquée est perpendiculaire à l'échantillon	Mesure de gels aqueux et de crèmes	***Consistance*** (force positive maximale requise pour comprimer le produit)	(Roso and Brinet, 2004)
Analyse de profil de texture (TPA)	Consiste à effectuer deux compressions successives	Caractérisation mécanique de préparations pharmaceutiques semi-solides de polymères, possédant des propriétés bioadhésives	***Dureté*** (force positive maximale lors de la 1ère compression) ***Élasticité*** (vitesse à laquelle l'échantillon déformé reprend sa forme initiale après la suppression de la force ***Adhésivité*** (travail nécessaire pour décoller la sonde de l'échantillon : aire négative après la 1ère compression) ***Compressibilité*** (Aire positive sous la courbe correspondant à la 1ère compression)	(Jones, Woolfson and Djokic, 1996)
Extrusion	Le produit est contenu dans une cellule, et une pression lui est appliquée jusqu'à ce que la sonde pénètre dans le produit en étant totalement recouverte	Mesure de shampooings	***Fermeté/dureté*** (force positive maximale) ***Consistance*** (aire positive sous la courbe) ***Cohésion*** (force négative maximale) ***Travail de cohésion*** (aire négative sous la courbe)	(Smewing, 2007)

Tableau 17 : *Types de tests possibles avec le texturomètre et ses applications et réponses.*

Les réponses du texturomètre se donnent à partir de courbes. Les paramètres sont des valeurs de force maximale positive, d'aire positive sous la courbe, de force maximale négative et d'aire négative sous la courbe. La force maximale positive correspond à la distance maximale parcourue par la sonde en contact avec l'échantillon et est généralement assimilée à un paramètre de fermeté ou dureté du produit. L'aire positive sous la courbe correspond au travail de la sonde pour effectuer le test, de pénétration, la compression du APT du produit par exemple, et est plutôt assimilée à un paramètre de consistance. Tandis que la force minimale négative, quand elle est collectée, correspond à un paramètre de cohésion du produit, et l'aire négative sous la courbe, correspondant au travail de retrait de la sonde de l'échantillon, est assimilée à un paramètre d'adhésivité, de collant ou d'indice de viscosité (Cyriac, Xin Yi and Chow, 2022).

Dans cette étude nous allons nous focaliser sur l'analyse de profil de texture(APT). Le test imitatif, consistant en une succession de deux cycles de compression permettant à partir de la courbe force=f(t) de collecter des paramètres liés à la texture du produit. Il s'agit de la fermeté, l'adhésion, l'élasticité, la cohésion, le gommeux et la mastication. Cette approche, largement utilisée pour caractériser la texture de produits alimentaires variés (Meullenet *et al.*, 1997) (Drake *et al.*, 1999)(Kealy, 2006), avait comme objectif principal de corréler certains paramètres extraits de la courbe force-temps, ***Figure 31*** à des descripteurs d'analyse sensorielle.

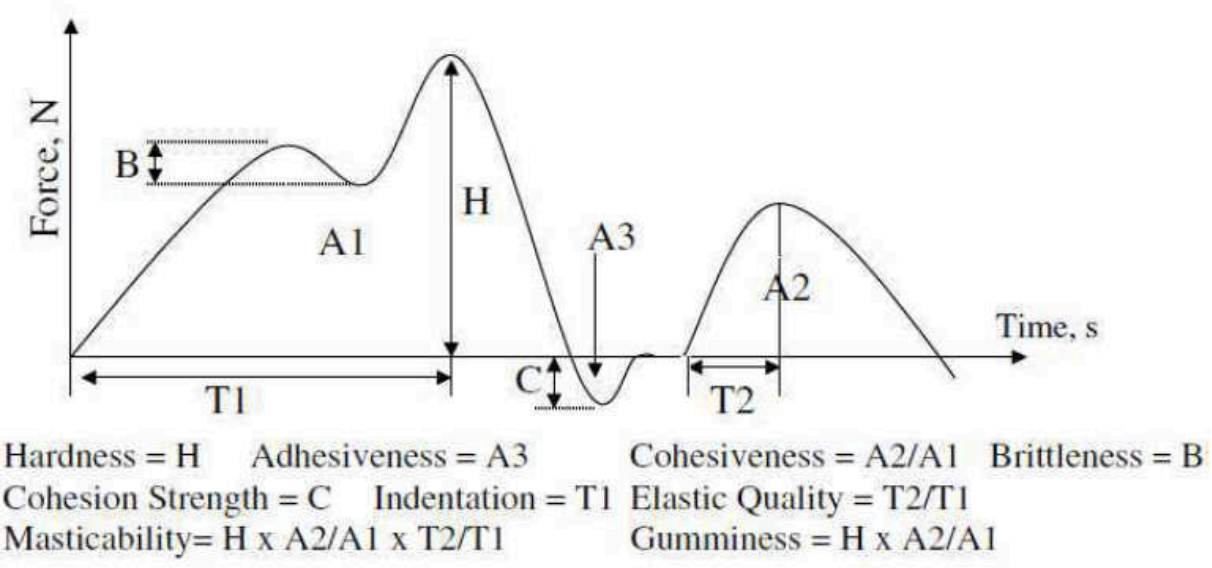


Figure 31 : *Courbe issue d'un test TPA présentant les différents paramètres de texture pouvant être obtenus (Kealy, 2006).*

La plupart des associations entre le texturomètre et l'analyse sensorielle sont effectuées pendant la phase de pick-up. Une étude menée par Cyriaque a démontré que la vitesse de 5 mm/s est la plus proche de la vitesse à laquelle les panélistes plongent leur doigt dans le récipient lors du protocole sensoriel. Vous trouverez ci-dessous le ***Tableau 18*** comprenant des définitions relatives à différentes caractéristiques (Civille and Dus, 1991).

Caractéristique	Définition
Fermeté	Quantifie la déformation de l'échantillon lors du prélèvement.
Adhésivité	La force nécessaire pour séparer les doigts.
Cohésion	Lorsque vous placez le produit entre le pouce et l'index et que vous joignez les doigts, il y a une certaine résistance, voire aucune. Le produit gêne ou non le mouvement entre les doigts.
Collant	Par des mouvements répétés d'effleurement et de relâchement du doigt du dos de la main, une certaine adhérence se fait sentir ou non entre les deux surfaces.

Tableau 18 : *Définitions sensorielles des caractéristiques d'un analyse de profil de texture.*

Enfin, l'analyse de texture permet de mettre en œuvre des tests imitatifs des gestes effectués par le consommateur. Cependant, peu d'études dans le domaine cosmétique ont réellement vérifié l'existence de corrélations avec la perception sensorielle. D'autre part, contrairement au domaine alimentaire, très peu d'études ont été consacrées à l'impact des différentes conditions expérimentales (types de tests, sondes, vitesses, contenants...) sur les propriétés mécaniques de texture de produits cosmétiques. Il serait donc intéressant d'effectuer une large caractérisation de la texture de produits cosmétiques en variant les différents tests et conditions expérimentales utilisées, afin d'en mesurer l'impact sur les propriétés de texture des produits. De plus, l'étude de corrélations entre propriétés rhéologiques et mécaniques pourrait être envisagée, afin d'analyser la complémentarité des tests rhéologiques et texturométriques sur les propriétés de texture collectées

8.3. Perception émotionnelle de la texture

Après avoir décrit sensoriellement et mesuré mécaniquement les textures, le défi actuel réside dans la définition des textures conformes aux émotions. Les émotions sont souvent liées

à des réponses comme la peur, la joie, l'excitation, la colère entre autres. Cependant les analyses des émotions sont beaucoup subtiles quand on parle de produits cosmétiques. Des études ont démontré que les émotions ne sont pas un phénomène unique et unitaire mais plutôt une construction multidimensionnelle en neurosciences et en psychologie (Scherer, 1984)(Russell, 2003). En tant que phénomène complexe aux multiples facettes ; ils peuvent être déduits et caractérisés en suivant leurs manifestations selon les composants (Bouhout *et al.*, 2023). Les trois composants clés sont: la compositions comportementale ou expressive qui regroupe les expressions faciales ; Les dimensions subjectives ou cognitives représentent la conscience de ce que l'on ressent lorsque l'on se trouve dans un état émotionnel particulier. La troisième composante est la composante psychologique qui englobe les changements corporels tels que la fréquence cardiaque, la pression artérielle, la température corporelle, la tension musculaire, entre autres. (Zapf, 2002).

La perception émotionnelle de la texture dans les produits cosmétique est un sujet récent dans la recherche. Les émotions générées dans une étude réalisé avec 2340 femmes japonaises, par Shiseido ont été mises en évidence les différents effets entre le maquillage et le soin de la peau. Cette recherche a démontré un effet plus "reposant et rafraîchissant" pour les soins de la peau et "joyeux et exaltant" pour le maquillage. De plus, l'étude a mis en évidence les différences émotionnelles entre les soins du matin et du soir (Sato, 2020) (Roso *et al.*, 2023). La ***Figure 32***, illustre positivement les émotions telles que "joie et excitation" et négativement les émotions telles que "repos et rafraîchissement". Cette figure démontre que les crèmes hydratantes ont toujours un effet "reposant", tandis que le lavage du visage et l'utilisation d'une lotion ont une réponse qui varie selon la période de la journée, selon, le matin ou le soir. Le matin, l'effet est plutôt "exaltant", tandis que le soir, il est plutôt "reposant". Cette étude a mis en évidence l'influence des types de produits en fonction de leur utilisation et selon la période de la journée.

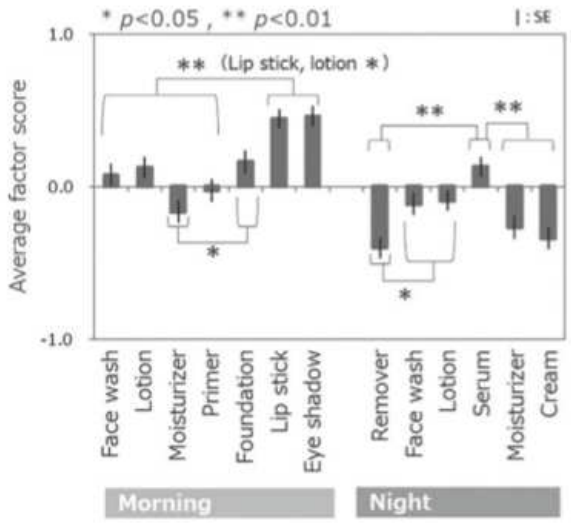


Figure 32 : *Graphique avec les différents produits cosmétiques et ses sensations. Étude de Sato, 2020. Score factoriel moyen « joyeux et excité ».*

Ces résultats ont complété d'autres études antérieures, telles que celle de Levy (2012), qui ont montré que le maquillage avec une fonction de "camouflage" apporte des avantages émotionnels immédiats aux personnes ayant une peau fragilisée, réduisant ainsi l'anxiété et augmentant la satisfaction. De même, une recherche sur les ingrédients a montré que l'effet d'un extrait apaisant a clairement réduit les émotions négatives chez les personnes ayant une peau sensible, favorisant des émotions positives telles que la protection (Sasaki *et al.*, 2022).

Une étude récente menée en 2023 portant sur huit types de produits cosmétiques, utilisant un large éventail de formulations, a été réalisée sans l'interférence de parfums, de couleurs ou de packaging. Cette recherche a observé l'effet des émotions sur le type de formule, puis a analysé l'impact des émollients et des modificateurs de rhéologie sur l'effet émotionnel des formules. Ils ont constaté que les types formules(galénique) jouent un rôle dans le type d'émotion généré et que les changements d'ingrédient agissent sur l'intensité des émotions. Les galéniques testés étaient : gel aqueux, émulsion H/E et émulsions très concentrée eau dans huile. Sur la ***Figure 33***, il a démontré la tendance émotionnelle des produits cosmétiques à travers de l'analyse de prosodie. Une méthode d'analyse linguistique qui se concentre sur les aspects mélodiques et rythmiques du discours oral. Elle étudie les variations de ton, de rythme, d'intensité et de durée dans la parole pour comprendre les intentions, les émotions et les attitudes du locuteur (Roso *et al.*, 2023).

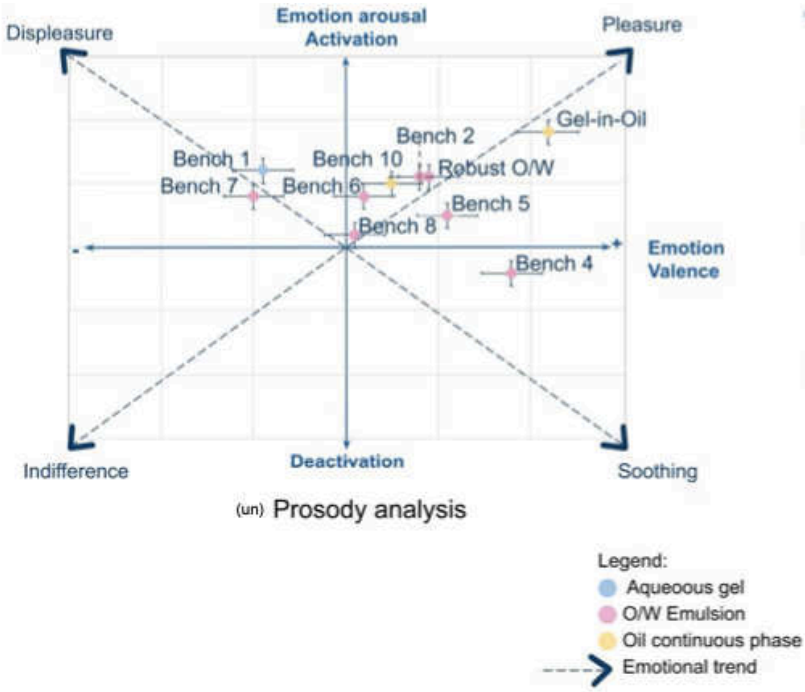


Figure 33 : *Analyse de prosodie.*
Ll'étude de Roso,2023 pour évaluer le quatre tendances émotionnels (plaisir, déplaisir, indifférent ou apaisement).

Dans cette même étude, une expérience particulièrement intéressante a été réalisée. Elle consistait à créer des images à partir d'images mentales, d'atmosphères et de descriptions métaphoriques représentées par des scénarios et un "story-board-illustré" pour deux types de formules : une émulsion classique, robuste H/E, et une émulsion très concentrée E/H. La première a suscité de la surprise, de l'excitation et de l'énergie, tandis que la seconde a évoqué un sentiment de relaxation et d'accomplissement. Les deux formulations ont procuré du plaisir, mais avec des énergies différentes. Les détails sont présentés dans la ***Figure 34.***

Dans cette section, nous avons démontré l'importance de la texture du point de vue de **la perception physique** ses **méthodes mécaniques** ainsi que **la perception émotionnelle.** À que concerne les ETCs, la dernière étude a mis en évidence les aspects enrichissants de la texture des émulsions très concentrées, eau dans l'huile en ce qui concerne leurs effets agréables sur les individus. De nos jours, on peut associer ce type de formulation à des sensations telles que nourrissante, fraîche, apaisante et réconfortante.



Scénario : Snowboard ludique entre amis

Pendant des mois. J'attendais ce jour pour mettre un peu de ***peps*** dans mon quotidien. En arrivant au sommet du télésiège, wow, la neige était incroyable, d'un ***blanc pur***, elle avait l'air ***dense, riche*** et ferme comme du fouetté. ***Enthousiasmé***, j'ai sauté sur cette piste sautillante et élastique.... Arrivée en bas du premier tronçon, carrément ***euphorique***. J'étais ***plein d'énergie*** avec mes amis.



Scénario : Randonnée en raquettes en solo dans une nature intacte.

Enfin une journée pour ***prendre soin de moi*** et être positif... La ***neige*** était **lisse** et ***brillante***, ***fraîche*** comme un yaourt qui sort du frigo ! Le soleil du matin faisait tomber l'eau des branches des sapins et le ruissellement de l'eau accéléré par le début de la fonte des neiges m'a donné envie de faire une ***pause purificatrice***. À la sortie, je me sentais nettoyée, ***enveloppée*** et ***nourrie*** en ***profondeur***, ***sereine*** et ***apaisée***. J'ai ressenti un profond bien-être comme si la neige me ***protégeait***.

Figure 34 *: Comparatif sensoriel d'une émulsion huile dans eau et d'une ETC eau dans l'huile. Scène 1 : visuel ; Scène 2 : toucher ; Scène 3 : étalement ; Séance 4 : sensation finale*

9. IMPORTANCE DE LA DATA SCIENCE

Après avoir recueilli une quantité considérable de données grâce aux analyses précédemment examinées, l'objectif de ces travaux est d'exploiter au mieux les données pour générer des résultats les plus pertinents et informatifs possibles. La Data Science permet d'extraire des connaissances significatives, de ces contribuant ainsi à une compréhension plus approfondie et précise des phénomènes étudiés (Prüfer, 2020)

La contribution significative de la science des données réside dans sa capacité à gérer et organiser de manière efficiente les données générées par la recherche. Cette dernière engendre souvent des ensembles de données complexes et hétérogènes issus de diverses sources, telles que des expérimentations. La science des données propose des techniques de gestion des données qui permettent de traiter ces informations, ***Figure 35***. Dans le cadre de la recherche, les scientifiques sont en mesure d'identifier des schémas cachés, à détecter des corrélations subtiles et à établir des liens entre des variables apparemment indépendantes. Ces découvertes, souvent difficilement perceptibles sans l'aide de l'analyse automatisée, ouvrent la voie à de nouvelles hypothèses, à des idées novatrices et à des avancées scientifiques majeures (Cao, 2017).

En résumé, la science des données constitue un vaste domaine multidisciplinaire visant à donner du sens aux données brutes. Cette étude s'est focalisée sur les domaines de la statistique et des mathématiques, en mettant particulièrement l'accent sur la **méthodologie de recherche expérimentale (MRE)** et **l'analyse en composantes principales (ACP)**. L'objectif était d'optimiser les résultats, en démontrant les variables influentes à l'aide de la MRE, et en évaluant le degré de similarité entre les variables à travers l'ACP.

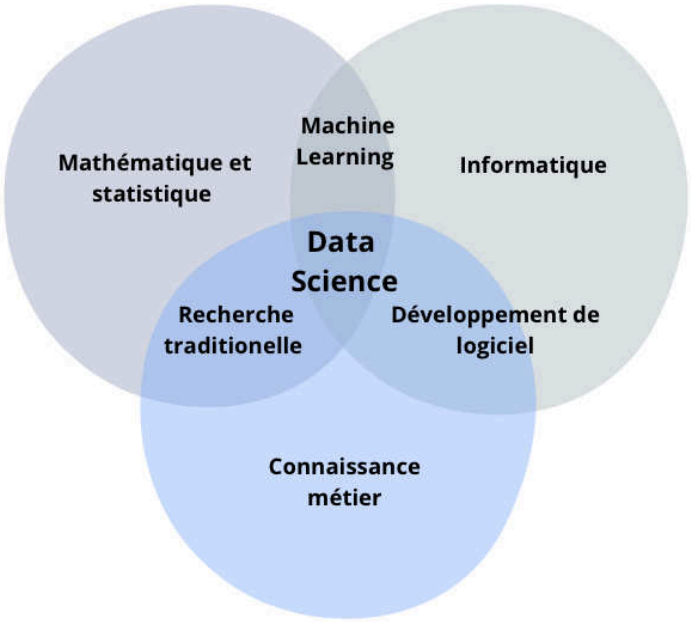


Figure 35 : *Schéma de la Data Science avec ses domaines interdisciplinaires. Elle intègre des méthodes issues de l'informatique, des statistiques, du machine Learning, de l'analyse de données et des mathématiques décisionnelles.*

9.1. Méthodologie de Recherche Expérimentale

La Méthodologie de Recherche Expérimentale, également connue sous le nom de Design of Experiments (DoE), représente une approche statistique avancée pour le criblage et l'optimisation des variables. En manipulant plusieurs paramètres simultanément, cette méthodologie vise à définir la configuration optimale de paramètres afin d'optimiser les résultats souhaités, tout en minimisant le nombre d'essais expérimentaux nécessaires. Ce cadre méthodologique offre de nombreux avantages, notamment en termes de gain de temps et de réduction des coûts. En pratique, la méthodologie de la recherche expérimentale est utilisée dans divers domaines tels que la recherche et développement, la production, l'analyse, la formulation, la qualité, entre autres. Elle permet d'explorer des domaines expérimentaux inconnus, de mettre en évidence les paramètres influant sur les caractéristiques d'un produit ou d'un procédé, et de quantifier leur impact tout en prenant en compte les éventuels effets d'interaction entre ces paramètres (Rampado and Peer, 2023).

En analysant la base de données Web of Science Core Collection, nous avons utilisé les mots-clés "Design of Experiments" puis "DOE". Cette recherche a révélé que de 1975 à 2024, un total de 36 854 publications a été publié. Nous avons constaté une grande diversité de domaines couverts, mais nous avons également identifié les cinq principaux domaines où le Plan d'expériences est le plus fréquemment abordé : la science des matériaux, l'ingénierie

électrique/électronique, l'ingénierie mécanique, l'énergie/combustible et l'ingénierie chimique. Comme on peut voir sur la ***Figure 36***. Concernant les pays que le Plan d'expériences est plus présent sont les États-Unis, Inde, Chine et Angleterre.

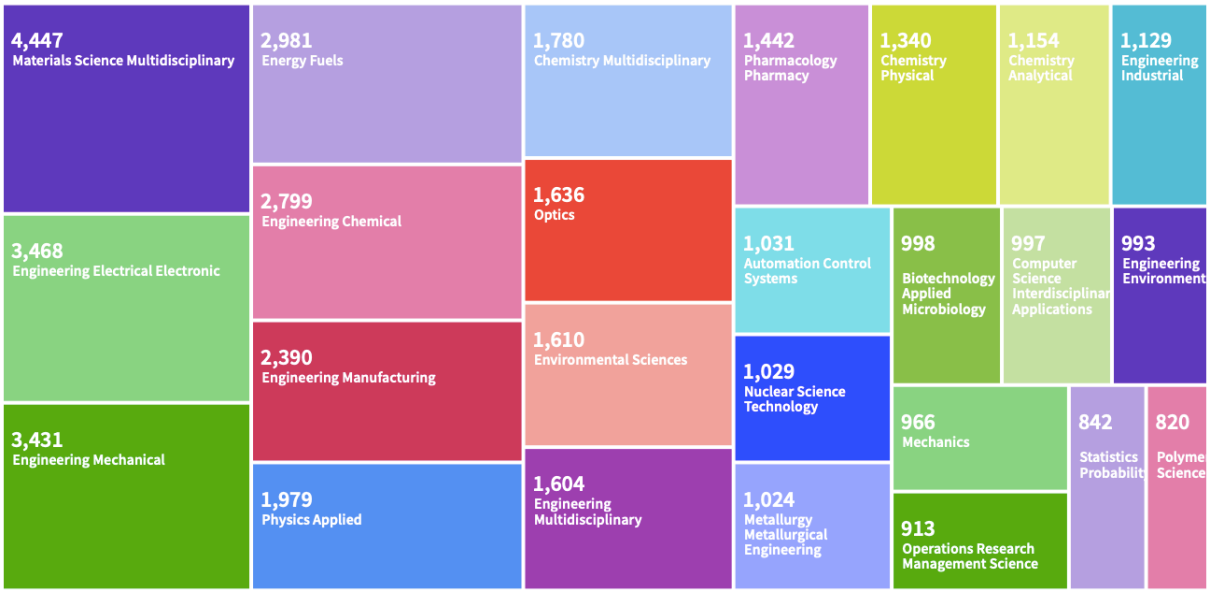


Figure 36 : *Recherche avancée de Web of Science Core Collection sur les travaux impliquant le DoE.*
Publiés au cours des années 1975-2024

Par la suite, la même analyse a été affinée en utilisant le mot-clé « skin », dans le but d'explorer en profondeur l'application de cet outil dans les secteurs de la cosmétique, de la dermocosmétique et de la pharmaceutique. Cela a donné lieu à seulement 314 résultats, mettant en lumière les principaux domaines d'intérêt, notamment la pharmacie, la science des polymères et la science des matériaux. De plus, une analyse de la tendance des publications depuis 1991 a révélé un essor marqué de l'utilisation du DoE à partir de 2010, avec une croissance constante dans ces domaines, comme illustré dans la ***Figure 37***.

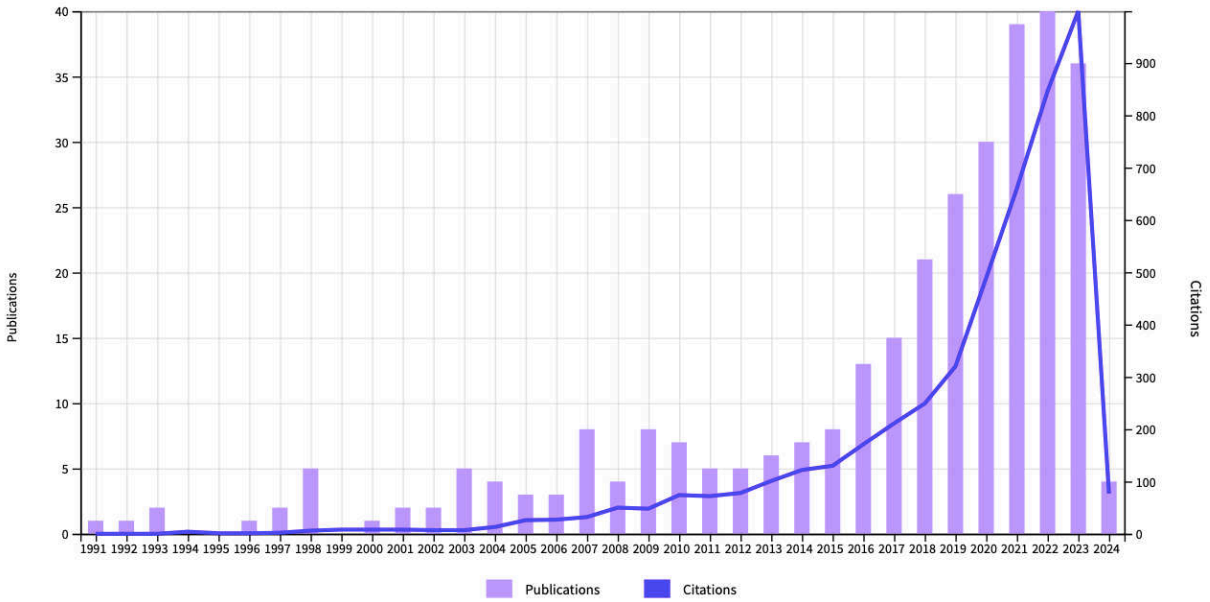


Figure 37 : *Les publications et citations concernant le Design of Experiments (DoE). Le filtre "skin" ont été étudiées pour la période allant de 1991 jusqu'à 2024*

Bien que la MRE soit moins fréquemment utilisée dans le domaine de la cosmétique par rapport à d'autres secteurs, comme cela a été démontré précédemment, une tendance émergente montre une ouverture croissante à l'égard de son utilisation pour l'optimisation des formulations.

Les exemples montrent qu'actuellement, la MRE est déjà utilisée comme un outil pour élaborer des stratégies expérimentales dans le domaine des formulations. Nous avons récemment examiné un article sur le développement et l'optimisation d'une formulation topique contenant un extrait de *Castanea sativa* (Oliveira *et al.*, 2022). De même, un autre article de 2021 portait sur un sérum émulsion anti-rides entièrement naturel avec un extrait *d'Acmella oleracea*, utilisant une approche de formulation basée sur les plans d'expériences, la rhéologie et l'évaluation in vivo des performances/efficacité de la peau En outre, une publication antérieure s'est penchée sur le développement d'une formulation cosmétique en faisant varier la nature, les mélanges et les pourcentages d'émulsionnants pour obtenir une formule stable (Claeys-Bruno *et al.*, 2009). Ces exemples illustrent comment la méthodologie de la recherche expérimentale est devenue un outil essentiel pour améliorer la qualité et accroître la productivité dans l'industrie des formulations, en prenant en compte le rapport qualité/prix.

Dans le cadre de cette étude, il s'agit d'optimiser le type de chaque ingrédient, la concentration ainsi que le processus (vitesse de rotation du mélangeur, le type de mélangeur et le débit d'incorporation). Lorsque la problématique et le protocole sont bien définis dès le départ, il devient possible de réduire le nombre d'essais nécessaires pour parvenir à un résultat

final similaire en appliquant la théorie des plans d'expériences. Pour mener cette recherche, le logiciel AZURAD a été employé pour mettre en œuvre et analyser les plans d'expériences, ce qui a simplifié les démarches d'élaboration stratégique expérimentale (Azurad, 2024).

9.2. Analyse de Composantes Principaux

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est une méthode statistique qui simplifie de vastes ensembles de données en les réduisant à des éléments plus simples, facilitant ainsi la compréhension des tendances et des relations. Cette approche, devenue un outil précieux pour traiter de grandes quantités de données, est utilisée pour identifier les éléments importants et rendre les données plus accessibles (Tharwat, 2016).

L'ACP se déroule en six étapes : standardisation des données, calcul de la matrice de corrélation, décomposition de la matrice, sélection des composants principaux, projection des données et interprétation des résultats.

L'ACP permet d'explorer et de résumer un tableau constitué uniquement de variables quantitatives ***Figure 38***. L'ACP a quatre objectifs principaux : ***(i)***trouver les informations les plus cruciales dans nos données ; ***(ii)*** réduire la taille de notre ensemble de données en ne gardant que ces informations cruciales ; ***(iii)*** simplifier la description de nos données pour les rendre plus faciles à comprendre et ***(iv)*** examiner comment les observations et les variables sont liées entre elles (Abdi and Williams, 2010).

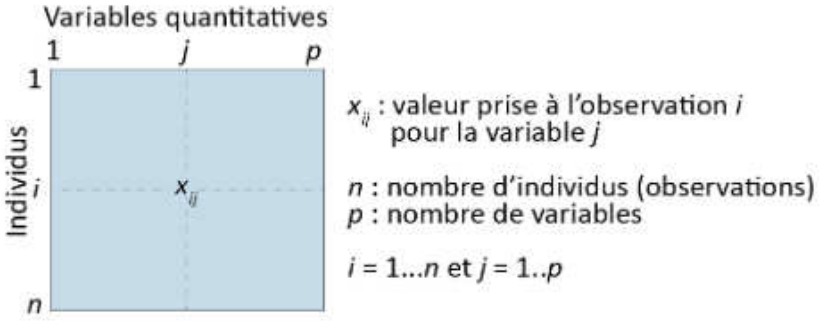


Figure 38 : *Tableau ACP*

Les composantes sont calculées comme étant les vecteurs propres de la matrice de covariance des données, où la première composante principale (PC1) capture le maximum de variation dans les données, suivie de la deuxième composante principale (PC2), et ainsi de suite. Les données sont ensuite projetées sur les premières composantes principales afin de les visualiser

dans un espace de dimension réduite, généralement en deux dimensions. Cela permet de voir comment les différentes observations se positionnent par rapport les unes aux autres dans cet espace réduit, tout en préservant autant de variation que possible. Le graphique de l'ACP est souvent présenté dans un biplot ACP, ce qui signifie un type particulier de visualisation qui combine à la fois la représentation des données et des variables dans un seul graphique. Dans un biplot les observations sont représentées par des points de données et les variables sont représentées par des vecteurs. Les angles entre les vecteurs dans le biplot représentent la corrélation entre les variables. Un angle de < 90° entre les vecteurs indique une corrélation positive, tandis qu'un angle >90°C indique une corrélation négative (Cyriac, Xin Yi and Chow, 2022).

Un exemple illustrant l'utilisation de l'analyse en composantes principales peut être trouvé dans un article concernant les filtres solaires. Dans cette étude, les chercheurs ont effectué une analyse des composants principaux sur sept écrans solaires différents, représentés par des points rouges dans les graphiques. Ils ont examiné plusieurs caractéristiques de ces écrans solaires, notamment la couleur, la brillance, l'opacité, la fraîcheur, le blanchiment, la formation de pics, la fluidité, la cohésion sensorielle, l'aptitude à l'étalement, le toucher de la peau, le résidu huileux, le caractère collant, entre autres . Ces caractéristiques sont représentées par des flèches en bleu (Vergilio, de Freitas and da Rocha-Filho, 2022), ***Figure 39.***

En résumé, cette analyse permet d'identifier à la fois des similitudes et des différences entre les données, ainsi que d'explorer les éventuelles corrélations entre elles. Dans cette étude, l'ACP a été effectuée à l'aide du logiciel XLSTAT de Lumivero.

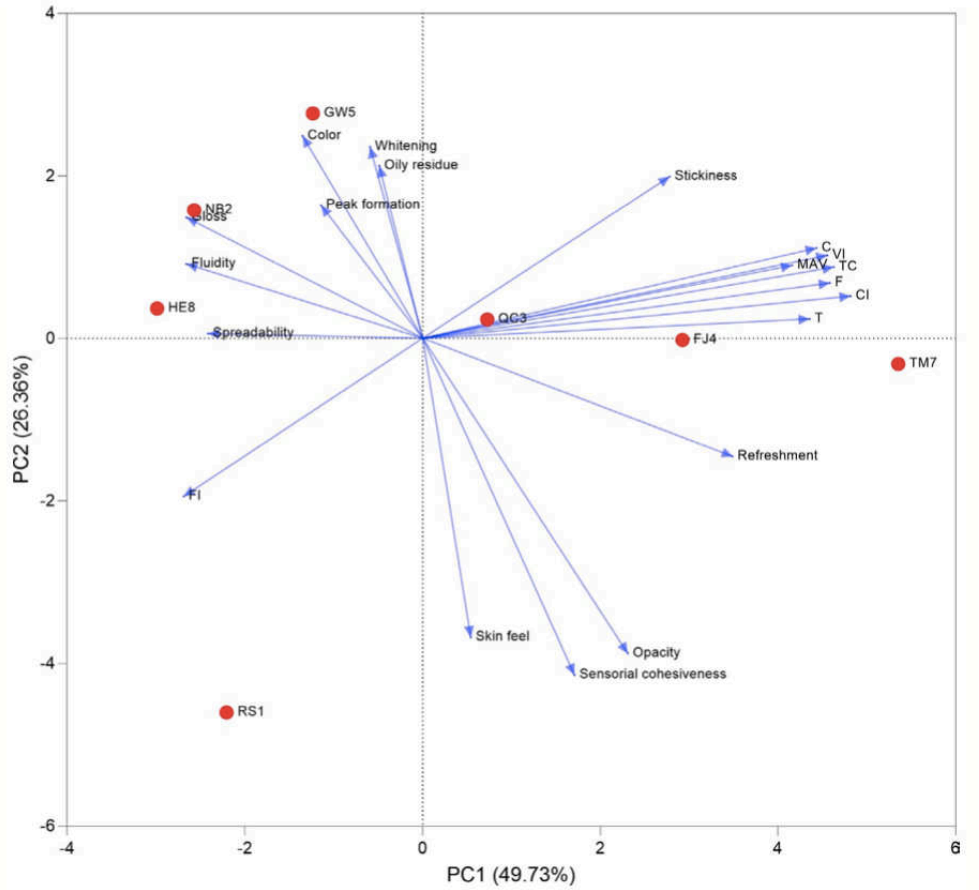


Figure 39 : *Exemple d'un graphique ACP.*
Il représente les sept crèmes solaires avec leurs caractéristiques de texture et sensorielles.

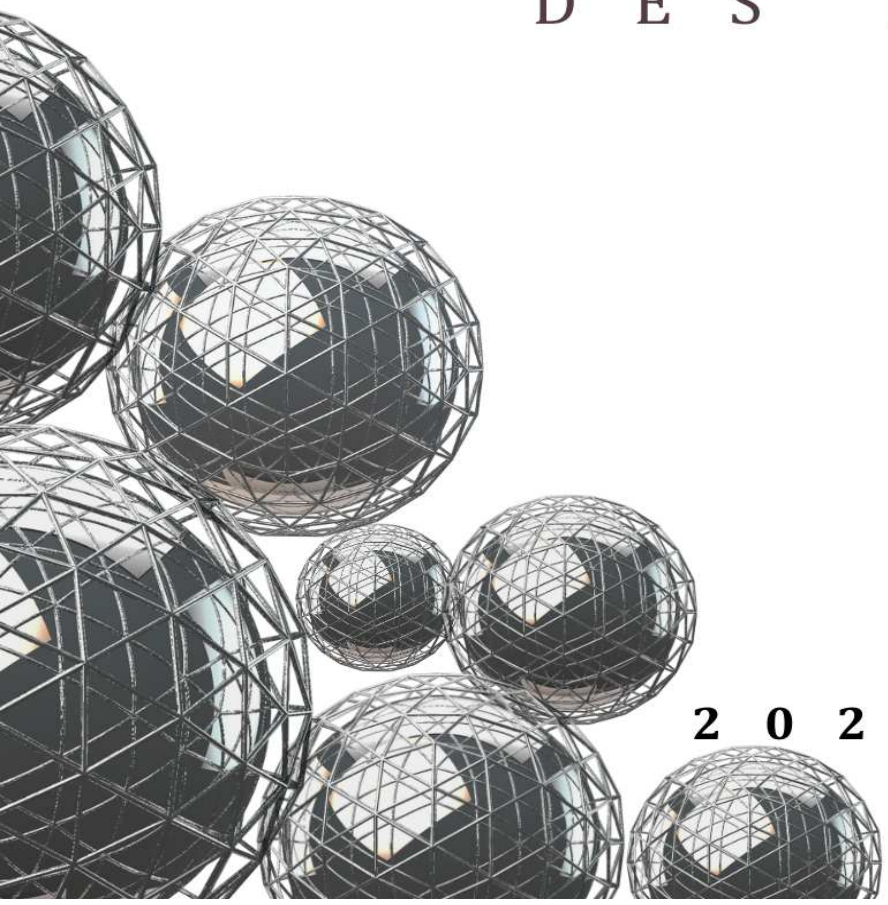
10. CONCLUSION DE L'ETAT DE L'ART

Pour conclure cette première partie de l'état de l'art, nous avons dressé un panorama complet des thèmes essentiels abordés dans notre recherche. Du processus complexe du vieillissement cutané à l'examen détaillé des actifs anti-âge et de leurs véhicules, y compris les émulsions très concentrées eau dans huile. Nous avons exploré divers aspects de la cosmétologie anti-âge. Nous avons également mis en évidence l'importance cruciale des analyses de stabilité, notamment les approches physiques, chimiques et microbiologiques, pour comprendre et évaluer les formulations. Enfin, nous avons souligné le rôle essentiel de la data science dans la gestion et l'interprétation des données, en mettant en avant l'importance du plan d'expérience et de l'analyse de composants principaux pour tirer des conclusions significatives de nos recherches.

MÉTHODOLOGIE D'OPTIMISATION DE LA FORMULATION DES SYSTÈMES "ÉMULSIONS TRÈS CONCENTRÉES" EAU DANS HUILE POUR DES APPLICATIONS INDUSTRIELLES

PARTIE II

METHODOLOGIE D'OPTIMISATION DES ETC



2024



L'objectif principal de cette étude était de développer une compréhension approfondie des variables affectant la stabilité des émulsions eau-dans-huile très concentrées, pour pouvoir créer de « châssis formulaire » avec des texture innovantes pouvant être utilisé pour des applications industrielles cosmétiques ou pharmaceutiques. Pour atteindre cet objectif, nous avons fait varier un grand nombre de paramètres, tant au niveau des ingrédients que du procédé de fabrication. La mise en place d'une stratégie s'est avérée essentielle, représentant un défi majeur en raison du volume considérable de données à traiter. Une organisation rigoureuse a été nécessaire, tout comme une interprétation minutieuse des données pour tirer des conclusions pertinentes. Ce travail a été divisé en 4 sections, *Erreur ! Source du renvoi introuvable.* **:**

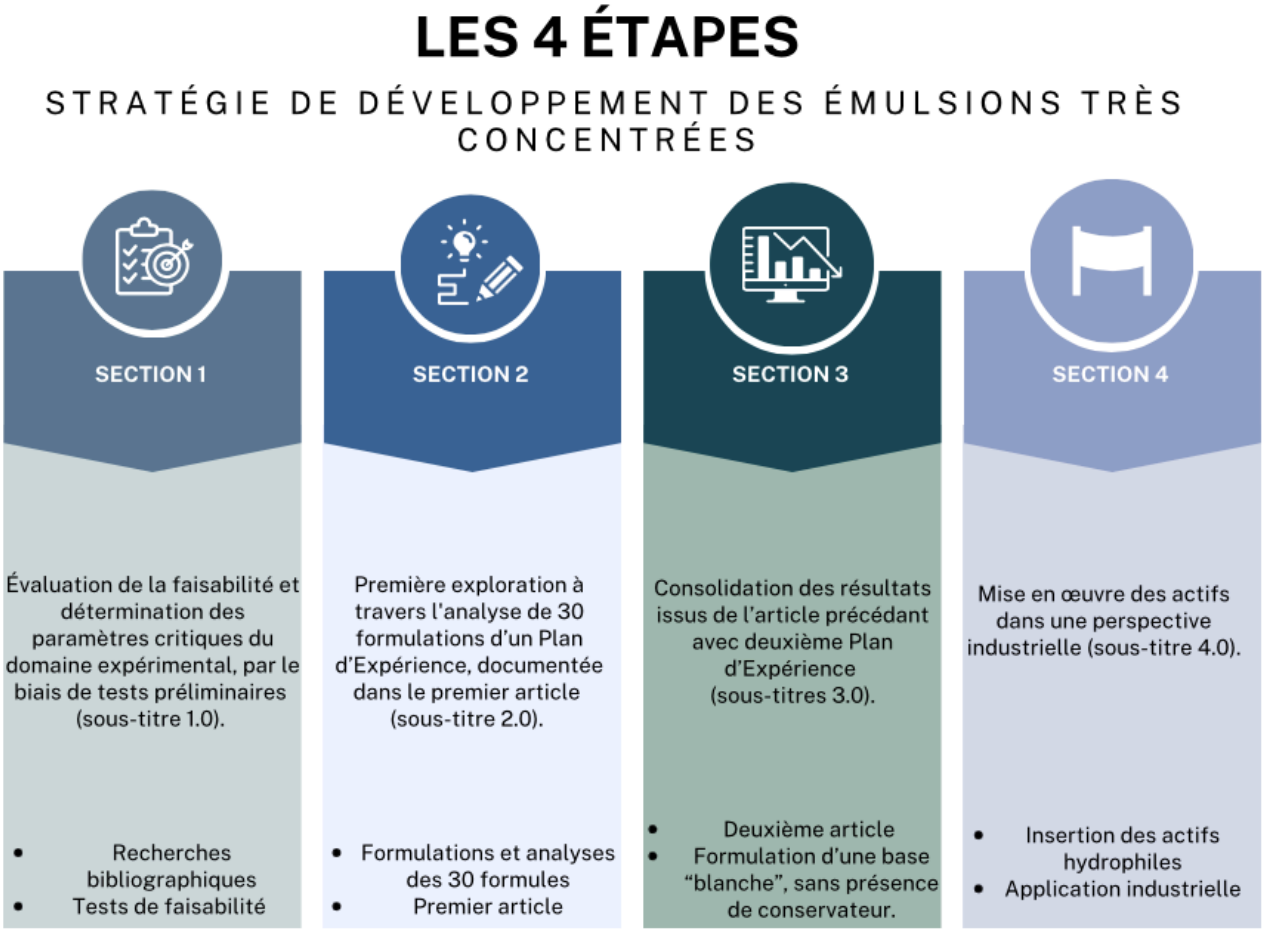


Figure 40 : Les 4 étapes.
Stratégie de développement des émulsions très concentrées.

SECTION 1 ***: Évaluation de la faisabilité et détermination des paramètres critiques du domaine expérimental, par le biais de tests préliminaires (sous-titre 1.0)***. Cette section vise à réaliser une étude bibliographique (articles et brevets) pour identifier les ingrédients et le procédé de fabrication les plus simples permettant d'obtenir des ETC stables pendant au moins

24 heures, avec une texture caractéristique offrant un toucher "quick break". Ces caractéristiques sont essentielles pour nos recherches, car elles nous permettront d'établir des paramètres critiques nécessaires à la construction d'un plan d'expérience efficace.

SECTION 2 : ***Première exploration à travers l'analyse de 30 formulations d'un Plan d'Expérience, documentée dans le premier article (sous-titre 2.0).*** Cette section a pour objectif d'examiner les paramètres, les ingrédients et les procédés qui influent sur la stabilité des ETCs. Les formules ont été analysées sur une période de 90 jours. Les analyses ont porté sur les aspects organoleptiques à température ambiante (pendant 3 mois) et à 40°C (pendant 1 mois), ainsi que sur les caractéristiques rhéologiques (pendant 3 mois) et de texture (pendant 3 mois). Les analyses rhéologiques et de texture ont été effectuées en triplicata. À partir de ces résultats, un article a été rédigé. En raison de la grande quantité de données, l'accent a été mis sur les réponses organoleptiques en termes de stabilité (à température ambiante et à 40°C), les caractéristiques de texture (fermeté, cohésion, adhésion et caractère collant) ainsi que la thixotropie par le biais de la rhéologie. Ainsi, cette étude se concentre sur une analyse préliminaire de la stabilité et des profils de texture potentiels (fermes ou plus liquides). Les résultats du plan d'expérience ont mis en évidence les paramètres qui ont le plus d'influence sur la stabilité (notamment la nature de l'émulsionnant et de l'huile), sur la texture (à savoir les ingrédients et les procédés), ainsi que sur la thixotropie (incluant l'émulsionnant, l'huile et la vitesse de rotation).

SECTION 3 : ***Consolidation des résultats issus de l'article précédant avec deuxième Plan d'Expérience (sous-titres 3.0).*** Cette section vise à affiner les analyses du premier plan d'expérience. Pour ce faire, un deuxième plan d'expérience a été réalisé, comprenant 6 formules différentes. L'objectif ultime est de concevoir un « châssis formulaire » d'ETC dans laquelle nous pourrons incorporer de futurs actifs hydrophiles. Dans cette optique, une analyse de la stabilité physico-chimique et microbiologique doit être réalisée, ainsi qu'une proposition de textures. Cette approche nous a permis d'obtenir des ETC stables, avec une absence ou une quasi-absence de conservateurs, conformément au challenge test NF ISO 11930. Un deuxième article a été rédigé à partir des résultats de ces dernières études.

SECTION 4 : ***Mise en œuvre des actifs dans une perspective industrielle (sous-titre 4.0).*** Cette section vise à intégrer des actifs hydrophiles tels que la L-carnosine et la L-carnitine dans

la formule de « châssis formulaire sans conservateur", puis à évaluer leur comportement physico-chimique en termes de stabilité sur une période allant de 90 à 120 jours. Les analyses réalisées comprennent une analyse rhéologique, une analyse de texture et une analyse de diffraction de lumière (Turbiscan). De plus, des analyses microbiologiques ont été effectuées pour vérifier la protection microbiologique des émulsions. Les résultats démontrent que la présence des actifs n'affecte pas la structure des émulsions très concentrées ni leur protection contre les micro-organismes.

1. TESTS DE FAISABILITÉ

Avant de commencer à mettre en place un Plan d'Expérience, une investigation approfondie sur les ingrédients ainsi que les méthodes de fabrication a été menée. Cette démarche vise à atteindre deux objectifs principaux : d'abord, repérer des ingrédients, de préférence d'origine naturels, puis identifier des procédés de fabrication les plus simples et privilégier un procédé "à froid" lorsque la méthodologie le permet.

Au cours de cette phase initiale, nous avons exploré une variété d'ingrédients avec différents pourcentages, tout en variant les processus de fabrication. L'objectif était de définir les limites du domaine expérimental et de mener des essais de faisabilité. Pour cette partie, les critères utilisés pour déterminer les paramètres dans les essais réalisés étaient les suivants : garantir une stabilité d'au moins un jour après la fabrication, obtenir des textures distinctes avec la sensation d'une rupture rapide, ainsi que des profils rhéologiques présentant une certaine stabilité.

1.1. Ingrédients

Dans cette section, nous explorerons les recherches visant à identifier les ingrédients potentiels pour la formulation des ETCs (E/H). Nous avons privilégié l'utilisation d'ingrédients ayant un indice de naturalité élevé, ce qui signifie un rapport plus important entre les ingrédients d'origine naturelle par rapport aux ingrédients synthétiques, lorsque cela était possible. Les composants clés des Émulsions Très Concentrées (ETC) comprennent: ***(a) la nature des émulsionnants, (b) la nature des huiles, (c) les sels, et (d) les polymères huileux/aqueux***.

(a) Nature des Émulsionnants

En ce qui concerne le choix des émulsionnants pour les ETC (E/H), il est à noter que les options sont relativement limitées. En effet, les ETC ne sont pas des émulsions classiques telles que les E/H ou les H/E, elles sont caractérisées par une phase interne de fraction volumique, de moins 74 %, ce qui entraîne des difficultés pour stabiliser ce type d'émulsion et par conséquent, des problèmes lors de leur utilisation pendant l'étape de fabrication. Ainsi la création d'un émulsionnant facile à utiliser et constitué d'un haut indice de naturalité est toujours un défi.

Nous avons entrepris une recherche approfondie pour trouver des émulsifiants répondant à des critères spécifiques : ils devaient être de type eau dans huile (E/H), de nature non ionique,

avec un indice HLB compris entre 3,7 et 6,2, de préférence d'origine naturelle, et liquides à température ambiante.

Après une analyse minutieuse des émulsionnants existants pour les ETC dans les brevets et les articles, nous avons constaté que la plupart d'entre eux contenaient des silicones ou des PEGs (PolyEthylene Glycol). Le problème de ces ingrédients est qu'ils sont issus de la pétrochimie et selon leur processus de fabrication, certains peuvent contenir des substances controversées. Un autre problème est qu'ils sont très peu biodégradables. Cependant, comme notre démarche était axée sur l'utilisation d'ingrédients d'origine naturelle lorsque possible, cela a restreint notre choix.

Il est à noter que certains émulsionnants naturels classiques pour les émulsions eau dans l'huile existent, mais ils ne sont pas spécifiquement conçus pour les ETCs, comme indiqué dans le ***Tableau 19***. Par conséquent, notre sélection s'est principalement orientée sur trois émulsionnants : l'Isolan GPS, le Cithrol PGTL et le HIPE Aqua.

Lorsque nous avons commencé nos tests en 2020, l'Isolan GPS n'était pas encore reconnu comme un émulsionnant pour les ETCs, mais en 2022, un brevet de L'Oréal a confirmé son utilisation. En ce qui concerne le Cithrol PGTL, aucune publication n'a encore mentionné son utilisation dans les ETCs. Quant au HIPE Aqua, il est sorti du marché en 2022.

Nos premiers tests se sont concentrés sur ces trois émulsionnants car ils étaient d'origine naturelle et respectaient la certification selon le référentiel COSMOS. L'Isolan GPS (Polyglyceryl-4 Diisostearate/Polyhydroxystearate/Sebacate) et le Cithrol PGTL (Tri(Polyglyceryl-3/Lauryl) Hydrogenated Trilinoleate) sont des polyglycérols, tandis que le HIPE Aqua (Isopropyl Palmitate, Polyglyceryl-3 Oleate, Coco-Caprylate/Caprate, Sorbitan Sesquioleate) est un mélange d'émulsionnants et d'émollients. Parmi tous ces émulsionnants seul le HIPE Aqua a été conçu pour la formulation des ETCs (E/H). Les émulsionnants ont été testés à une concentration minimale, conforme à la fiche technique.

Dans le tableau ci-dessous, ***Tableau 19*** sont répertoriés les émulsionnants spécifiques pour les ETCs (E/H) ainsi que des émulsionnants classiques pour les émulsions eau dans huile. Il est important de constater que la plupart des émulsionnants spécifiques destinés à la réalisation des ETCs sont à base de silicone et/ou de PEG, comme mentionné précédemment. Cette préférence est due à leur stabilité dans le contexte des émulsions très concentrées. Nous avons également observé que les investissements dans les ETCs proviennent principalement de

fournisseurs de matières premières tels que DOW GLOBAL TECHNOLOGIES INC., ainsi que de grandes entreprises cosmétiques telles que BEIERSDORF, THE PROCTER & GAMBLE COMPANY, et L'ORÉAL. Notre travail s'est concentré sur des émulsionnants naturels, COSMOS, moins connus mais prometteurs.

Fournisseurs de matières premières	Nom commercial	INCIs	Brevets et Entreprises
Dow Chemical-Home and Personal Care	DOWSIL™ 7-3120 VFAP HIP Emulsion	Dimethicone ; Trisiloxane ; Ceteth-10 ; Laureth-4 ; Aqua	(Pate *et al.*, 2003A) (Pate *et al.*, 2003B) (Young and Mcginley, 1995) (DOW GLOBAL TECHNOLOGIES INC)
Dow Chemical-Home and Personal Care	DOWSIL™ 7-3100 Gum Blend HIP Emulsion	Cyclopentasiloxane ; Diméthiconol ; Laureth-4 ; Laureth-23	(Pate *et al.*, 2003A) (Pate *et al.*, 2003B) (Young and Mcginley, 1995) (DOW GLOBAL TECHNOLOGIES INC)
Dow Chemical-Home and Personal Care	DOWSIL™ 7-3101 Elastomer Blend HIP Emulsion	Cyclopentasiloxane ; Dimethicone Crosspolymer ; Dimethicone ; Laureth-23 ; Laureth-4	(Pate *et al.*, 2003A) (Pate *et al.*, 2003B) (Young and Mcginley, 1995) (DOW GLOBAL TECHNOLOGIES INC)
Dow Corning	Dow Corning 5200	Lauryl PEG/PPG-18/18 Methicone	(Bleckmann, Guenther Dr Schneider, *et al.*, 2000) (BEIERSDORF)
Clariant	SilCare® Silicone WSI	Glyceryl Carboxy Amodimethicone	(Cecile Ratschow *et al.*, 2014) (BEIERSDORF)
Sunjin Beauty Science	WaterDropSil-D	Dimethicone ; Dimethicone/Vinyl Dimethicone Crosspolymer ; PEG-10 Dimethicone	(Cecile Ratschow *et al.*, 2014) (BEIERSDORF)
Sunjin Beauty Science	EcoDopGel (2021)	Polyglyceryl-4 Isostearate ; Coco-Caprylate/Caprate ; Disteardimonium Hectorite	-
GRANT	GRANSURF 2106	Dimethicone ; PEG-10 Dimethicone Crosspolymer	(Ehrman and VELEZ, 2014) (The Procter & Gamble Company)
Global Seven	Global Seven Hest PGFA	Polyalkoxylene polyester copolymer	-
EVONIK	ABIL® EM 90	Cetyl PEG/ PPG-10/ 1 Dimethicone	(Cecile Ratschow *et al.*, 2014) (BEIERSDORF) (Bleckmann, Günther Dr Schneider, *et al.*, 2000) (BEIERSDORF AG)
EVONIK	Isolan®PDI	Diisostearoyl Polyglyceryl-3 Dimer Dilinoleate	(Cecile Ratschow *et al.*, 2014) (BEIERSDORF)
EVONIK	Isolan® GPS	Polyglyceryl-4 Diisostearate/Polyhydroxy-stearate/Sebacate	(Dubuisson and GUILLIER, 2022) (L'ORÉAL)

Alchemy Ingredients	HIPEgel AQUA	Isopropyl Palmitate, Polyglyceryl-3 Oleate, Coco-Caprylate/ Caprate, Sorbitan Sesquioleate	-
CRODA	ARLACEL P135 ou Cithrol DPHS	PEG-30 Dipolyhydroxystearate	(Bleckmann, Günther Dr Schneider, *et al.*, 2000) (BEIERSDORF)
CRODA	Cithrol™ PGTL	Tri(Polyglyceryl-3/Lauryl) Hydrogenated Trilinoleate	-

***Tableau 19** : Liste des émulsifiants pour les émulsions très concentrée, eau dans huile. Les émulsionnants sélectionnées pour cette étude sont surlignés.*

(b) Nature des huiles

Après avoir sélectionné nos émulsionnants potentiels, nous avons ensuite choisi les éléments de la phase lipophile et notamment différentes huiles, comme des huiles d'origine synthétiques et des huiles d'origine naturelle de différentes polarités. Les huiles que nous avons testées comprenaient l'huile d'amande douce (Bertin), l'huile d'avocat (Bertin), l'huile de tournesol (Bertin), le squalane (Salfic-Alcan), l'Isopropyl Isostearate (CRODA), l'Isopropyl Isostearate (CRODA), l'ethylhexyl palmitate (CRODA), l'Isononyl Isononanoate (SEPPIC), et l'Isopropyl myristate (INTER-CHIMIE). Les huiles sélectionnées sont : Isononyl Isononanoate (origine synthétique), Isopropyl Myristate (origine végétal) et Ethylhexyl Palmitate (origine végétal et synthétique), ***Tableau 20.***

Huiles (INCI)	Origine	Densité	Groupes	HLB	Polarité
Isononyl Isononanoate	Synthétique	0.85	Esters	11-12	Moyenne
Isopropyl myristate	Végétal	0,85	Esters	14-15	Moyenne
Ethylhexyl palmitate	Végétal et synthétique	0,86	Esters	8-9	Baisse

***Tableau 20 :** Descriptif des huiles sélectionnés pour le plan d'expérience*

Bien que la naturalité ait été l'un de nos objectifs, la plupart des huiles d'origine végétale n'ont pas démontré une stabilité suffisante, moins de 24h. Par conséquent, nous avons décidé d'opter pour trois types d'huiles provenant de diverses origines, car notre principal objectif est d'obtenir des émulsions très concentrées stables.

(c) Nature du sel

L'émulsion très concentrée est souvent considérée comme intrinsèquement instable. Selon la littérature, l'introduction de sels tels que le NaCl, le $MgSO_4$ et le $ZnSO_4$ peut améliorer la

stabilité de ce type d'émulsion. La présence de ces électrolytes réduit les forces d'attraction entre les gouttelettes d'eau grâce à la formation d'un film organique mince, empêchant ainsi la coalescence. Comme mentionné antérieurement sur la section 6 de l'État de l'art. Cependant, il est important de noter que, dans la plupart des cas, seule une petite quantité de sel dans la phase aqueuse (généralement <1% de la formule) a un impact significatif sur la stabilité de l'émulsion et de la rhéologie interfaciale (Tripathi *et al.*, 2017a). Dans le cadre de cette étude, nous nous sommes focalisés sur le $MgSO_4$ et le $ZnSO_4$ (Park, W. Cho and Lee, 2003) (Aronson and Petko, 1993b).

(d) Nature des polymères (gélifiants)

Dans ces essais, nous nous sommes concentrés sur l'incorporation de polymères ayant des capacités pour épaissir ou gélifier soit la phase aqueuse ou la phase lipophile, dans le but d'améliorer la stabilité potentielle des ETCs. Le choix des agents gélifiants a été guidé par leur compatibilité avec des procédés à froid et leur origine naturelle, lorsque cela était possible. Le polymère huileux sélectionné était l'Emulfree CGB (composé de Isostearyl Alcohol, Butylene Glycol Cocoate, et Ethylcellulose), tandis que les polymères aqueux choisis étaient la Gomme Xanthane FNCS-OC (Xanthane Gum) et le VIVAPUR CS 32 XV (Xanthane gum et Microcrystalline cellulose). Il est important de noter que la plupart de ces polymères sont d'origine naturelle, à l'exception de l'Emulfree CBG. En effet, l'Isostearyl Alcohol et les acides gras proviennent de sources végétales, tandis que le Butylene Glycol qui peut provenir d'une source végétale ou être synthétisé. Conformément au calcul de naturalité selon la norme ISO 16128, l'Emulfree CBG reste entre 25 % et 50 % d'origine naturelle et le VIVAPUR est à 100% d'origine naturelle. En ce qui concerne les polymères, nous avons sélectionnées l'Emulfree CBG (polymère huileux) et la Gomme Xanthane FNCS-OC (polymère aqueux). Le VIVAPUR n'était pas choisi dû à son instabilité dans nos formules.

1.2. Procédés de formulation

Le procédé de fabrication a été élaboré en ayant pour objectif la praticité, ce qui implique un nombre minimal d'étapes, une exécution à froid pour économiser de l'énergie, et l'utilisation d'équipements de mélange simples/ commun. Une fois les ingrédients des différentes formulations définis, plusieurs procédures distinctes ont été mises en place pour évaluer le comportement des émulsions au fil du temps. Il est fondamental de noter que les émulsions très concentrées ne doivent pas être soumises à une agitation excessive ni à des vitesses élevées

pour éviter une inversion de phase, comme cela a été expliqué précédemment dans la Partie I. Pour cette raison, nous avons choisi trois types de mélangeurs différents : une turbine à pales inclinées avec une agitation axiale +++ et radiale +, une défloculeuse avec une agitation axiale + et radiale +++, ainsi qu'un prototype circulaire avec une agitation tangentielle, comme présenté dans le ainsi qu'un prototype circulaire avec une agitation tangentielle, comme présenté dans le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**.

Le choix du matériel a été motivé par l'aspect pratique et par le type de la phase dispersée envisagée, notamment pour des émulsions très concentrées d'environ 10 μm, qui nécessitent une agitation ayant des profils d'écoulement axiaux et radiaux ainsi que des forces de cisaillement modérées (Solano, 2018) (Tripathi *et al.*, 2017b) (Foudazi *et al.*, 2015).

Suite à des essais comparatifs impliquant les trois types d'agitateurs, nous avons constaté que le prototype circulaire produit des ETCs répondant aux attentes, avec une rupture rapide accentuée et une stabilité confirmée à 24 heures. Cependant, la mise en œuvre de tels protocoles pourrait poser des difficultés lors de la transposition à l'échelle industrielle. Ce pour cette raison que nous avons décidé de nous focaliser sur les types de mobile « défloculeuse » et « turbine à pales inclinés ». Les vitesses de rotation choisies étaient de 600rpm, 800rpm et 1200rpm, tandis que le débit d'incorporation de la phase aqueuse était réglé à 11 g/min, 17 g/min et 34 g/min, contrôlé par une pompe.

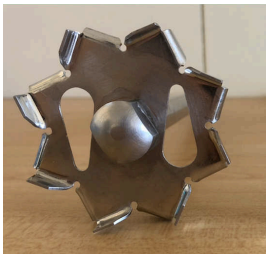
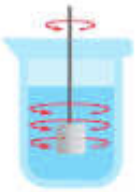
Formes des mélangeurs			
Types des écoulements	*Écoulement radial*	*Écoulement axial*	*Écoulement tangentiel*
Images représentant l'écoulement			
Viscosités des émulsions classiques E/H ou H/E	*0 à 100.000cP*	*0 à 10.000cP*	*0 à 10.000cP*
Diamètres des mélangeurs	*6,0cm*	*8,0cm*	*10,0cm*
Descriptions	*La turbine (défloculeuse), génère un écoulement radial de grande intensité avec une forte turbulence à l'intérieur du bécher, s'effectuant de manière descendante.*	*L'hélice génère un écoulement axial avec des forces de cisaillement limitées. Cet écoulement déplace de haut en bas dans le bécher.*	*Le prototype circulaire génère un écoulement tangentiel. Cet écoulement permet d'éviter la sédimentation sur la paroi du récipient.*

Tableau 21: *Descriptifs des agitateurs utilisés dans cette étude avec leur type d'écoulement.*

1.3. Conclusion des essais préliminaires

A l'issu de ces travaux bibliographiques et expérimentaux, nous avons pu déterminer les bornes du domaine d'expérimentation, et les variables à étudier dans le premier Plan d'Expérience, ainsi que les réponses nous permettant de bien caractériser nos ETCs. Le ***Tableau 22*** présente une synthèse de toutes les variables utilisées dans ce premier plan d'expérience.

Variables du plan d'expérience		
Ingrédients	**Nature d'huile**	- Isononyl Isononanoate - Isopropyl Myristate - Ethylhexyl Palmitate
	Nature d'émulsionnant	- Polyglyceryl-4 Diisostearate/Polyhydroxy- stearate/Sebacate - Tri(Polyglyceryl-3/Lauryl) Hydrogenated Trilinoleate et Isopropyl Palmitate - Polyglyceryl-3 Oleate, Coco-Caprylate/ Caprate, Sorbitan Sesquioleate
	Nature du polymère	- Isostearyl Alcohol (and) Butylene Glycol Cocoate (and) Ethylcellulose - Xanthan Gum (and) Microcrystalline cellulose - Xanthane Gum
	% de polymère	- 0% - 1% - 2%
	Nature du sel	- $ZnSO_4$ - $MgSO_4$
	% du sel	- 1% - 2% - 3%
Procédés	**Type de mélangeur**	- Hélice - Défloculeuse
	Débit d'incorporation	- 11 g/min - 17g/min - 34g/min
	Vitesse	- 600rpm - 800rpm - 1200rpm

Tableau 22 : *Les bornes du domaine d'expérimentation.*
Les ingrédients ainsi que les procédés pour le Plan d'Expérience.

Concernant la méthodologie utilisée pour la formulation, elle a été principalement décomposée en trois étapes distinctes : tout d'abord, la préparation de la phase aqueuse, suivie de la préparation de la phase huileuse, et enfin l'émulsification à froid. L'incorporation de la phase aqueuse dans la phase huileuse a été réalisée à l'aide d'une pompe permettant de régler le débit d'incorporation. Il est important de noter que tout au long du processus, la vitesse est restée constante, ce qui signifie que si l'émulsification a débuté à 800 rpm, elle est restée constante jusqu'à la fin de son incorporation totale. Toutes ces étapes sont illustrées dans la ***Figure 41***.

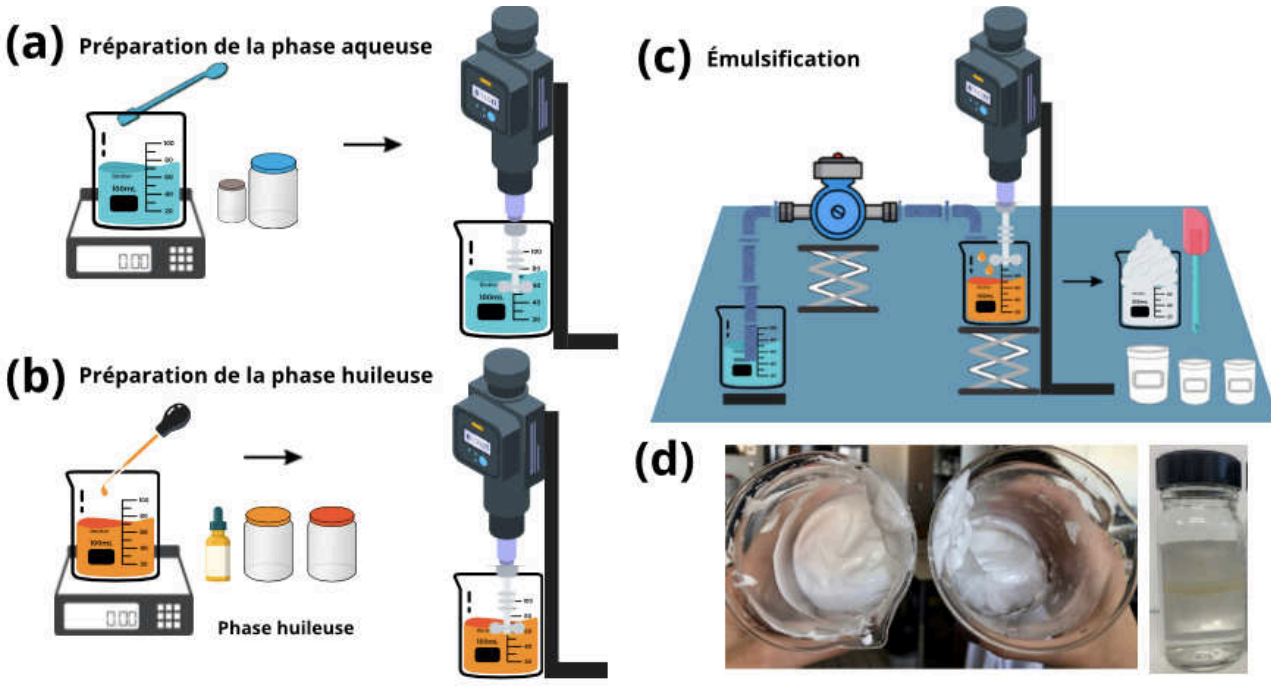


Figure 41 *:Étapes de la formulation ETC (E/H).*
(a) Préparation de la phase aqueuse ; (b) préparation de la phase huileuse ; (c) émulsification et (d) exemples des formules stables et instable.

Maintenant que les bornes d'expérimentations ont été établies et la méthodologie de formulation fixée, nous pouvons réaliser un premier plan d'expérience avec les 30 formules sur la section 2 avec l'article 1.

2. ARTICLE 1

Dans cette section, nous aborderons la mise en place d'un plan d'expérience impliquant la formulation de 30 ETCs, ainsi que les analyses réalisées et les résultats obtenus concernant les paramètres d'influence. L'objectif principal de cette étude est d'identifier les paramètres ayant le plus d'impact sur la stabilité des formulations et d'étudier les différents types de textures possibles. En raison du grand nombre de données, ce premier article nous permettra d'effectuer une étude préliminaire et d'obtenir une vue d'ensemble du potentiel de ces formulations, ainsi qu'un éventail de textures variées. Cela nous permettra de procéder à une vérification plus approfondie dans le cadre du deuxième article. Il convient de noter que, bien que certaines études menées par d'autres chercheurs aient mis en évidence l'influence de certains ingrédients ou procédés, aucune d'entre elles n'a été réalisée avec le support d'un Plan d'Expérience.

Afin d'améliorer la fluidité de la lecture dans cette section, nous avons séparé cette section en quatre parties :

- **Résumé de l'article 1 :** Cette partie comprend un résumé de l'article, comprenant une brève introduction, une présentation des méthodes utilisées et une conclusion.
- **Article 1 :** Cette partie contient l'article 1 soumis au Journal International Journal of Cosmetic Science.
- **Discussions et Conclusion de l'article 1 :** Dans cette partie, nous tirons des conclusions, tout en ouvrant la voie vers le deuxième article.

2.1. Résumé de l'article 1

Introduction :

Les émulsions à haute teneur en phase interne (HIPEs) se révèlent être des systèmes importants pouvant avoir des applications innovantes dans différents domaines, tels que le domaine alimentaire, le développement des matériaux, les applications médicales, les secteurs de la pharmacie et de la cosmétique. Bien que leur utilisation semble de plus en plus importante, les HIPEs présentent des problèmes concernant leur stabilité, qui se manifestent lors des différentes étapes de leur cycle de vie, comme la fabrication, la mise en packaging et leurs applications en fonction des domaines d'utilisation. Conscient de l'importance de résoudre

cette problématique, notre étude adopte une approche expérimentale dans le but de mettre en évidence les paramètres optimaux concernant les ingrédients et les processus de fabrication. La connaissance de ces paramètres permettra d'anticiper les propriétés rhéologiques et texturales des HIPEs, en relation avec les caractéristiques sensorielles des produits, permettant de satisfaire les consommateurs.

Méthodes :

Pour explorer de manière systématique les dynamiques complexes des HIPEs, nous avons mis en œuvre un Plan d'Expérience (DOE) portant sur 30 formulations distinctes. Cette approche complète visait à identifier les principaux facteurs, à la fois les ingrédients et les processus, influençant les caractéristiques rhéologiques, texturales et microscopiques des HIPEs dès le premier jour de test. Des évaluations visuelles ultérieures à 30, 60 et 90 jours, réalisées à température ambiante et à une température élevée de 40 °C, ont enrichi davantage notre compréhension de la stabilité des formulations au fil du temps. Pour extraire les tendances sous-jacentes et simplifier les données complexes, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée.

Concernant les analyses Physico-chimiques :

- *Analyse Organoleptique :* Une analyse a été réalisée à la fois à température ambiante et à 40°C pendant 3 mois. Au cours de cette analyse, nous avons observé changements de couleur, de texture, d'odeur ou d'autres altérations telles que l'exsudation.
- *Analyse Microscopique* : Cette analyse a été effectuée dans le but d'observer les structures microscopiques des ETCs et de déterminer les différences de taille des gouttelettes ainsi que leur homogénéité. Les analyses ont été effectuées à température ambiante à J+1.
- *Analyse Rhéologique :* Les analyses ont été mise en place à J+1. Toutes les analyses ont été réalisées à température ambiante***. Les analyses rhéologiques réalisés: (i) Balayage contrainte ; (ii) Balayage fréquence et (iii) Écoulement.***

(i) Balayage contrainte :

Les HIPE ont été soumis à une contrainte croissante (t) de 0,1 à 100 Pa à une fréquence fixe de 10 Hz. L'essai de balayage d'amplitude a fourni des données sur

la variation des modules de stockage et de perte (G' et G'') et a permis de déterminer une région viscoélastique linéaire (DVEL).

(ii)Balayage fréquence :

Les HIPEs ont été testés à des fréquences comprises entre 1 à 100 Hz en appliquant une contrainte de (t) de 1,0 Pa. Ce test permet d'obtenir les valeurs du module élastique à différentes fréquences. De plus, cette analyse nous a permis de déterminer la tangente delta (δ) et parallèlement le test nous a permis d'évaluer la viscosité complexe.

(iii)Écoulement :

Les HIPEs ont été soumis à un taux de cisaillement variable de 0 à 100 s^{-1} pour obtenir des courbes en trois étapes séquentielles dans une rampe continue.

- *Étape 1 :* gradient de vitesse ($\dot{\gamma}$) 0 à 100 s-1; durée : 2min (courbe aller)
- *Étape 2 :* maintien du pic ($\dot{\gamma}$) 100 s-1; durée : 1min
- *Étape 3 :* gradient de vitesse ($\dot{\gamma}$) 100 s-1 à 0 ; durée : 2min (courbe retour)

En augmentant et en diminuant les rampes de cisaillement, ce test a donc permis de caractériser le comportement rhéologique et de révéler la présence d'un éventuel comportement thixotrope.

Toutes les mesures ont été effectuées en trois fois, 24 heures après la formulation.

- *Analyse de Texture:* Cette analyse a été réalisée avec un texturomètre pour effectuer une analyse de profil de texture (APT). Les résultats de ce test se présentent sous forme de courbes et fournissent des données telles que la fermeté, l'adhésion, la cohésion, l'élasticité, le caractère collant, entre autres. Cette analyse a été effectuée à température ambiante à J+1

Concernant les analyses de données :

- *Plan d'Expérience :* Pour la présente étude, nous avons fait varier la nature, les pourcentages de tous les ingrédients, de même que le type de procédé tel que le matériel d'agitation, le débit d'incorporation et la vitesse. Les réponses correspondent au nombre de jours pendant lesquels les formules sont restées stables visuellement dans le temps, à température ambiante ainsi qu'à 40°C. D'autres réponses ont été liées à leur texture,

telles que la fermeté, le caractère collant et l'adhésion, et enfin la thixotropie a également été évaluée.

Les facteurs et le domaine d'intérêt peuvent être décrits comme suit :

- L'influence de 9 variables sur la formulation des HIPEs a été étudiée : 7 variables à 3 niveaux et 2 variables à 2 niveaux.
- Sur les 9 variables, 6 (X1, X2, X3, X4, X5 et X6) étaient des ingrédients et 3 (X7, X8 et X9) étaient liées au procédé, ***Tableau 23.***

Variables	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
x1 Nature d'huile	Isononyl Isononanoate	Ethylhexyl Palmitate	Isopropyl Myristate
x2 Nature d'émulsionnant	E1	E2	E3
x3 %Gélifiant huileux	0%	1%	2%
x4 %Gélifiant aqueux	0%	1%	2%
x5 Nature de sel	sulfate de zinc	sulfate de magnesium	-
x6 % de sel	1%	2%	3%
x7 Type de mélangeur	Hélice	Défloculeuse	-
x8 Vitesse de mélangeur	600 rpm	800 rpm	1200 rpm
x9 Débit d'incorporation	11 g/min	17 g/min	34 g/min

Tableau 23 : *Facteurs et domaine d'intérêt d'étude.*

La construction du plan d'expérience a été réalisé avec un modèle comportant 14 coefficients et un plan asymétrique $2^2 3^7$ avec 27 expériences a été construit à partir du plan symétrique optimal $3^{13}//27$ à l'aide de la méthode de correspondance d'Addelman (Addelman, 1962). Plus de détails sont disponibles dans l'article 1 ainsi que dans le ***Tableau 24***, qui présente les 30 formules (27 + 3 répétitions). Ce tableau récapitule les variables utilisées ainsi que les réponses correspondantes.

Variables										Responses					
Ingredients							Process			Stability		Texture			
Exp. n°	x1 Oil nature	x2 Emulsifier nature	x3 Oily polymer (%)	x4 Aqueous polymer (%)	x5 Salt nature	x6 Salt (%)	x7 Type of stirrer	x8 Speed of rotation (rpm)	x9 Flow rate (g/min)	Room temperature (days stables)	40°C (days stables)	Firmness (gf)	Adhesiveness (gf)	Stickiness (gf)	Thixotropy (Means absolue)
1.1	EHP	E1	0	0	$ZnSO_4$	1	Propeller	600	34	**90**	**90**	**76,015**	**-51,437**	**79,469**	**1.96**
1.2	*EHP*	*E1*	*0*	*0*	*$ZnSO_4$*	*1*	*Propeller*	*600*	*34*	**90**	**90**	**80,0025**	**-55,051**	**81,7451**	**0,24**
1.3	*EHP*	*E1*	*0*	*0*	*$ZnSO_4$*	*1*	*Propeller*	*600*	*34*	**90**	**90**	**61,2912**	**-38,292**	**60,6597**	**1,49**
1.4	*EHP*	*E1*	*0*	*0*	*$ZnSO_4$*	*1*	*Propeller*	*600*	*34*	**90**	**90**	**76,3103**	**-51,648**	**78,1726**	**1,44**
2	EHP	E1	0	1	$ZnSO_4$	2	Toothed disk	800	17	**90**	**90**	**190,290**	**-146,980**	**192,495**	**3,35**
3	EHP	E1	0	2	$ZnSO_4$	3	Propeller	1200	11	**90**	**90**	**192,239**	**-148,48**	**180,814**	**5,86**
4	IM	E2	1	0	$ZnSO_4$	1	Toothed disk	600	17	**90**	**90**	**70,960**	**-45,270**	**69,585**	**0,12**
5	IM	E2	1	1	$ZnSO_4$	2	Propeller	800	11	**90**	**90**	**81,5325**	**-54,635**	**83,5961**	**0,47**
6	IM	E2	1	2	$ZnSO_4$	3	Propeller	1200	34	**90**	**90**	**51,8549**	**-30,246**	**49,0412**	**0,18**
7	II	E3	2	0	$ZnSO_4$	1	Propeller	600	11	**90**	**0**	**34,8366**	**-16,767**	**29,0581**	**1,22**
8	II	E3	2	1	$ZnSO_4$	2	Propeller	800	34	**90**	**90**	**34,668**	**-16,414**	**30,185**	**0,09**
9	II	E3	2	2	$ZnSO_4$	3	Toothed disk	1200	17	**90**	**90**	**33,0278**	**-14,531**	**27,4495**	**0,14**
10	EHP	E2	2	0	$MgSO_4$	2	Toothed disk	1200	34	**90**	**90**	**184,268**	**-139,92**	**184,571**	**5,13**
11	EHP	E2	2	1	$MgSO_4$	3	Propeller	600	17	**90**	**90**	**77,1207**	**-50,722**	**78,1194**	**0,26**
12	EHP	E2	2	2	$MgSO_4$	1	Propeller	800	11	**90**	**90**	**78,1758**	**-52,328**	**79,4229**	**0,33**
13	IM	E3	0	0	$MgSO_4$	2	Propeller	1200	17	**30**	**0**	**98,7162**	**-68,563**	**105,314**	**0,07**

14	IM	E3	0	1	$MgSO_4$	3	Propeller	600	11	**2**	**0**	**35,7094**	**-16,241**	**31,6699**	**0,21**
15	IM	E3	0	2	$MgSO_4$	1	Toothed disk	800	34	**2**	**0**	**30,5706**	**-13,397**	**25,6174**	**0,05**
16	II	E1	1	0	$MgSO_4$	2	Propeller	1200	11	**90**	**90**	**241,015**	**-193,93**	**195,547**	**4,61**
17	II	E1	1	1	$MgSO_4$	3	Toothed disk	600	34	**90**	**90**	**44,704**	**-24,67**	**43,0246**	**0,08**
18	II	E1	1	2	$MgSO_4$	1	Propeller	800	17	**90**	**90**	**48,0696**	**-27,671**	**44,5319**	**0,07**
19	EHP	E3	1	0	$ZnSO_4$	3	Propeller	800	34	**30**	**0**	**48,9983**	**-26,699**	**46,0489**	**1,60**
20	EHP	E3	1	1	$ZnSO_4$	1	Propeller	1200	17	**30**	**30**	**49,3151**	**-26,897**	**45,8273**	**0,14**
21	EHP	E3	1	2	$ZnSO_4$	2	Toothed disk	600	11	**60**	**30**	**35,9274**	**-16,704**	**30,3047**	**0,07**
22	IM	E1	2	0	$ZnSO_4$	3	Propeller	800	17	**90**	**90**	**114,072**	**-85,095**	**112,242**	**0,73**
23	IM	E1	2	1	$ZnSO_4$	1	Toothed disk	1200	11	**90**	**90**	**166,348**	**-125,74**	**169,121**	**2,26**
24	IM	E1	2	2	$ZnSO_4$	2	Propeller	600	34	**90**	**90**	**28,3453**	**-12,367**	**22,8975**	**0,05**
25	II	E2	0	0	$ZnSO_4$	3	Toothed disk	800	11	**90**	**90**	**117,765**	**-84,775**	**122,186**	**0,43**
26	II	E2	0	1	$ZnSO_4$	1	Propeller	1200	34	**90**	**90**	**146,645**	**-107,82**	**151,112**	**2,31**
27	II	E2	0	2	$ZnSO_4$	2	Propeller	600	17	**90**	**90**	**26,7472**	**-11,369**	**20,9711**	**0,07**

Tableau 24 : *Variables et réponses du Plan d'Expérience.*
Les 30 formules (27 + 3 répétitions) avec leurs compositions (%, (w/w)), variables et réponses. Les formules 1.2, 1.3 et 1.4 sont des répétitions de la formule 1.1. Les abréviations EHP, IM et II désignent le palmitate d'éthylhexyle, l'isononyl isononanoate et le myristate d'isopropyle.

- *Analyse de Composant Principal :* Cette analyse a été réalisée dans le but de trouver des similitudes ou des corrélations entre ces 30 formules. Les données analysées comprenaient la fermeté, l'adhésion, le caractère collant, la cohésion et l'élasticité, obtenus à partir des tests de texture, ainsi que l'évaluation de la thixotropie issue de l'analyse rhéologique.

Résultats :

Notre étude nous a permis de classer les HIPEs en trois groupes distincts, en se basant sur leurs structures microscopiques, leurs comportements rhéologiques spécifiques et leurs textures. Parmi les 30 formules examinées, nous avons remarqué des similarités dans les analyses rhéologiques, les analyses de texture et les observations microscopiques, comme indiqué dans la ***Figure 42***. Suite à une analyse en composantes principales, la cohérence de ces similitudes a été confirmée par les proximités observées entre les différentes formules, comme illustré dans la ***Figure 43.*** En considération de ces résultats, nous avons ensuite regroupé les formules selon leurs similitudes, en tenant compte de leur proximité

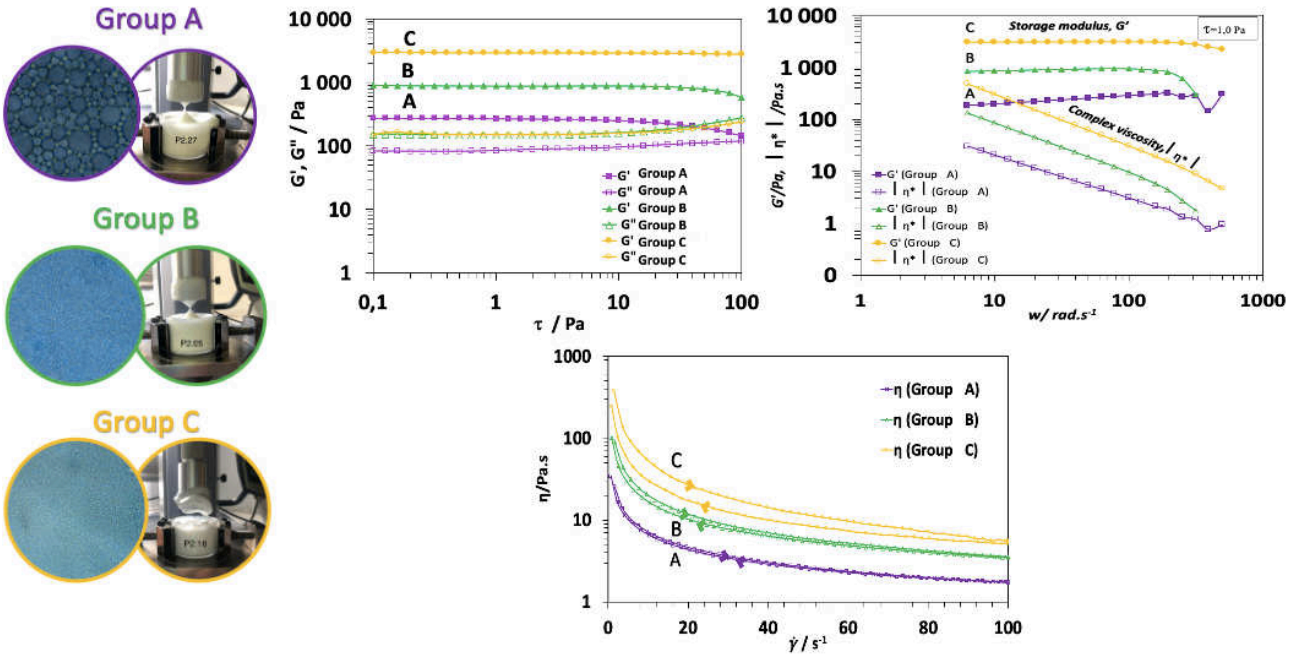


Figure 42 : *Résultats de l'article 1.*
Résultats des analyses (rhéologiques, texture et microscopiques) des 30 HIPE (eau dans huile) conduisant à la classification des formules correspondantes en trois groupes principaux.

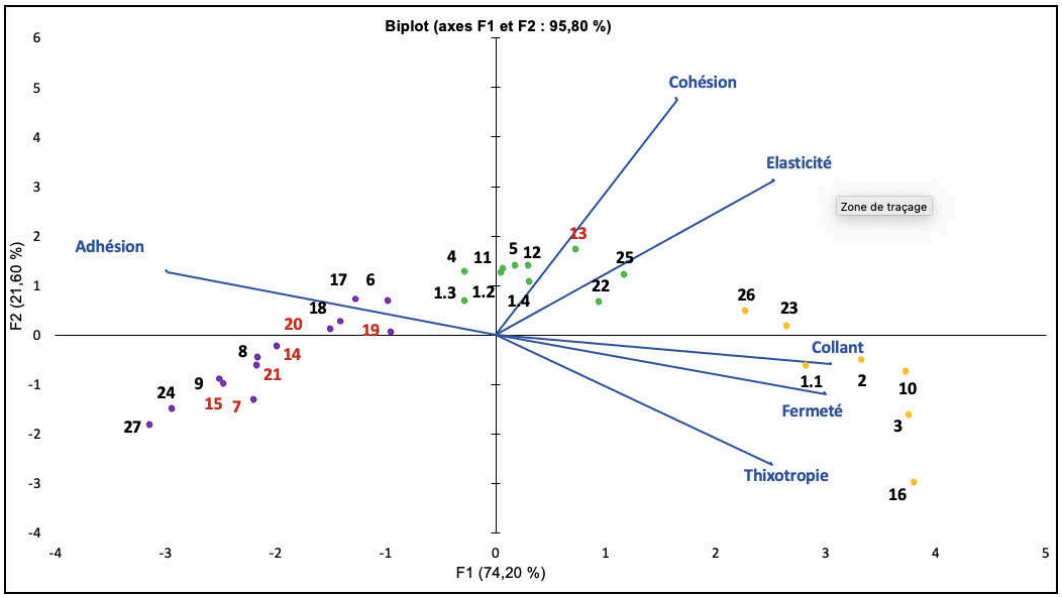


Figure 43 : *Analyse de composant principal avec les 30 formules.*

En fonction de leurs ingrédients et procédés de formulation nous avons pu observer différents comportements de stabilité et de texture. Le Plan d'Expérience a démontré de manière significative que certains ingrédients se sont révélés être des facteurs clés influençant de la stabilité des formulations. Les émulsifiants, la phase huileuse, la présence d'un polymère huileux et le type de sel ont été identifiés comme des variables essentielles favorisant la stabilité des HIPEs. De manière surprenante, aucun des différents procédés testés n'a eu un effet significatif sur la stabilité ; ces variables sont restées largement neutres. En qui concerne l'analyse texturale, elle a révélé l'influence nuancée de paramètres tels que le procédé, la vitesse de rotation et le type d'émulsifiant sur les différentes textures pour les HIPEs étudiés.

Vous trouverez ci-dessous un bref résumé des résultats de ce Plan d'Expérience, avec le premier tableau présentant les résultats liés aux ingrédients et à leurs variables, et le deuxième tableau présentant les résultats liés aux procédés et à leurs variables, comme illustré dans le ***Tableau 25***.

		Réponses ingrédients					
		Stabilitité		Texture			
Variables	Niveaux	Température ambiante	Température 40°C	Fermeté	Adhésion	Collant	Thixotropie
X1 Nature d'huile	1- EHP						
	2- IM						
	3- II						
X2 Nature d'émulsionnant	1- E1						
	2- E2						
	3- E3						
X3 Polymère huileux %	1- 0%						
	2- 1%						
	3- 2%						
X4 Polymère aqueux %	1- 0%						
	2- 1%						
	3- 2%						
X5 Nature du sel	1- ZnSO4						
	2- MgSO4						
X6 Sel %	1- 1%						
	2- 2%						
	3- 3%						

		Réponses procédés					
		Stabilité		Texture			
Variables	Niveaux	Température ambiante	Température 40°C	Fermeté	Adhésion	Collant	Thixotropie
X7 Type de mélangeur	1- Hélice						
	2- Défloculeuse						
X8 Vitesse de rotation	1- 600 rpm						
	2- 800 rpm						
	3- 1200 rpm						
X9 Débit d'incorporation	1- 11g/min						
	2- 17 g/min						
	3- 34g/min						

Tableau 25 : *Résultats synthétisés de l'influence de chaque variable et de ses niveaux. Le premier tableau présente les réponses liées aux ingrédients, tandis que le deuxième tableau présente les réponses liées aux procédés. Le rouge est utilisé pour indiquer un niveau défavorable, le vert pour un niveau favorable et le gris pour une absence d'influence.*

Conclusion :

En conclusion, notre approche consistant à combiner les méthodologies DOE et PCA, a permis de mettre en évidence les corrélations entre les différentes formulations et les paramètres physico-chimiques, permettant ainsi de le regrouper en fonction de leur similitude . De plus, elle a permis d'identifier les paramètres critiques associés à la formulation des HIPEs eau-dans-huile, présentant des structures microscopiques distinctes, des propriétés texturales variées et des profils rhéologiques divers. En établissant des liens entre la texture, la microscopie et la rhéologie, cette étude apporte des connaissances précieuses pour l'optimisation des formulations de HIPE en vue d'une approche de la stabilité et de la possibilité de la création de textures variées. Le résumé de l'article 1 sur ***Figure 44***.

ARTICLE 1

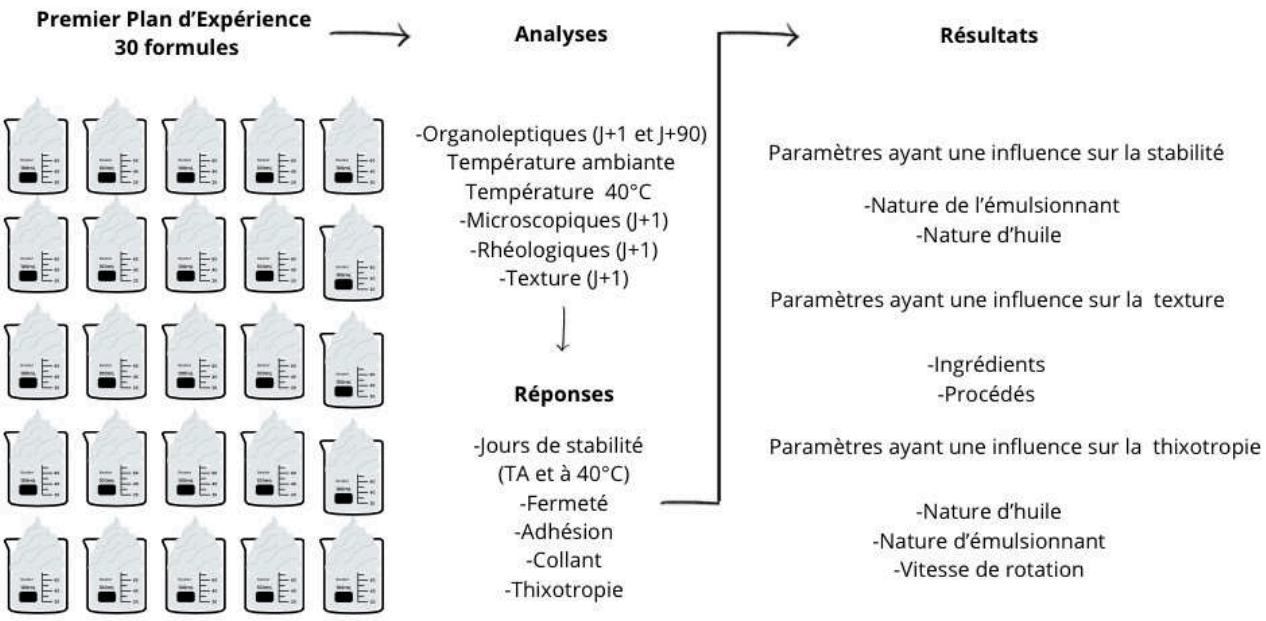


Figure 44 : *Résumé de l'article 1*

2.2. Article 1: " Optimization of highly concentrated water in oil by design of experiments and principal component analysis"

International Journal of Cosmetic Science

Optimization of highly concentrated water in oil emulsions by design of experiments and principal component analysis

Journal:	*International Journal of Cosmetic Science*
Manuscript ID	ICS-2023-4628
Wiley - Manuscript type:	Original Article
Keywords:	Highly concentrated emulsions, experimental design, rheology, texture, formulation

SCHOLARONE™
Manuscripts

Optimization of highly concentrated water in oil emulsions by design of experiments and principal component analysis

ABSTRACT

OBJECTIVE: High-Internal-Phase-Ratio Emulsions (HIPEs) have versatile applications in the food, materials, medical, pharmaceutical, and cosmetic industries but are susceptible to instability during manufacturing, packaging, or usage. We aimed to employ an experimental approach to identify optimal connections between the ingredients and manufacturing processes of these HIPEs with the goal of finely tuning their diverse sensory, rheological, and textural attributes to align with consumer satisfaction criteria.

METHODS: A design of experiments (DOE) involving 30 HIPEs was implemented to identify the factors (ingredients and processes) influencing the rheological, textural, and microscopic characteristics on day one of testing. A visual evaluation was then conducted at 30, 60, and 90 days, both at room temperature and at 40°C, to consolidate these findings. Finally, for a better understanding of the data, a principal component analysis (PCA) was performed to simplify and observe trends and similarities among the different formulations.

RESULTS: The HIPEs could be categorized into three groups with distinct microscopic structures, rheological behaviors, and exploitable textures dependent on their ingredients and formulation processes. Also, certain ingredients significantly impacted the stability of the formulation, with . According to the experimental design, key variables favorably influencing HIPEs' stability include emulsifiers, the oil phase, the presence of an oily polymer, and the type of salt found among the key variables as favorable influencers. On

For Peer Review

the other hand, none of the tested processes was found to have any significant effect on the stability of the HIPEs the variables remained largely neutral. Regarding texture analysis, we observed the influence of the process, rotation speed, and emulsifier type on different textures.

CONCLUSION: The collaborative approach between DOE and PCA firstly helped identify correlations among formulations, facilitating their grouping based on similarities. From this we subsequently determined the most critical parameters for formulating water-in-oil HIPEs with varying microscopic structures, distinct textural properties, and diverse rheological profiles. We thereby established a links among texture, microscopy, and rheology.

Keywords: Highly concentrated emulsions, experimental design, rheology, texture, formulation, statistics

For Peer Review

Introduction

Emulsions are classified as highly concentrated when their internal phase surpasses 74% [1]. In some cases, these emulsions can contain as much as 99% internal phase [2], resulting in a significant proportion of dispersed phase and a minimal continuous phase. This unique composition causes the dispersed phase droplets to deform into polyhedra, separated by thin films of the continuous phase [3]. In the literature, these highly concentrated emulsions go by various names, including high-internal-phase-ratio emulsions (HIPREs) [2] [4], high-internal-phase emulsions (HIPEs) [3], biliquid foams [5], hydrocarbon gels [6], high-internal-phase emulsion polymers (polyHIPEs) [7], and gel emulsions [8] [9]

The solid-like behavior of highly concentrated emulsions lends itself to a multitude of applications. For instance, they serve as substitutes for saturated fatty acids and hydrogenated oils in low-calorie food products like mayonnaise and chocolate [10] [11] [12] [13]. In the pharmaceutical industry, highly concentrated emulsions are utilized to encapsulate and protect probiotics or actives, enhancing their dispersibility and bioavailability [14] [15] [16]. In cosmetics and dermo-cosmetics, these emulsions are employed in creams to achieve a thicker consistency [17]. They also find utility in materials science, particularly in creating porous materials for biomedical devices [18] [19]. For example, injectable, biodegradable polyHIPEs with interconnected porosity have been developed to fill bone defects and enhance wound healing [20] Another material application includes the absorbent layer of sanitary napkins formed through the polymerization of an HIPE [21]. Notably, HIPEs are employed in the mining industry as commercial and blasting explosives due to their favorable properties including water resistance, adaptable viscosity, and excellent detonation performance [22].

HIPEs exhibit high viscosity and viscoelastic rheological behavior, meaning they display both viscous and elastic characteristics when subjected to deformation [3]. This elasticity is attributed to the compressed state of the droplets resulting from their extremely high internal phase volume [23]. These properties are highly desirable in the field of cosmetics and dermo-cosmetics.

Moreover, due to their substantial internal phase volume, water-in-oil (w/o) HIPEs and oil-in-water (o/w) HIPEs are adept at accommodating significant quantities of hydrophilic and hydrophobic actives, respectively [13]. Many of these actives are sensitive to pH and temperature changes, mechanical agitation and oxidation, and HIPEs offer protection effectively shielding them [12] [16] thus enhancing their longevity [24] [25] [26].

For Peer Review

Another advantage of w/o HIPEs is their ability to moisturize the skin effectively thanks to their high-water concentration and unique structure. This structure prevents water loss by providing a robust and dense interfacial film between the oil phase, the emulsifier, and the water, while facilitating a gradual release of the aqueous phase. The semi-permeability of this film also promotes epidermal barrier repair and establishes an optimized water vapor gradient on the skin, all without being excessively occlusive [27] [28].

Additionally, HIPEs (w/o) possess sensory properties that are much sought after in the cosmetics industry. Such emulsions have a "quick break" effect due to their high-water content, meaning they disintegrate rapidly under the effect of the shear forces encountered when applying the cream. This provides an attractive, refreshing and nourishing sensation [17]. These factors are essential in the cosmetic industry faced with a requirement for dermatological products to meet specific aesthetic and sensory criteria to gain consumer acceptance [29].

The distinctive mechanical and sensory properties of HIPEs outlined above are the result of a delicate balance between formulation and processing factors. However, due to their distinctive characteristics, HIPEs are susceptible to instability, which poses challenges during manufacturing, packaging, and pumping of cosmetic products containing HIPEs [20]. Several factors influence the stability and quick-breaking properties of these products, including the content of the aqueous phase [30] [31], the quantity and type of emulsifier [8], the nature of the oil phase [30], the presence of electrolytes [32], and the agitation speed and duration during formulation [33] [17]. Consequently, the process of innovating and creating a new finished product before market introduction is protracted, complex, and costly. Extensive formulation tests are conducted not only to meet

For Peer Review

consumer preferences but also to ensure long-term efficacy alongside physical, chemical and microbiological stability and safety [34] [35] [36].

This study therefore aimed to employ an experimental approach to identify optimal connections between the ingredients and manufacturing processes of these HIPEs with the goal of finely tuning their diverse sensory, rheological, and textural attributes to align with consumer satisfaction criteria. Additionally, we aimed to evaluate how these properties change over time.

The study sought to formulate a composition with most ingredients (approximately 90%) of natural origin, with a variation between 88% and 91% of the internal phase. The manufacturing process was designed to eliminate the need for heating, thereby reducing energy consumption. To streamline this study, we established a design of experiments (DOE) to minimize the number of required tests (30 tests) and to identify the factors (ingredients and processes) influencing the sensory, rheological, and textural characteristics of HIPEs.

For Peer Review

Experimental methods

Chemicals

Formulations were prepared using common chemicals such as purified water, type 2, from Merck KGaA (Darmstadt, Germany) and glycerin (organic vegetable glycerin) from IeS Labo (Oraison, France). The tested salts in the formulas were zinc sulfate from Cooper (Melun, France) and magnesium sulfate heptahydrate from Fragron (Nazareth, Belgium). The oily polymer tested was isostearyl alcohol, butylene glycol cocoate, and

ethylcellulose (Emulfree CBG) from Gattefossé (Saint-Priest, France). The aqueous polymer tested was xanthan gum (Xanthan gum FNCSP PC from Ami Ingredients (Tauxigny-Saint-Bauld, France). The surfactants tested were Polyglyceryl-4 Diisostearate/ Polyhydroxystearate/ Sebacate, Isolan® GPS, (E1) from EVONIK personal care (Ham, France), Tri(Polyglyceryl-3 Lauryl) hydrogenated trilinoleate, Cithrol™ PGTL, (E2) from Croda France (Montigny-le-Bretonneux, France) and Isopropyl Palmitate, Polyglyceryl-3 Oleate, Coco-Caprylate/ Caprate, Sorbitan Sesquioleate, HIPEgel AQUA, (E3) from ALCHEMY ingredients (Ascot, United Kingdom). Isononyl Isononanoate, LANOL 99 from Seppic (Paris, France), Ethylhexyl Palmitate, TEGOSOFT® OP from Evonik personal care (Ham, France), and Isopropyl Myristate from Interchimie (Compans, France) were used as an external phase.

Formulation procedure

For this DOE 30 formulas were produced with the same rigor. The percentage of external (oily) phase varied between 10% and 12% and the internal (aqueous) phase between 88% and 90%. All the formulas were produced cold, without heating and with a controlled incorporation rate. The ingredients and percentages used in the DOE are shown in Table I and all formula information is shown in Table III. The following protocol was set up for the realization of this DOE.

The formulation of highly concentrated emulsion was composed of 4 steps:

(i) weighing and preparation of the water phase,

(ii) weighing and preparation of the oil phase,

(iii) emulsifying the two phases, and

For Peer Review

(iv) conditioning the formula.

i) The aqueous phase (water and salt) was weighed in a beaker and stirred at 200 rpm with a Heidolph RZR 2021 mixer (Schwalbach, Germany). The xanthan gum and glycerin were then incorporated at a speed of 600 rpm and stirring was maintained for 1h until a transparent and homogeneous gel was obtained at room temperature.

ii) The oil phase (oil, surfactant, and oily polymer) was weighed into another beaker and stirred with a stirring (fine-bladed profiled propeller or flat turbine with toothed disk) VMI-Rayneri Turbotest V2004 (Montaigu, France) at high speed between 600-1200 rpm and at room temperature.

iii) The aqueous phase was then added to the oil phase using a Gilson MINIPULS 3 M312 Peristaltic pump (Villiers, France) at a flow rate between 11g/min and 35g/min, under constant agitation VMI-Rayneri Turbotest V2004 (Montaigu, France) at a speed between 600 and 1200 rpm and at room temperature.

iv) Finally, the highly concentrated emulsion preparations were packaged in two hermetically sealed and alcoholized bottles. The first bottle of 150ml was kept in the dark at room temperature and the second of 50ml was kept in the oven at 40°C.

Table I Ingredients used in the formulation (see text for preparation). A: aqueous phase components; B: oil phase components (%,(w/w)).

For Peer Review

Phase	Ingredients/INCI	Supplier	Function	% (w/w)
A(water phase)	Water	-	Solvent	81 - 87
	Zinc sulfate or Magnesium sulfate heptahydrate	COOPER or FRAGRON	Stabilizing agent	1 - 3
	Xanthan gum	Ami-Ingredients	Water polymer	0 – 2
	Glycerin	IeS LABO	Humectant	2
B(oil phase)	Isostearyl alcohol, butylene glycol cocoate, and ethylcellulose	Gattefossé	Oil polymer	0 – 2
	Isononyl Isononanoate or Ethylhexyl Palmitate or Isopropyl Myristate	SEPPIC or EVONIK or INTERCHIMIE	Emollient	8
	Polyglyceryl-4 Diisostearate/ Polyhydroxystearate/ Sebacate or Tri (Polyglyceryl-3 Lauryl) hydrogenated trilinoleate or Isopropyl Palmitate, Polyglyceryl-3 Oleate, Coco-Caprylate/ Caprate, Sorbitan Sesquioleate	EVONIK or CRODA or ALCHEMY	Emulsifier	2
			TOTAL	100

eview

Stability test

One sample was placed at room temperature in the dark for 3 months. The other sample was placed in a Memmert oven (Schwalbach, Germany) at 40°C and 75% humidity for 3 months.

Organoleptic analysis

Any visually detectable physicochemical changes during this process were noted. These included chemical changes such as a loss of or change in color or fragrance, and

crystallization, etc.; and physical changes such as separation, sedimentation, aggregation, solidification, softening, cracking, etc (Mitsui, 1997). These organoleptic characteristics at 25°C and 40°C were checked at 24 hours, 1 month, and 3 months.

Optical microscopic analysis

The micrographs of HIPEs w/o were captured on a Nikon Eclipse E600 optical microscope fitted with a digital camera Nikon DS Fi3. The HiPEs samples were directly deposited on the glass slide with oil and observed at 100x resolution. For the characterization of the emulsions, homogeneity and droplet size of all 30 formulas were determined with the software at 24 hours and 25°C.

Rheological measurements

Rheological tests were performed with the Advanced rheometer AR 1000, a stress control rheometer from TA Instruments (Guyancourt, France).

Stainless steel sandblasted parallel plates of 40 mm in diameter with spacing of 1mm were used for measurements at 25°C. The following tests were performed:

(i) Stress sweep: HIPEs were subjected to an increasing stress (τ) from 0.1 to 100 Pa at a fixed frequency of 10 Hz. The amplitude sweep test provided data on the variation of the storage and loss moduli (G' and G'') and allowed the determination of a linear viscoelastic (LVE) region.

(ii) Frequency sweep: HIPEs were tested at frequency variation from 1 to 100 Hz with a stress (τ) of 1.0 Pa. This test shows elasticity at different frequencies, yielding the tangent delta δ. In parallel, the dynamic behavior between elastic modulus and viscous modulus

For Peer Review

is represented by the complex viscosity ($|\eta^*|$), the magnitude of which is given by Macosko [37] as shown below:

$$|\eta^*| = (\eta'^2) + (\eta''^2)^{1/2} = \left[\left(\frac{G''}{w}\right)^2 + \left(\frac{G'}{w}\right)^2\right]^{\frac{1}{2}} = \frac{1}{w}|G^*|$$

iii) Flow: HIPEs were subjected to varying shear rate from 0 to 100 s^{-1} to obtain flow curves in three sequential flow steps in a continuous ramp.

- Step 1: Shear rate ($\dot{\gamma}$) 0 to 100 s^{-1}; time: 2min
- Step 2: Peak Hold ($\dot{\gamma}$) 100 s^{-1}; time: 1min
- Step 3: Shear rate ($\dot{\gamma}$) 100 s^{-1} to 0; time: 2min

By increasing and decreasing shear ramps, this test thus allowed the characterization of rheological behavior and revealed the presence of any thixotropic behavior.

All measurements were carried out in triplicate, 24 hours after formulation.

Texture characteristics

In order to characterize the mechanical properties of the HIPEs, texture profile analysis (TPA) was performed using the texture analyzer Shimadzu EZ-SX (Noisiel, France) and Trapezium X software (version 349-02788, March 2007). The effect of compression was studied with a cylindrical press (25 mm diameter, stainless steel).

The press penetrated the sample to a depth of 5 mm at a speed of 10 mm/s, followed by a rise to 10 mm with a brief pause of 10 seconds. Subsequently, before descending another 20 mm (reaching a depth of 15 mm), the press was elevated to a height of 20 mm. The force exerted on the probe was automatically recorded.

For Peer Review

This test provided information on the physical properties associated with stress, allowing the analysis of five parameters: firmness, adhesion, cohesion, stickiness, and elasticity. The stress subjected corresponded to that which would be applied upon picking up the sample (sensory properties when removed from its container) or applying it to the skin. Tests were carried out 24 hours after formulation at 25°C.

Experimental Design

In order to optimize the type and concentration of each ingredient in a formula, as well as the process parameters, the usual strategy is to vary each parameter independently, which is time-consuming and tedious. With DOE, as long as the problem and the protocol are well defined from the outset, it is possible to reduce the number of trials in order to obtain optimum results. DOE is a group of statistical methods that provide specific information for the selection and order of experiments [37] [38]. It is used to identify the quantitative influence of chosen parameters (factors), by investigating the results of a limited number of experimental combinations. In this case, the main objective is to screen out the important factors amongst all considered potentially important ones (screening strategies) and the number of treatments suggested by factorial designs usually surpasses the available resources. Screening studies are carried out in an attempt to provide the experimenter with the most efficient tools in a particular situation, and the design is defined using Azurad software [39]. The present study focused on optimizing the stability of HIPEs, by examining their rheological properties and texture profile alongside the analysis of their main components.

The objective of this research was firstly to carry out preliminary tests to select the ingredients and processes most favorable to stability, then study the variables that

For Peer Review

influence the different textures. Based on the results from this study, the next step will be to set up a second set of associated experimental plans to identify optimal stable formulas with different chosen textures.

For the present study, the nature and percentages of all ingredients were varied, as were the type of process, stirrer, and incorporation. The formulas were analyzed by organoleptic tests at room temperature and 40°C for 3 months. Responses correspond to the number of days the formulas remained stable over time. The longer they remained physically unchanged, the more stable they were considered likely to be.

Factors and experimental domain of interest

This study considered both the ingredients and the various procedures. The factors and domain of interest can be described as follows in Table II.

- The influence of 9 variables on the formulation of stable highly concentrated emulsions was studied: 7 variables with 3 levels and 2 variables with 2 levels.
- Of the 9 variables, 6 (X1, X2, X3, X4, X5, and X7) were ingredients and 3 (X7, X8, and X9) were process-related.

Table II Factors and domain of interest for the study. *Samples composition (%, (w/w)).

Variables	Level 1	Level 2	Level 3
X1 Oil nature	Isononyl Isononanoate	Ethylhexyl Palmitate	Isopropyl Myristate
X2 Emulsifier nature	E1	E2	E3
X3 Oily polymer(OP CBG) %	0%	1%	2%

For Peer Review

X4 Aqueous polymer %	0%	1%	2%
X5 Salt nature	Zinc sulfate	Magnesium sulfate	-
X6 Salt %	1%	2%	3%
X7 Type of stirrer	Propeller	Toothed disk	-
X8 Speed of rotation	600 rpm	800 rpm	1200 rpm
X9 Flow rate	11 g/min	17 g/min	34g/min

Mathematical modeling

As previously proposed in a screening study [40], an additive effect of factors was hypothesized thus implying a negligible effect of any interaction. The mixed-level factors studied in this study were postulated to give results as a linear combination of variable-coded effects X_{1A}, X_{1B},..., X_{9B}. The reduced reference state model used for 2 factors with 2 levels (factors X_5 and X_7) and 7 factors with 3 levels is expressed as follows:

$\eta = \beta_0 + \beta_{1A}X_{1A} + \beta_{1B}X_{1B} + \beta_{2A}X_{2A} + \beta_{2B}X_{2B} + \beta_{3A}X_{3A} + \beta_{3B}X_{3B} + \beta_{4A}X_{4A} + \beta_{4B}X_{4B} + \beta_{5A}X_{5A} + \beta_{6A}X_{6A} + \beta_{6B}X_{6B} + \beta_{7A}X_{7A} + \beta_{8A}X_{8A} + \beta_{8B}X_{8B} + \beta_{9A}X_{9A} + \beta_{9B}X_{9B}$ (Fig 1).

With $X_i = 0$ or 1 (absence or presence of variables) as a function of the level present for the 9 factors; β_5A and β_7A representing the value of the factor differential effect, i.e. the variation of the response when the factor changes from level 2 taken as reference to level 1; β_1A and β_iA and β_iB with i=1, 2, 3, 4, 6, 8, and 9 representing the variation of the response when the factor changes from level 3 taken as reference to level 1 and 2 respectively.

For Peer Review

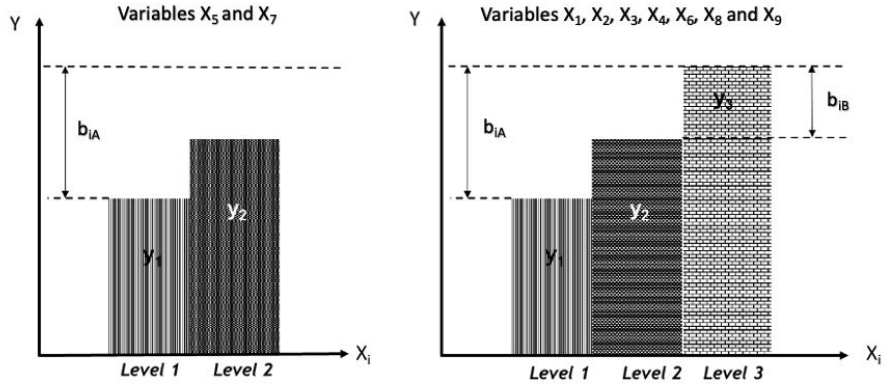


Figure 1 Mixed-level factors.

Construction of the experimental design

The model had 14 coefficients, and an asymmetric design $2^2 3^7$ with 27 experiments was built from the optimal symmetric design $3^{13}//27$ using Addelman's correspondence method [41], as displayed in Table III.

Principal Component Analysis (PCA)

Principal component analysis (PCA) is a method used to simplify large datasets. It takes complex information and reduces it into simpler elements that help us understand trends and relationships within the data. By simplifying the identification of important information and rendering data easier to manipulate and visualize, PCA has become a valuable tool for individuals dealing with large quantities of data [42] . In the present study, PCA was performed using the XLSTAT software by Lumivero. Considering the significant amounts of data to be collected from conducting experiments with our 30 formulations, PCA was used to reduce the complexity and identify trends and similarities between the formulations. This analysis considered data from texture tests, such as

firmness, adhesion, stickiness, elasticity, and cohesion as well as rheological data, including thixotropy.

Table III The 30 formulas (27 + 3 repetitions) with their compositions (%, (w/w)), variables and responses. The formulas 1.2, 1.3 and 1.4 are repetitions of the formula1.1. The abbreviations EHP, IM and II refer to ethylhexyl palmitate, isononyl isononanoate and isopropyl myristate. The colors purple, green and yellow correspond to groups A, B and C, as classified using the principal component analysis (PCA).

Variables										Responses						
			Ingredients					Process		Stability		Texture				
Exp. n°	x1 Oil nature	x2 Emulsifier nature	x3 Oily polymer (%)	x4 Aqueous polymer (%)	x5 Salt nature	x6 Salt (%)	x7 Type of stirrer	x8 Speed of rotation (rpm)	x9 Flow rate (g/min)	Room temperature (days stables)	40°C (days stables)	Firmness (gf)	Adhesiveness (gf)	Cohesiveness (gf)	Elasticity (gf)	Sticky (gf)
1.1	EHP	E1	0	0	$ZnSO_4$	1	Propeller	600	34	90	90	76,015	-51,437	1,045	1,387	79,469
1.2	*EHP*	*E1*	*0*	*0*	*$ZnSO_4$*	*1*	*Propeller*	*600*	*34*	*90*	*90*	*80,0025*	*-55,051*	*1,02178*	*1,36764*	*81,7451*
1.3	*EHP*	*E1*	*0*	*0*	*$ZnSO_4$*	*1*	*Propeller*	*600*	*34*	*90*	*90*	*61,2912*	*-38,292*	*0,9897*	*1,34281*	*60,6597*
1.4	*EHP*	*E1*	*0*	*0*	*$ZnSO_4$*	*1*	*Propeller*	*600*	*34*	*90*	*90*	*76,3103*	*-51,648*	*1,02441*	*1,38363*	*78,1726*
2	EHP	E1	0	1	$ZnSO_4$	2	Toothed disk	800	17	90	90	190,290	-146,980	1,012	1,384	192,495
3	EHP	E1	0	2	$ZnSO_4$	3	Propeller	1200	11	90	90	192,239	-148,48	0,94057	1,40629	180,814
4	IM	E2	1	0	$ZnSO_4$	1	Toothed disk	600	17	90	90	70,960	-45,270	0,981	1,393	69,585
5	IM	E2	1	1	$ZnSO_4$	2	Propeller	800	11	90	90	81,5325	-54,635	1,02531	1,41434	83,5961
6	IM	E2	1	2	$ZnSO_4$	3	Propeller	1200	34	90	90	51,8549	-30,246	0,94574	1,33943	49,0412
7	II	E3	2	0	$ZnSO_4$	1	Propeller	600	11	90	0	34,8366	-16,767	0,83413	1,11279	29,0581
8	II	E3	2	1	$ZnSO_4$	2	Propeller	800	34	90	90	34,668	-16,414	0,87069	1,17618	30,185
9	II	E3	2	2	$ZnSO_4$	3	Toothed disk	1200	17	90	90	33,0278	-14,531	0,83111	1,12655	27,4495
10	EHP	E2	2	0	$MgSO_4$	2	Toothed disk	1200	34	90	90	184,268	-139,92	1,00165	1,42522	184,571
11	EHP	E2	2	1	$MgSO_4$	3	Propeller	600	17	90	90	77,1207	-50,722	1,01295	1,40818	78,1194
12	EHP	E2	2	2	$MgSO_4$	1	Propeller	800	11	90	90	78,1758	-52,328	1,01595	1,42195	79,4229
13	IM	E3	0	0	$MgSO_4$	2	Propeller	1200	17	30	0	98,7162	-68,563	1,06684	1,4092	105,314
14	IM	E3	0	1	$MgSO_4$	3	Propeller	600	11	2	0	35,7094	-16,241	0,88688	1,20003	31,6699
15	IM	E3	0	2	$MgSO_4$	1	Toothed disk	800	34	2	0	30,5706	-13,397	0,83798	1,12671	25,6174
16	II	E1	1	0	$MgSO_4$	2	Propeller	1200	11	90	90	241,015	-193,93	0,81135	1,35726	195,547
17	II	E1	1	1	$MgSO_4$	3	Toothed disk	600	34	90	90	44,704	-24,67	0,96243	1,28542	43,0246
18	II	E1	1	2	$MgSO_4$	1	Propeller	800	17	90	90	48,0696	-27,671	0,92641	1,25888	44,5319
19	EHP	E3	1	0	$ZnSO_4$	3	Propeller	800	34	30	0	48,9983	-26,699	0,93981	1,2711	46,0489
20	EHP	E3	1	1	$ZnSO_4$	1	Propeller	1200	17	30	30	49,3151	-26,897	0,92927	1,21503	45,8273
21	EHP	E3	1	2	$ZnSO_4$	2	Toothed disk	600	11	60	30	35,9274	-16,704	0,8435	1,19358	30,3047
22	IM	E1	2	0	$ZnSO_4$	3	Propeller	800	17	90	90	114,072	-85,095	0,98396	1,40341	112,242
23	IM	E1	2	1	$ZnSO_4$	1	Toothed disk	1200	11	90	90	166,348	-125,74	1,01667	1,41129	169,121
24	IM	E1	2	2	$ZnSO_4$	2	Propeller	600	34	90	90	28,3453	-12,367	0,8078	1,03699	22,8975
25	II	E2	0	0	$ZnSO_4$	3	Toothed disk	800	11	90	90	117,765	-84,775	1,03755	1,41012	122,186
26	II	E2	0	1	$ZnSO_4$	1	Propeller	1200	34	90	90	146,645	-107,82	1,03046	1,41439	151,112
27	II	E2	0	2	$ZnSO_4$	2	Propeller	600	17	90	90	26,7472	-11,369	0,78405	1,00615	20,9711

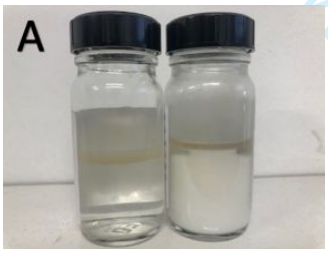
Results and discussion

The PCA analysis (presented below), enabled the classification of our 30 formulations into three equal groups containing approximately ten formulations. After analyzing all

formulations, we chose to focus on those located at the extremes of each group for their capacity to highlight more distinctly the specific characteristics of each group. Thus, we concentrated on formulations 27 for Group A (in purple), 5 for Group B (in green), and 16 for Group C (in yellow).

Analysis of Organoleptic Stability

Organoleptic analysis on the 30 formulas for 90 days at room temperature revealed an instability of 2 formulas (14 and 15) by 1 week, and the stability of 3 formulas (13, 19 and 20) up to 30 days, 1 formula (21) up to 60 days and all other formulations remaining stable at 90 days. The same analyses carried out at 40°C revealed the instability of 5 formulas (7, 13, 14, 15 and 19) by 1 week, the stability of 2 formulas (20 and 21) up to 30 days, and the stability of all remaining formulas at 90 days. This information is presented in Table IV. These results were used as a response to the following experimental design. Examples of the unstable (A) and stable (B) formulas are shown in Fig. 2. Noteworthy is that out of the 7 unstable formulations, 6 were classified as group A, and the remaining 1 as group C.



For Peer Review



Figure 2 Examples of the unstable (A) and stable (B) formulas.

Optical microscopic analysis

Microscopic analysis revealed differences in the droplet size and distribution between the three groups as shown in Fig. 4. The majority of formulas in group A showed a heterogeneous distribution of droplets measuring between 3.5µm and 12µm in size. This would explain the finding of 6 out of the 7 unstable formulas belonging to this group. On the other hand, in this same group, two formulas (17 and 18) showed a rather homogeneous distribution of droplets measuring 3.5µm. In comparison to group A, we observed a more homogeneous distribution in group B with droplets of smaller size varying between 2.5 µm and 5 µm. All formulas in group C showed a very homogeneous distribution of droplets of small size measuring between 1.5µm and 2.5µm (Fig. 3). Highly concentrated emulsions are known to have a polyhedral format [43]. The observed variations in droplet size could be explained by several factors including mixing time, volume of dispersed phase, type of emulsifier among others [31]. In addition to these factors, others have been found to significantly influence droplet size and polydispersity in such formulations, including mixing speed, the percentage of aqueous polymer, and incorporation rate.

Formulas within a particular group appeared to share common traits or characteristics which could explain the differences in droplet size and distribution between groups.

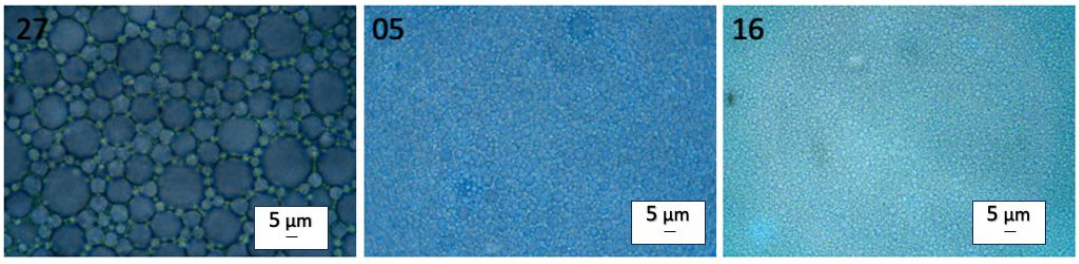
For Peer Review

Concerning group A, characterized by relatively large droplets (3.5µm to 12µm), the characteristics found in most formulas belonging to the group included: the presence of emulsifier 3, the incorporation of a 2% aqueous polymer, a mixing speed of 600rpm, and a flow rate between 17g/min and 34g/min, as exemplified in Fig. 3 with formula 27.

Most formulas in group B, distinguished by smaller and more uniform droplets (of between 2.5µm and 5µm), shared the following traits: the presence of emulsifiers 1 or 2, the absence of aqueous polymer, and mixing speeds ranging from 800rpm to 1200rpm, as demonstrated in Fig. 3 with formula 5.

Formulas in group C, exhibiting the smallest and most uniform droplets (between 1.5µm and 2.5µm), shared a common pattern including the presence of emulsifiers 1 or 2, the absence of aqueous polymer, high mixing speeds at 1200 rpm, and low flow rates at 11g/min, as depicted in Fig. 3 with formula 16.

Noteworthy is the finding that highly concentrated emulsions with a classic structure tended to resemble formula 27 in terms of polydispersity and droplet size. However, by modifying the ingredients and processes, a more homogeneous emulsion with smaller droplets, akin to formula 16, could be achieved. Emulsions composed of smaller droplets typically exhibited greater viscosity and elasticity and could store more interfacial energy per unit volume. To draw definitive conclusions about these properties, rheological measurements are essential.



For Peer Review

Figure 3 Optical microscopic images showing the difference in droplet size and their homogeneity in each group. Group A (formula 27), group B (formula 05) and group C (formula 16).

Importantly, unstable formulations with the presence of emulsifier 3, such as formula 21, exhibited fragility due to their polydispersity and the presence of water between the droplets. Despite this and as shown in Fig. 4, formula 21 remained stable for 60 days at room temperature and 30 days at 40°C.

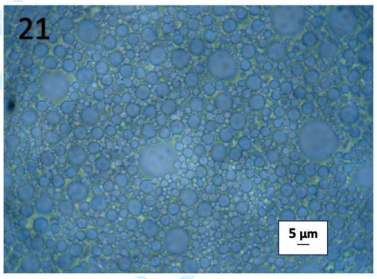


Figure 4 Formula 21, an example of a highly concentrated emulsion (HIPE) in the presence of emulsifier 3, was unstable.

For Peer Review

Rheological measurement

For the rheological analysis, we examined three formulations from the same group (two at the extremes and one in the middle), as shown in PCA Fig. 5. The goal was to observe variations in behavior within the same group and select one formulation from each group that best represents it. As shown in Fig. 5, three selected formulations from each group showed variations in behavior during the amplitude sweep testing. The formulations found to highlight the specific characteristics of each group most clearly were 27, 5 and 16, as demonstrated in Fig. 5 during the amplitude sweep testing.

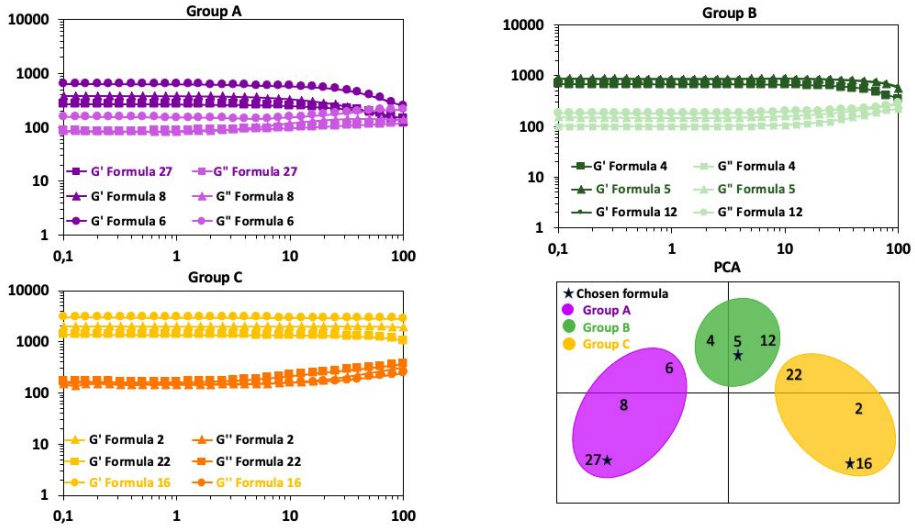


Figure 5 The amplitude sweep test was conducted on three formulations from each group (the two extremes and one in the middle) in accordance with principal component analysis (PCA). Formulations 27, 8 and 6 from Group A are represented in purple, 4, 5 and 12 from Group B in green, and 22, 2 and 16 from Group C in yellow.

Oscillatory tests: amplitude sweep testing.

Amplitude sweep is a back-forth oscillation test performed to investigate the mechanical behavior under stress. All tests were performed in triplicate, with a constant frequency at 10Hz and a shear stress variation from 0.1 to 100Pa.

The results of the tests performed on the HIPE w/o samples show that, in general, the three groups (A, B and C) presented similar behavior with different elastic profiles.

All showed viscoelastic solid-like behavior and shear-thinning, with larger storage modulus compared to the loss modulus. In addition, they also showed large regions linear viscoelastic (LVE) behavior, often without any cross-over between the elastic and viscous modulus, G'=G". According to standard test method [44] [45], we selected a tolerance range of 10% for the deviation G' around the plateau value of the linear behavior.

For Peer Review

A very large elastic modulus is characterized by an ability to preserve structure or stabilize dispersed particles, and thus to conserve and restore energy after stress.

A large linear viscoelastic region (LVER) is also formed by a coherent three-dimensional network, within which molecular settings constantly search equilibrium [31].

Group A was characterized by a lower modulus of elasticity (G') compared to groups B and C, and demonstrated less elastic characteristics than B and C. While this group of HIPE samples exhibited typical LVE behavior at low to medium strain values, a point of equality and crossover was reached at high strain values (non-linear regimes). This crossover point (G'=G") was directly linked to a small LVER between 6.31-15.79Pa, indicating structural weakening or rupture in the emulsions (brittle material) and a transition from elastic (solid) to plastic regime (fluid) [46].

This reduced elasticity, characterized by an ease of structural modification and difficulty preserving structure, was found in unstable formulations. The consequences of these rheological characteristics are more liquid formulas.

No such crossover point was revealed for Group B formulations, which displayed a large linear viscoelastic region (LVER) between 25.12Pa and 56.61Pa, preserved elasticity, and a significant difference between elastic modulus (G') and viscous modulus (G"). Formulations in group B showed increased stiffness and elasticity compared to those in group A. This behavior was accompanied by more stable characteristics, likely due to the well-structured, elastic network created between the particles.

Of the three groups, Group C had the largest linear viscoelasticity region (LVER) between 46.11Pa and 93.14Pa, with a very substantial difference between elastic modulus (G') and viscous modulus (G") of between 1555.3Pa and 2824.98Pa with no crossover point. These formulations were very compact and highly structured, even more so than those of Group

For Peer Review

B. Examples of each group are shown in Table IV. These results indicate that at high strain values, HIPE samples in groups B and C exhibit typical LVE behavior and that a large region LVE is an important factor favoring structural strength and shape maintenance under mechanical deformation. These results can be explained by a greater degree of connectivity between molecules and closer proximity of droplets, leading to the formation of more structured and stable emulsion systems [46], as shown in figure 6.

Unstable formulations have a very small linear viscoelastic domain and do not support the smallest deformation. They move more rapidly to a collapsed state due to the rate of physical bond breakage exceeding that of rearrangement and thus exhibit more fluid behavior. Similar behavior has been observed in other physically cross-linked gel systems [47].

For Peer

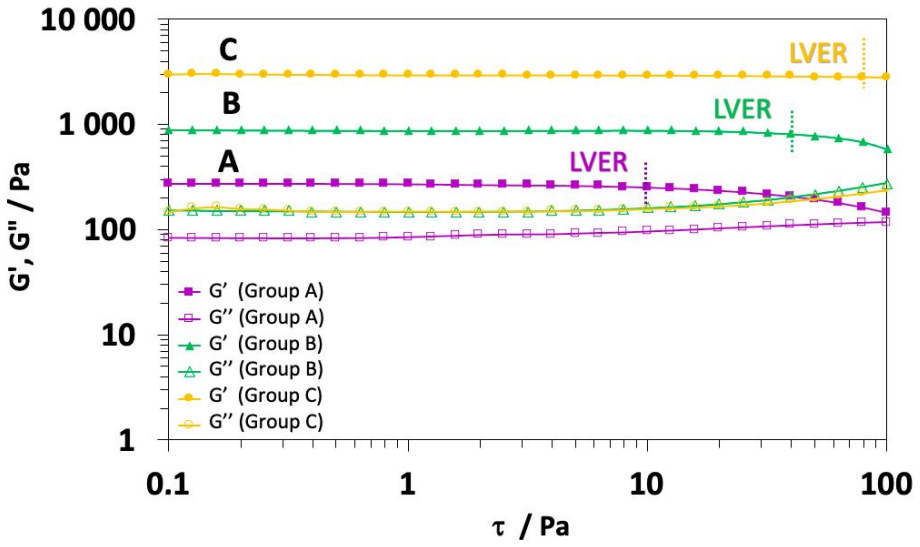


Figure 6 Amplitude sweep results in terms of the variation of storage and loss moduli (G' and G'') with shear stress (τ), performed by varying τ from 0.1 to 100Pa at a constant frequency 10Hz.

Table IV Examples of stress sweep analyses of formulas 27, 05 and 16 respectively representing groups A, B and C. The results show their linearity dominance, difference between the elastic modulus (G') and the viscous modulus (G") and the presence or not of a crossover (mean values ± SD).

Groupe	Examples formulas	LVER τ / Pa 0.1-100	G'- G'' G',G''/ Pa 0.1	Cross Over
A	**27**	13.68 ± 1.88	189.59 ± 9.73	Yes
B	**05**	44.39 ± 22.14	738.53 ± 46.32	No
C	**16**	83.37 ± 28.80	2824.98 ± 188.98	No

In summary, amplitude oscillation analysis provided insight into the amplitude range within which interactions responsible for the tested formula's solid characteristics remain intact. Consequently, a wider range indicates greater stability. Additionally, a higher elastic modulus (G') corresponds to a thicker formula. For Group C, even though the curves demonstrate a high level of stability indicating more solid characteristics, the emulsions had a more "gel-like" appearance and texture. This provided them with distinct elasticity and prevented irreversible destabilization phenomena, such as coalescence, by reducing the Brownian motion of suspended droplets and minimizing the likelihood of their contact. It is recommended to package such emulsions in pots or specialized pumps (with a larger diameter) due to their thicker consistency. Even though the formulas exhibit very high stability, unsuitable pumps could bring about premature destabilization.

Group B also exhibited a good degree of stability, making pumps a suitable choice for these products. However, Group A presented limited stability under stress. For this group, large-diameter pumps are recommended, however prior testing would be essential to ensure that no structural changes have occurred upon pumping.

Oscillatory tests: frequency sweep testing.

For Peer Review

The frequency sweep was performed by varying the frequency between 6.28 and 628 rad/s, while maintaining a stress (τ) of 1.0 Pa, within in the LVER for all three groups as determined by the stress sweep tests described above.

In general, the HIPE samples behaved in such a way that the elastic modulus (G') was always greater than the viscous modulus (G") and always remained constant at low and medium frequencies. This may suggest that droplets in this state are strongly associated with each other, resulting in virtually frequency-independent G' values.

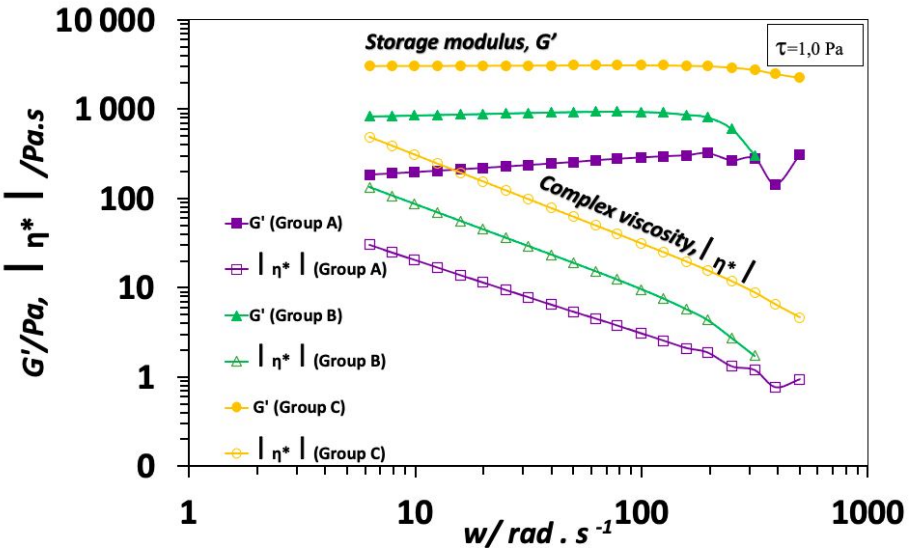


Figure 7 Result of the frequency sweep, with frequency variation between 6.28 and 628 rad/s at a constant stress (τ) of 1.0 Pa, showing the elastic modulus behavior (G') and the complex viscosity (| η* |). Formulas 27, 05 and 16 respectively represent groups A, B and C.

Group A had a lower modulus of elasticity (G') than groups B and C, as mentioned earlier in the amplitude sweep testing. Their G' varied between 184.93Pa and 475.23Pa and although the viscous modulus (G") was always smaller than the elastic modulus (G'), the

difference was never great as in group B, resulting in an "ungelled" structure. Group B formulas had a G' ranging from 430.27Pa to 832.33Pa, which was 10 times greater than the G" at 6.28 rad.s^{-1}. The result was a well-interconnected network with cohesive energy between droplets and a "gel-like" appearance. Finally, Group C included formulations with the widest range of values for the elastic modulus (G') between 747.10Pa and 3054.00Pa. They demonstrated high elasticity, even at high frequencies (628 rad/s) and displayed a large 10 to 50 fold difference in value between G' and G". The resulting superstructural samples had very high levels of stiffness.

The frequency sweep also permitted calculating the complex viscosity ($|\eta^*|$), a measure of flow resistance contained in the elastic and viscous components. As can be seen in Fig. 7, complex viscosity decreased with increasing frequency due to the increased dissipation of energy in the HIPE sample decreasing the flow resistance. The complex viscosity ($|\eta^*|$) varied between 30.20Pa.s and 76.41Pa.s for group A, between 69.34Pa.s and 133.06Pa.s for group B, and between 119.87Pa.s and 487.14Pa for group C. These results demonstrate a huge complex viscosity for group C and can be confirmed in relation to the loss factor Tg δ (G''/G'), defined as the ratio of energy released (in the liquid state) to the maximum potential energy stored (in the solid state) during cycle deformation.

Set at a frequency sweep of 6.28 rad/s, group A formulations had a Tg δ of between 0.08 and 0.24, Group B of between 0.04 and 0.16, and Group C between 0.02 and 0.14.

The Tg δ of group A tended to be higher, i.e., closer to 1, than those of groups B and C. In other words, HIPE samples in group A tended to dissipate energy and display less elastic behavior (the deformation was permanent). For HIPE samples in group C, on the other hand, the Tg δ tended to be closer to 0, with a tendency to store more energy, and display a more solid and elastic behavior (the sample tended to return to its initial state

For Peer Review

following deformation). The behavior of the 3 groups (A, B and C) is illustrated in Figure 7 and Table V.

Table V The elastic modulus (G'), viscous modulus (G''), Tg δ and complex viscosity ($|\eta^*|$) of formulas 27, 05 and 16 with a constant frequency sweep at 6.28 rad/s and 62.8 rad/s (mean values ± SD).

Groups	Example formulas	w rad.s^{-1}	G' Pa	G'' Pa	Tg δ	$\|\eta^*\|$ Pa.s
A	**27**	6.28	184.93 ± 6.47	42.34 ± 1.85	0.22	30.20 ± 1.01
		62.8	267.37 ± 6.41	88.86 ± 2.16	0.33	4.51 ± 0.09
B	**05**	6.28	832.33 ± 6.17	78.69 ± 0.79	0.09	133.06 ± 0.99
		62.8	940.70 ± 3.91	166.47 ± 3.31	0.18	15.29 ± 0.07
C	**16**	6.28	3054.00 ± 110.87	48.73 ± 0.91	0.02	486.14 ± 20.22
		62.8	3102.67 ± 119.0	150.53 ± 6.63	0.05	49.73 ± 1.91

Altogether, the data show that although the formulas of the three groups generally presented similar shapes of curves with regards to elastic modulus behavior, they presented different characteristics regarding their structure.

The frequency oscillation analysis revealed how the different HIPE samples behaved when confronted with the different frequencies that can be encountered during industrial-scale production, transport (airplanes, trucks, and ships) and the usage of a cosmetic product. Frequency sweep tests demonstrated a high level of solid structural network in Group B and C formulas, as shown by the plateau formed by the high elastic modulus (G') that lasted almost throughout the frequency variation. These data would suggest therefore that Group B and C formulas would better withstand the deformations to which the final products will be subjected once in use. As a result, they would likely be more stable over time than Group A formulas, which had a weaker structure.

For Peer Review

Flow curves

As already seen in the sweep frequency test, the three groups differed in terms of level of viscosity: group A showing the lowest, group B a medium level, and group C a very high viscosity. In addition, the flow behavior of all formulas showed a typical viscosity thinning with a flow point. We carried out a thixotropic analysis of all formulas. Thixotropy is a reversible, isothermal, time-dependent decrease in the apparent viscosity when a material is subjected to increased shear rate. It is caused by the reversible breakage of structure under flow and the build-up of structure when flow decreases or stops. [48]. For the thixotropic analysis, we performed a flow ramp test with an increasing ramp from shear rate ($\dot{\gamma}$) 0 to 100 s^{-1}, a pause at 100 s^{-1}, and a decreasing ramp from 100 to 0 s^{-1}. We then used quantitative criteria to measure the deviation between the forward and reverse curves before calculating the average of these absolute deviations. The flow curves revealed the presence or absence of a hysteresis area, enclosed by the forward and reverse curves of a hysteresis loop, indicative of the energy dissipated. Removal of the first two values allowed time for the rheometer to stabilize. Group A formulas showed a very small deviation, varying between 0.04 and 0.18, with forward and reverse curves tending to follow the same path. A resulting absence of hysteresis area indicated a non-thixotropic or simple threshold fluid behavior that depended little on the history of the flow, as shown by A in Fig 8. The formula 5 representing group B formulas showed a very clear absolute mean difference between the forward and return curves, deviating between 0.24 and 1.96, with the presence of a hysteresis area. All demonstrated thixotropic behavior, such as that represented in Fig. 8 by B, which allowed the recovery of viscosity after thinning. Finally, group C formulas showed an even larger absolute

For Peer Review

mean difference between the forward and reverse curves in comparison to group B, deviating from 2.26 to 5.86. All demonstrated thixotropic behavior, as shown on Fig. 8, letter C, and a large hysteresis area. These results are not surprising when considering that concentrated emulsions are renowned as having thixotropic properties. Interfacial layers of closely arranged droplets undergo a de-structuration upon stress-induced deformation, which is followed by their restructuration after a characteristic time upon removal of the stress; in addition, thixotropic materials exhibit a certain elasticity [36] [49].

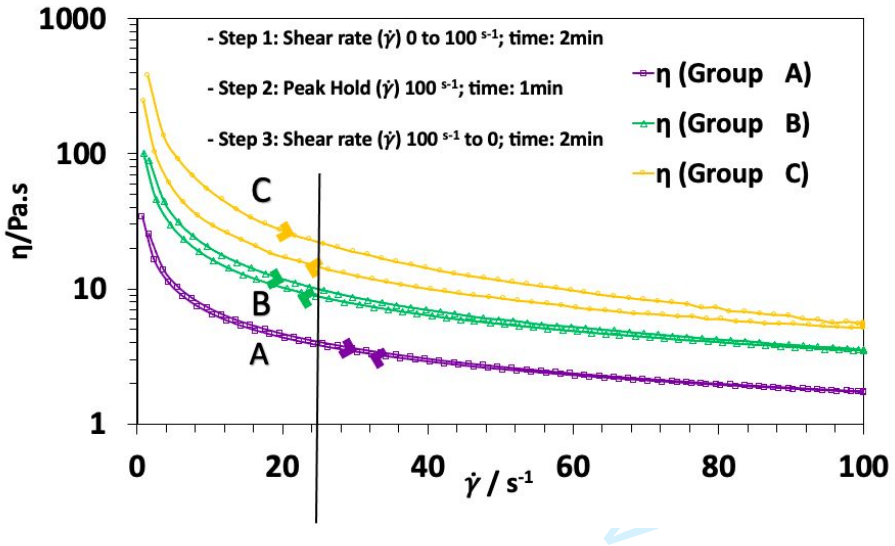


Figure 8 Three representative formulas subjected to flow ramp tests, performed with an increasing ramp from shear rate ($\dot{\gamma}$) 0 to 100 s^{-1}, a pause at 100 s^{-1}, and a decreasing ramp from 100 to 0 s^{-1}. Group A is represented by formula 27 with a deviation of 0.07, group B by formula 05 with a deviation of 0.47, and group C by formula 16 with a deviation of 4.61.

Table VI Evaluation of thixotropic behavior by measuring the average viscosity deviation between forward and reverse curves (mean values ± SD).

Groups	Representing formula	Mean absolute deviation	η forward (Pa.s) γ 25 s^{-1}	η reverse (Pa.s) γ 25 s^{-1}	η forward - η reverse (Pa.s) γ 25 s^{-1}

A	**27**	0.07	3.97 ± 0.09	3.87 ± 0.08	0.11
B	**05**	0.47	9.72 ± 0.29	8.85 ± 0.52	0.87
C	**16**	4.61	21.54 ± 1.08	14.84 ± 4.33	6.70

The juste structural restoration shown in group C is a common phenomenon in transdermal topical drug delivery systems such as emulsions or hydrogels. Pseudoplasticity and thixotropic characteristics are two important properties considered during the development of semi-solid dosage forms, and hold significance from both biopharmaceutical and technological perspectives [49]. Group B, with a small hysteresis area, can be considered less thixotropic than group C, and group A, not at all thixotropic. The presence of thixotropic behavior, as observed in Group C, brings about several noteworthy advantages. Firstly, in the filling process during which the emulsion passes through valves and is subjected to high pressure, a short recovery time is desirable to ensure that consumers receive the expected formulation. Secondly, the thixotropic nature renders possible and remarkably easy the dispensing of the cream from a pump due to its ability to recover its original consistency. In addition, thixotropic creams offer improved skin spread, providing a more pleasant application experience, a characteristic attributed to their thinning behavior under shear stress, as previously demonstrated [50] [51].

One hypothesis to explain this thixotropy may be the entanglement of HIPE particles ensuring a more solid microscopic structure on which thixotropic behavior depends[52]. The observed behavior of HIPEs resembling elastic solids, suggests that the droplets deform into a parallelepiped in the presence of stress, thus allowing the layers to slide without losing their structure and individuality. This deformation is reversible with microstructures returning to their initial state after deformation.

For Peer Review

It is important to note that while the magnitude of the hysteresis loop enables the characterization of flow behavior and interactions, the area of the hysteresis loop is not an intrinsic constant of the material but depends on experimental history (protocol) and time. Thus, relationships based on hysteresis loop area measurements are only valid for the conditions for which they are defined, and this thixotropic loop test method does not provide information on structure recovery.

Texture characteristics with PCA

Texture profile analysis (TPA) with the support of PCA allowed us to first characterize all possible types of texture, with different ingredients and procedures. This provided a range of possibilities.

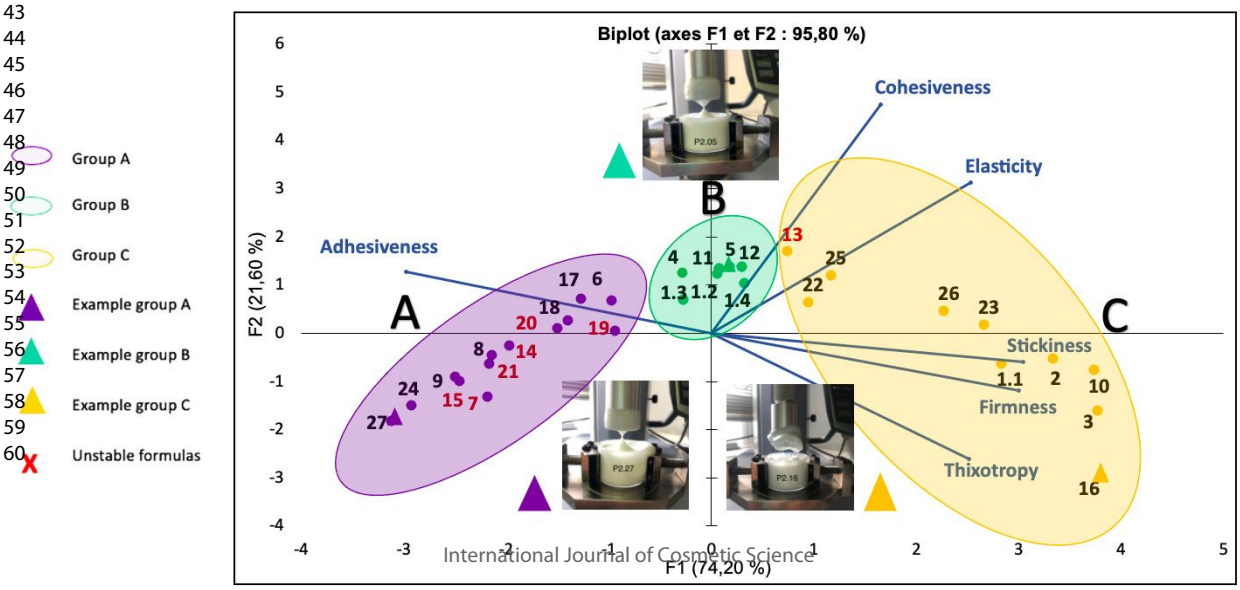
The TPA and flow data from the rheological analysis enabled us to interpret the PCA and demonstrate the positioning of each formula according to the influences of the following variables: firmness, adhesion, cohesion, elasticity, tackiness and thixotropy. For the DOE analyses, we focused on firmness, adhesion, stickiness and thixotropy, the characteristics most easily perceived in sensory properties. The firmness variable is directly linked to the stickiness variable, just as cohesion is linked to elasticity, meaning that a very firm cream will always be sticky because its parameters are linked. On the other hand, a lack of linkage between adhesion and firmness or stickiness explains the lower levels of adhesion found in firm and sticky creams. Regarding thixotropy, formulas found further to the right (3.5;-3.5) of the PCA chart presented in Fig. 9 tended to have greater thixotropy due to their ability to store the energy needed for transformation back to their initial state after

For Peer Review

suffering great stress. Such formulas are ideal for withstanding industrial processes, packaging and release.

Essentially, we observed three texture profiles. Group A formulas showed low levels of firmness, stickiness and elasticity, and high levels of cohesiveness and adhesiveness, while displaying no thixotropic behavior at all. Group B formulas were firmer, stickier and more elastic and cohesive than those in Group A, yet less adhesive. Certain formulas but not all in this group showed some level of thixotropic behavior. The creams in Group C were very firm and sticky, somewhat elastic and cohesive, and not very adhesive. A subgroup of group C showed more pronounced thixotropic behavior The PCA also found that the non-stable formulas, in red, displayed notable behavior in terms of texture profile which could be used to alert instability. Importantly, formula 1.1 in Fig.9 should not be considered as it is an input error arising from the repeating of the formula three times by the formulator.

Figure 9 The PCA chart presenting the 30 formulas categorized into three main groups in accordance with their analyzed texture profile (TPA) and rheology data. The variables examined include firmness, adhesion, stickiness, elasticity, cohesiveness, and thixotropy.



For Peer Review

Use of PCA on texture and rheological datasets provided us with a more general overview of the textural behavior of all the samples and consequently revealed groups with textural similarities and differences between them. The range of textural possibilities including firmness, elasticity, stickiness, and cohesion are clearly visible and corroborate well with the rheological and microscopic data, thus helping explain the observed textural behaviors. The input techniques thus offer highly complementary results when combined. While we did not use the PCA as an instrument to verify instability, it did offer the opportunity to visualize the textural behavior of samples tending towards instability.

The classification by PCA into groups A, B and C was made as follows. Group A displayed a light firmness and complex viscosity between 30.0 and 76.0Pa.s (10^1Pa, like melted chocolate). They were not very elastic or sticky, had an elastic modulus (G') between 184.0 and 475.0 Pa, and showed no thixotropic behavior. At the microscopic level, such formulas displayed heterogeneously distributed and larger droplets, between 3.5 and 12.0µm, hence explaining their more liquid emulsions. The group B formulas were firmer like a gel, with a complex viscosity between 69.0 and 133.0 Pa.s (10^2Pa, like fresh cream). They were very elastic with an elastic modulus (G') between 430.0 and 832.0 Pa, and highly cohesive. Microscopic analysis showed more homogeneously distributed smaller droplets between 5 and 2.5µm. They also displayed a well-marked thixotropic behavior perhaps due to their high elasticity modulus (G'). The group C formulas showed a very strong firmness, with well pronounced gel behavior and stickiness. They had a complex viscosity between 119.0 and 487.0 Pa.s (10^2Pa, like peanut butter) and were highly elastic with high elastic modulus (G') between 747.0 and 3054.0 Pa, and a large hysteresis loop. Microscopic analysis confirmed the high viscosity

For Peer Review

showing very tight and homogeneously distributed small droplets between 2.5 and 1.5µm. This concords with previous studies showing an inverse relationship between droplet size and degree of elasticity; as droplet size decreases, elasticity and stability increase [53] [54] [55]. It is important to note how the structure of HIPEs in Group C imparted remarkable rheological properties, particularly in terms of thixotropy, with excellent stability.

In conclusion, each of the emulsions comprising one group in the PCA possessed a unique but related microscopic structure, rheological profile, and texture. These observations enabled us to define three different highly concentrated emulsion profiles for each of the PCA groups. This innovative approach should undergo further investigation, especially regarding its use to enhance understanding on physicochemical and microbiological stability.

Design of experiments (DOE)

Effects plots

The coefficient values can be represented by an effect plot on which magnitudes and signs of each effect of the variables are shown. For example, oil b1/3->2 represents the response variation when the factor 1 varies from its level 3 to the level 2, as shown Fig.10. The red effects, whether positive or negative, are the statistically significant ones. In these plots, the significance of the coefficients is calculated from the variance, represented by the vertical dotted line. Any coefficient exceeding this limit is considered favorable, meaning that the corresponding variable influences the response. All coefficients not exceeding or near this limit are considered as unfavorable.

For Peer Review

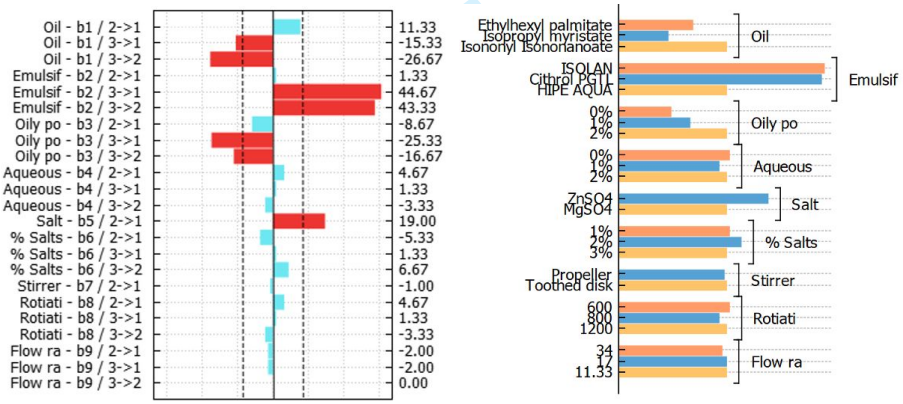
Effects plots- stability

As shown in Figure 10, concerning the analysis of stability at room temperature, the effect diagrams revealed four significant variables: the nature of the emulsifier, the nature of the oil, the percentage of oily polymer and the nature of the salt.

For the same analysis at 40°C, the effect diagrams revealed two significant variables: the nature of the oil and the nature of the emulsifier. Interestingly, the variables with the greatest influence on stability at room temperature (nature of the emulsifier and nature of the oil) were not the same as those at 40°C.

Effects plots	Levels effect

A- Room temperature



B- 40°C temperature

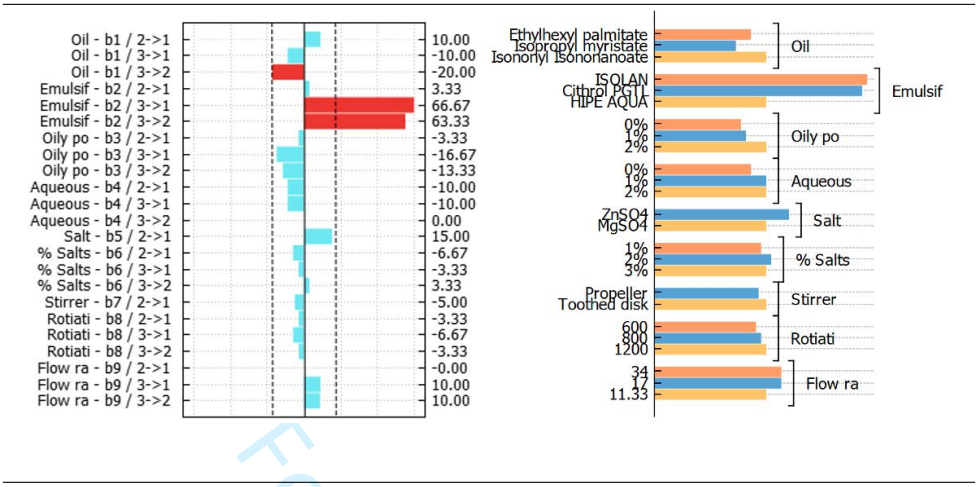


Figure 10 Effects plots (left side) and main levels effects (right side) of the analysis of stability at room temperature (A) and 40°C (B); ** bi /3->2 represents the response variation when factor i varies for example from levels 3 to 2.*

Effects plots- texture

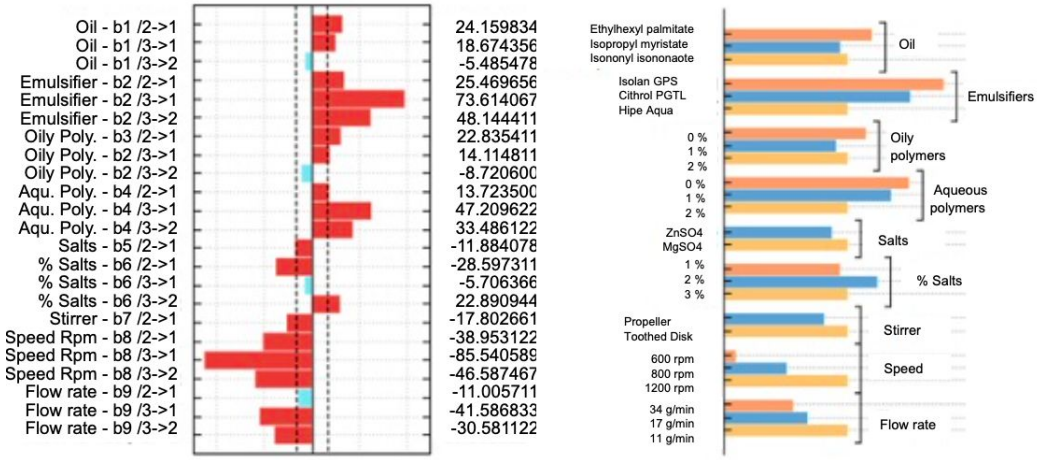
Texture profile analysis

We noticed a significant influence of almost all variables at all levels. Concerning the firmness, all the parameters were significant but especially the nature of emulsifier and the speed of rotation. Regarding adhesion, all parameters had an influence but the most influential were the speed of rotation, the nature of the emulsifier and the presence of aqueous polymer. Finally, with regards to the stickiness, most parameters were influential except the nature of the salt; the most significant parameters were the type of emulsifier and the imposed rotation speed Fig.1.

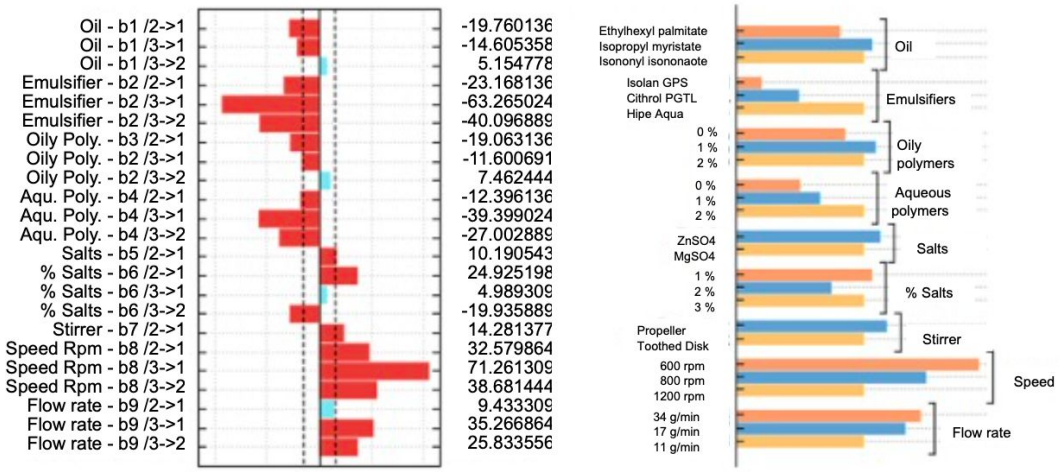
For Peer Review

Effects plots	Levels effect

C- Firmness



D- Adhesiveness



E- Stickiness

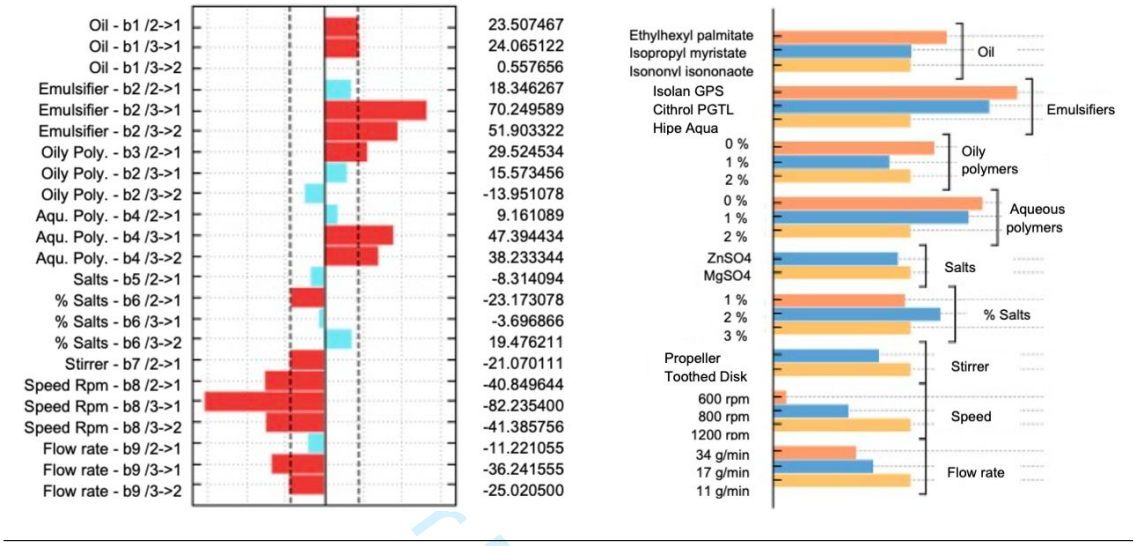


Figure 11 Effects plots and main levels effects of the analysis of firmness (A), adhesiveness (B), and stickiness (C).

Rheology

As shown in the effects plots in Fig. 12, there were three important variables influencing thixotropy: rotation speed showing the greatest impact, then emulsifier type and oil type.

Effects plots	Levels effect

For Peer Review

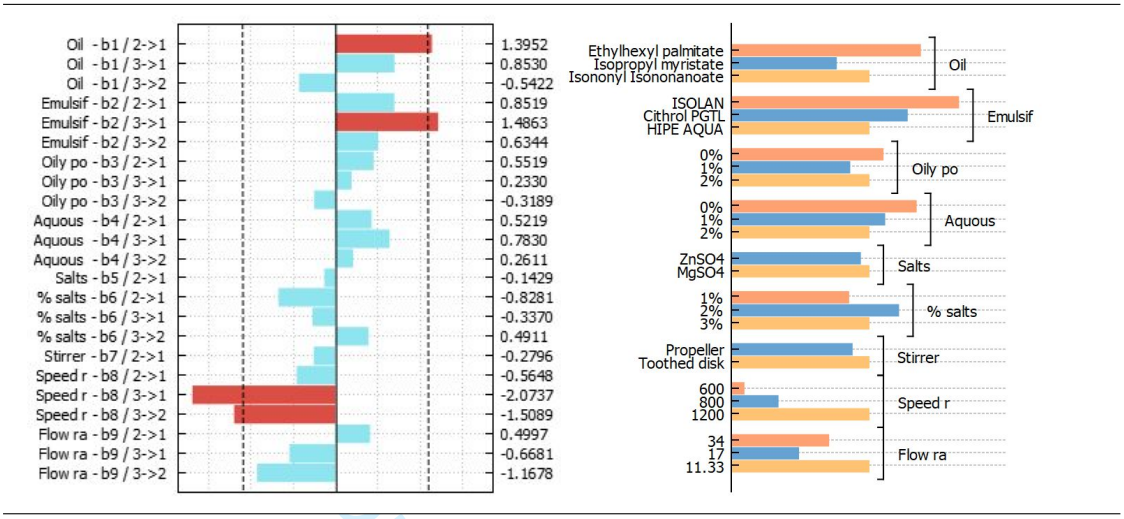


Figure 12 Effects plots and main levels effects of the thixotropic analysis

Effects of variables- stability

To choose the most favorable level of the variables, we calculated the response value for each level. On the table below, after analysis, green corresponds to the favorable responses, red to the unfavorable responses and gray to irrelevant.

We firstly studied the effects of the variables on stability at room temperature and at 40°C. Concerning the ingredients, those most favorable for stability were E1/ E2, isononyl isononanoate, 2% of oily polymer(OP CBG) and zinc sulfate. The presence of aqueous polymer and the percentage of salt on the other hand had no effect on stability. More details are presented in Table VII.

With regards to the influences of the type of procedure, it can be concluded that the type of mixer, the speed of rotation and the incorporation rate had no effect on the stability at room temperature or at 40°C. This is shown in Table VIII.

Effects of variables- texture

Concerning the effect of the ingredients on the texture, we then determined the most favorable level. Concerning firmness, the favorable parameters were ethylhexyl palmitate, E1, absence of oily and aqueous polymer and magnesium sulphate at 2%. For adhesiveness, the favorable parameters were ethylhexyl palmitate, isopropyl myristate, absence of oily polymer, aqueous polymer at 1% or it absence, and zinc sulphate at 1% or 3%. Regarding the stickiness, ethylhexyl palmitate, E1, E2, the absence of oily polymer, aqueous polymer between 0% and 1% and 2% salt were favorable. The nature of the salt was irrelevant. The ingredients showing the greatest influence on the texture were the nature of the emulsifier and of the oil. The ingredients showing an influence on thixotropy were the nature of the oil, ethylhexyl palmitate, and the emulsifier Isolan GPS. More details are presented on Table VII.

Table VII The most favorable level of the variables affecting stability and texture according to the response to the ingredients. Responses in green correspond to a favorable variable, in red a non-favorable and in grey an irrelevant variable.

		Ingredients responses					
		Stability		Texture			
Variables	Levels	Room temperature	40°C temperature	Firmness	Adhesiveness	Stickiness	Thixotropy
X1 Oil nature	1- EHP						
	2- IM						
	3- II						
X2 Emulsifier nature	1- E1						
	2- E2						
	3- E3						
X3 Oily polymer %	1- 0%						
	2- 1%						
	3- 2%						
X4 Aqueous polymer %	1- 0%						
	2- 1%						
	3- 2%						
X5 Salt nature	1- ZnSO4						
	2- MgSO4						
X6 Salt %	1- 1%						
	2- 2%						
	3- 3%						

For Peer Review

International Journal of Cosmetic Science

Concerning the effect on texture of different variable levels, we obtained the following favorable levels: for the firmness and stickiness, the toothed disk as a mixer, at a speed of 1200 rpm and a flow of incorporation 11 g/min. For the adhesion using a propeller at 600 rpm and a flow rate of 17g/min or 34g/min. For thixotropy, the most important process response was at 1200 rpm. The higher the speed, the greater the tendency to thixotropy. Further information is provided in Table VIII.

Table VIII Effects of different levels of process-related variables on stability and texture. The responses in green correspond to a favorable process, in red to a non-favorable and in grey to an irrelevant variable.

		Processes responses					
		Stability		Texture			
Variables	Levels	Room temperature	40°C temperature	Firmness	Adhesiveness	Stickiness	Thixotropy
X7 Type of stirrer	1- Propeller						
	2- Toothed disk						
X8 Speed of rotation	1- 600 rpm						
	2- 800 rpm						
	3- 1200 rpm						
X9 Flow rate	1- 11g/min						
	2- 17 g/min						
	3- 34g/min						

Use of DOE in this way could provide an important tool for the optimization of more stable HIPEs with different textures. It clearly showed which variables (ingredients and processes) were most favorable for a stable formula and/or one with a particular texture. Changes of the ingredients have a direct impact on the stability while changes in both ingredients and processes have an essential role for the texture. Concerning the stability for HIPEs, the variables most favorable in order of importance were: the nature of

emulsifier (E1and E2), the nature of oil (Isononyl Isononanoate), the nature of the polymer in 2% (OP CBG) and the nature of the salt ($ZnSO_4$).

Regarding the texture, since both the ingredients and the procedure influenced the different aspects of texture, the choice will depend on the type of texture desired.

Finally, we have shown that the DOE can provide valuable information during the creation of HIPE formulas. By allowing users to define the product characteristics according to chosen ingredients and process, DOE permits the optimization of the final formula as desired. As such, DOE offers the possibility to create a wide range of products, in a much shorter time, with improved characteristics.

Conclusion

The presented results confirm that combination of DOE with other techniques like PCA, is effective in optimizing organoleptic, microscopic, texture profile, and rheological analyses. These methods collaborate together towards improved product innovation and reformulation, by providing more precise information that helps identify optimal formulation conditions (ingredients and processes) for various water-in-oil HIPEs. The results have highlighted the key variables responsible for stability and those associated with different types of texture.

Based on this knowledge of which factors are responsible for product stability and for different textures, future studies should now focus on a smaller number of experiments with, for example, six different formulas. The aim would be to refine the data in our present study and closely check how the product performs in terms of its physicochemical characteristics and microbiological safety in different textural forms. Our goal is to create a “white formula” that can be used in the cosmetic or pharmaceutical industry.

For Peer Review

Acknowledgements

We thank Protisvalor (Marseille, France) and Capital Joëlle Ciocco Paris (Paris, France) for their generous financial support. We also extend our thanks to the companies that supplied the raw materials, including Merck KGaA (Darmstadt, Germany), IeS LABO (Oraison, France), COOPER (Melun, France), Gattefossé (Saint-Priest, France), EVONIK personal care (Ham, France), CRODA (Montigny-le-Bretonneux, France) and SEPPIC (Paris, France).

Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest related to the content of this article. None of the research was influenced by financial or personal interests, or institutional affiliations that could introduce bias. The authors also confirm that they did not receive any specific funding for this study that could have influenced their findings.

For Peer Review

References

[1] J. Lissant and K. G. Mayhan, "A study of medium and high internal phase ratio water/polymer emulsions," *Journal of Colloid and Interface Science,* vol. 42, pp. 201-208, 1973.

[2] K. J. Lissant, "The geometry of high-internal-phase-ratio emulsions.," *Journal of Colloid and Interface Science,* vol. 22, no. 5, pp. 462-468, 1966.

[3] N. R. Cameron, D. C. Sherrington and L. Albiston, "High internal phase emulsions (HIPEs) -Structure, properties, and use in polymer preparation.," *Biopolymers liquid crystalline polymers phase emulsion,,* pp. 163-214, 1996.

[4] R. Pal, " Yield stress and viscoelastic properties of high internal phase ratio emulsions.," *Colloid Polym Sci,* no. 277, p. 583–588, 1999.

[5] F. Sebba, "Biliquid foams- a preliminary report.," *Journal of Colloid and Interface Science,* vol. 40, no. 3, pp. 468-474, 1972.

[6] G. Eber, G. Platz and H. Rehage , "Elastic and rheological properties of hydrocarbon gels.," *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie,* vol. 10, no. 92, pp. 1158-1164, 1988.

[7] J. L. Robinson, R. S. Moglia, M. C. Stuebben, M. A. McEnery and H. E. Cosgriff, "Achieving Interconnected Pore Architecture in Injectable PolyHIPEs for Bone. Mary Ann Liebert, Inc. 20, 5-6. https://doi.org/10.1089," *Tissue Engineering: Part A,* vol. 20, no. 5-6, 2014.

[8] H. Kunieda, C. Solans, N. Shida and J. L. Parra, "The formation of gel-emulsions in a water/nonionic surfactant/oil systems.," *Colloids and Surfaces,* vol. 24, no. 2-3, pp. 225-237, 1987.

[9] R. Pons, J. C. Ravey, S. Sauvage, M. J. Stébé, P. Erra and C. Solans, "Structural studies on gel emulsion," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,* no. 76, pp. 171-177, 1993.

[10] Y. Q. Hu, S. W. Yin, J. H. Zhu, J. R. Qi, J. Guo and L. Y. Wu, "Fabrication and characterization of novel Pickering emulsions and Pickering high internal emulsions stabilized by gliadin colloidal particles.," *Food Hydrocolloids,* no. 61, pp. 300-310, 2016.

[11] B. Jiao, A. Shi, Q. Wang and B. P. Binks, "High-internal-phase pickering emulsions stabilized solely by peanut-protein-isolate microgel particles with multiple potential applications. 57(30), 9274–9278.," *Angewandte Chemie International,* vol. 57, no. 30, p. 9274–9278, 2018.

[12] T. Zeng, Z. L. Wu, J. Y. Zhu, S. W. Yin, C. H. Tang and L. Y. Wu, "Development of antioxidant Pickering high internal phase emulsions (HIPEs) stabilized by protein/polysaccharide hybrid particles as potential alternative for PHOs," *Food Chemistry,* no. 231, pp. 122-130, 2017.

[13] G. Hongxia, M. Li, C. Ce, L. Junping and L. Ruihong, "Review of recent advances in the preparation, properties, and applications of high internal phase emulsions.," *Trends in Food Science & Technology.,* no. 112, pp. 36-49, 2021.

[14] A. Araiza-Calahorra, M. A. Sarkar and S. Anwesha, "Recent advances in emulsion-based delivery approaches for curcumin: From encapsulation to bioaccessibility.," *Trends in Food Science & Technology,* vol. 71, p. 155–169 https://doi.org/10.1006/jcis.1993.1305, 2018.

[15] W. H. Lin, B. Yu and S. H. Jang, "Different probiotic properties for Lactobacillus fermentum strains isolated from swine and poultry.," *Anaerobe,* vol. 13, no. 3-4, pp. 107-113, 2007.

[16] J. Su, W. Wang, W. Li, L. Chen, X. Zeng and Q. Huang, "Enhancing the viability of lactobacillus plantarum as probiotics through encapsulation with high internal phase emulsions stabilized with whey protein isolate microgels," *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* vol. 66, no. 46, pp. 12335-12343, 2018.

[17] C. Ratscow, C. Meyer, C. Hagens and S. Scheede, "Emulsion à effet "Quick break"". WO Patent 2014090615, 2014.

[18] M. E. Davis, "Ordered porous materials for emerging applications," *Nature,* no. 417, pp. 813-21, 2002.

[19] V. Hobiger, M. Paljevac and P. Krajnc, "Emulsion Templated Porous Poly(thiol-enes): Influence of Photopolymerisation, Emulsion Composition, and Phase

Behaviour on the Porous Structure and Morphology.," *Polymers,* vol. 14, no. 7, p. 1338, 2022.

[20] P. Reeve and S. Amigoni, "La rhéologie. Un outil précieux pour la formulation cosmétique," *L'actualiité chimique,* no. 323-324, pp. 89-98, 2008.

[21] D. Rawat, A. F. Christo and N. S. Wilmalasena, "Feminine hygiene pas with hydrophilic topsheet having enhanced skin feel and obscuring performance". US Patent 2020253795, 2020.

[22] E. Y. David and W. D. Stuart, "Emulsion explosive composition". US Patent 4710248A, 1986.

[23] I. Masalova and A. Y. Malkin, "A new mechanism of aging of highly concentrated emulsions: Correlation between crystallization and plasticity," *Colloid Journal,* no. 69, pp. 198-202, 2007.

[24] F. Z. Zhou, T. Zeng, S. W. Yin, C. H. Tang, D. B. Yuan and X. Q. Yang, "Development of antioxidant gliadin particle stabilized Pickering high internal phase emulsions (HIPEs) as oral delivery systems and the in vitro digestion fate," *Food & Trends in Food Science & Technology,* vol. 9, no. 2, pp. 959-970, 2018.

[25] L. Ryan and A. M. Symington, "Algal-oil supplements are a viable alternative to fish-oil supplements in terms of docosahexaenoic acid (22:6n-3; DHA)," *Journal of Functional Foods,* no. 19, p. 852–858, 2015.

[26] T. Yang, J. Zheng and B. S. Zheng, "High internal phase emulsions stabilized by starch nanocrystals," *Food Hydrocolloids,* no. 82, pp. 230-238, 2018.

[27] A. Tansirikongkol, M. Visscher and J. R. Wickett, "Water-handling properties of vernix caseosa and a synthetic analogue," *International Journal Cosmetic Science,* vol. 30, no. 5, pp. 386-7, 2007.

[28] M. Visscher, S. B. Hoath, E. Conroy and R. R. Wickett, "Effect of semipermeable membranes on skin barrier repair following tape stripping.," *Archives of dermatological research,* vol. 293, pp. 491-499, 2001.

[29] H. Zhang, J. Y. Dai and P. Wong, "Moving Ahead with W/O Quick-Breaking Emulsions," EVONIK Degussa, 2008. [Online]. Available: https://www.personalcaremagazine.com/story/3562/moving-ahead-with-w-o-quick-breaking-emulsions. [Accessed août 2022].

[30] C. I. Park, C. Wan-gu and J. L. Seong, "Emulsion stability of cosmetic creams based on water-in-oil high internal phase emulsions," vol. 15, no. 3, pp. 125-130, 2003.

[31] S. Tripathi, A. Bhattacharya, R. Singh and R. F. Tabor, "Rheological Behavior of High Internal Phase Water-in-Oil Emulsions: Effects of Droplet Size, Phase Mass Fractions, Salt Concentration and Aging," *Chemical Engineering Science,* no. 174, pp. 290-301, 2017.

[32] M. P. Aronson and M. F. Petko, "Highly Concentrated Water-in-Oil Emulsions: Influence of Electrolyte on Their Properties and Stability," *Journal of Colloid and Interface Science,* vol. 159, no. 1, pp. 134-149, 1993.

[33] O. A. Solano, *Emulsions invenrses très concentrées: influence du procédé et de la formation sur leurs propriétés rhéologique,* 2018.

[34] M. Filipovic, M. Lukic, V. Djordjevic, I. Pantelic, G. Vuleta and S. Savic, "Towards satisfying performance of an O/W cosmetic emulsion: screening of reformulation factors on textural and rheological properties using general

experimental design," *International Journal of Cosmetic Science,* vol. 39, no. 5, pp. 486 -499, 2017.

[35] M. Lukic, V. Krstonosic, N. Cekic, S. Savic and I. Jaksic, "A combined approach in characterization of an effective w/o hand cream: the influence of emollient on textural, sensorial and in vivo skin performance.," *Int J Cosmet Sci.,* vol. 34, no. 2, pp. 140-9, 2012.

[36] T. Tadros, "Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions.," *Adv Colloid Interface Sci,* vol. 20, no. 108-109, pp. 227-58, 2004.

[37] J. Droesbeke, J. Fine and G. Saporta, Plans d'expériences: Applications à l'entreprise., Editions Technip, 1997.

[38] D. Montgomery, Design and Analysis of Experiments, New York: 5th, Wiley, 2001.

[39] Azurad, "Intuitive and Powerful Software for the Construction and Processing of DOE," 2019. [Online]. Available: http://www.azurad.fr/logiciel-plans-experience.php. [Accessed Mars 2023].

[40] R. Cela, M. Claeys-Bruno and R. Phan-Tan-Luu, Comprehensive Chemometrics-Screening Strategies, Elsevier, 2009.

[41] A. Sidney, "Orthogonal Main-Effect Plans for Asymmetrical Factorial Experiments," *Technometrics,* vol. 4:1, pp. 21-46, 1962.

[42] J. Shlens, "A Tutorial on Principal Component Analysis.," *Educational,* vol. 51, 2014.

[43] G. Courraza, J. Grossiord and N. Huang, Initiation à la rhéologie, Lavoisier, 2014.

[44] ASTM, *D7175 Standard Test Method for Determining the Rheological Properties of Asphalt Binder Using a Dynamic Shear Rheometer,* Normes américaines ASTM, 2015.

[45] National Lubricating Grease Institute, *DIN 51810-2 Testing of lubricants - Testing rheological properties of lubricating greases - Part 2: Determination of flow point using an oscillatory rheometer with a parallel-plate measuring system,* Deutsches Institut fur Normung E.V. (DIN), 2017.

[46] M. Anavri and H. S. Joyner, "Effect of formulation on structure-function relationships of concentrated emulsions: Rheological, tribological, and microstructural characterization," *Food Hydrocolloids,* vol. 72, pp. 11-26, 2017.

[47] K. Hyun, S. H. Kim and K. H. Ahn, "Large amplitude oscillatory shear as a way to classify the complex fluids," *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics,* vol. 107, pp. 51-65, 2002.

[48] J. Mewis, "Thixotropy—General Review.," *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics,* no. 6, pp. 1-20, 1979.

[49] M. V. Ghica, M. H. ŭ, D. Lupuleasa and C.-E. Dinu-Pîrvu, "Flow and Thixotropic Parameters for Rheological Characterization of Hydrogels," *molecules,* vol. 21, no. 786, 2016.

[50] C. Weltch, G. Rose, D. Malotky and S. Eckersley, "Rheology of high internal phase emulsion," *Langmuir,* vol. 22, no. 4, pp. 1544-1550, 2006.

[51] T. Masson, M. -D. Lacasse, G. Grest, D. Levine, J. Bibette and D. Weitz, "Osmotic pressure and viscoelastic shear moduli of concentred emulsons," *Physical Review E,* vol. 56, no. 3, p. 3150, 1997.

For Peer Review

[52] A. Ponton and G. Ovarlez, "Systèmes évolutifs," *Rhéologie,* vol. 17, pp. 8-35, 2010.

[53] A. Taha, E. Ahmed, A. Ismaiel, M. Ashokkumar, X. Xu, S. Pan and H. Hu, "Ultrasonic emulsification: An overview on the preparation of different emulsifiers-stabilized emulsions," *Trends in Food Science & Technology,* vol. 105, pp. 363-377, 2020.

[54] M. Infantes-Garcia, S. Verkempinck, J. Guevara-Zambrano, C. Andreoletti, M. Hendrickx and T. Grauwet, "Enzymatic and chemical conversions taking place during in vitro gastric lipid digestion: The effect of emulsion droplet size behavior," *Food Chemistry,* vol. 326, 2020.

[55] C. Macosko, Rheology: Principles, Measurements, and Applications, Minneapolis: VCH Publishers, 1994.

For Peer Review

2.3. Discussions et Conclusion de l'article 1

En examinant les variables influençant la stabilité à température ambiante et à 40°C, plusieurs facteurs ont été identifiés comme bénéfiques. L'utilisation de l'Isolan GPS ou du Cithrol PGTL comme émulsifiants, l'isononyl isononanoate comme huile, ainsi que l'incorporation d'un polymère huileux à une concentration de 2 % et l'ajout de sulfate de zinc comme sel ont tous démontré des effets positifs sur la stabilité. Cependant, la présence de polymère aqueux et le pourcentage de sel n'ont pas montré de corrélation significative avec la stabilité.

Dans un premier temps nous allons analyser les facteurs qui n'ont pas d'influence sur la stabilité. Commençons par la présence des **électrolytes**. Des études ont déjà démontré que, pour les émulsions eau dans huile, la présence des électrolytes permettait de stabiliser les émulsions en évitant le phénomène de mûrissement d'Ostwald (Kabalnov, Pertzov and Shchukin, 1987), car l'indice de réfraction augmente, diminuant ainsi la force d'attraction entre les gouttelettes (Park, W. Cho and Lee, 2003). Des articles ont même montré qu'une concentration en sel inférieure à 1 % permettait d'augmenter la stabilité (Kabalnov and Shchukin, 1992). Le Plan d'Expérience a permis de démontrer et de confirmer qu'il n'y a pas de différence significative entre 1 % et 3 % dans la formule, ce qui signifie que l'augmentation du pourcentage de sel ne garantit pas une stabilité accrue. Ainsi, pour une formulation stable et rentable, il est préférable de se limiter à seulement 1 % de sel permettant ainsi de conserver sa stabilité.

Concernant les **polymères hydrophiles,** ils sont utilisés pour modifier les propriétés rhéologiques en augmentant la viscosité apparente. Les résultats du Plan d'Expérience ont mis en évidence que la présence ou l'absence de ce gélifiant aqueux n'affecte pas la stabilité des formules. Ces résultats étaient initialement surprenants, car, en raison de la gélification de la phase aqueuse, on pourrait s'attendre à ce que les gouttelettes aient moins de liberté de mouvement, ce qui pourrait empêcher ou réduire le déplacement de la phase dispersée. C'est pourquoi ces polymères sont souvent utilisés dans les formulations permettant de ralentir certains phénomènes d'instabilité, comme le crémage, la sédimentation ou le déphasage.

En ce qui concerne la gomme de xanthane, nous pouvons conclure que sa présence entre 1 % et 2 %, ou son absence, n'influe pas significativement les ETCs, eau dans huile. Une raison

possible est liée à sa conformation adoptée dans le solvant, ainsi qu'à sa composition, sa taille ou même sa forme, car l'efficacité d'un polymère dépend de tous ces facteurs (BeMiller and Whistler, 1963). Même sa concentration n'a pas semblé avoir d'influence dans cette étude. Une autre possibilité est la présence des électrolytes. Dans le cas du zinc, il peut former des complexes avec certains polymères ou des interactions électrostatique, ce qui peut modifier leurs propriétés rhéologiques dans la formule que pourrait interférer les interactions nécessaires à la gélification de la gomme xanthane (Muguet, 2017), altérant ainsi sa capacité à former un gel ou à maintenir sa structure.
Une autre hypothèse pourrait être proposée, en relation avec la configuration des gouttelettes dans une émulsion très concentrée, où celles-ci pourraient s'imbriquer et seraient alors soumises à une force de compression élevée. Cette configuration limite les mouvements entre les gouttelettes, prévenant ainsi leur instabilité(Foudazi *et al.*, 2015). Par conséquent, la présence ou l'absence de la phase dispersée gélifiée n'affecte pas significativement la stabilité.

Si nous nous intéressons à l'examen des ingrédients qui impactent la stabilité des émulsions, Il est communément admis que les **émulsionnants** et les huiles jouent un rôle fondamental dans la création d'une émulsion. Ils figurent ainsi parmi les principaux facteurs liés à la stabilité, ayant une fonction de l'interconnexion entre la phase dispersée et la phase continue.

Le Plan d'Expérience a révélé une réponse défavorable pour l'émulsionnant HIPE Aqua. Bien qu'il ait été initialement envisagé comme un émulsionnant spécifique pour les ETCs, il s'est avéré peu fiable. Composé d'un mélange d'huiles et d'émulsionnants (Isopropyl Palmitate, Coco-Caprylate/Caprate, Polyglyceryl-3 Oleate et Sorbitan Sesquiloeate) visant à faciliter son utilisation, ce mélange semble ne pas favoriser la stabilité des formulations. La raison est probablement la très faible quantité d'émulsionnant, représentant environ 50% de la formule INCI. En 2021, cet ingrédient a été retiré du marché en raison de problèmes de stabilité avérés. Bien que les trois émulsionnants partagent une base de polyglycérides commune, leurs compositions spécifiques et leurs conformations diffèrent. Ils se lient et s'adaptent de manière distincte à la surface de l'huile et de l'eau, ce qui entraîne des variations dans la stabilité et la texture des formulations

Concernant la **nature des huiles**, les trois huiles (ethylhexyl palmitate, myristate d'Isopropyl et isononyl isononanoate) ne présentent pas de différences chimiques notables. Ce sont des esters peu polaires, constitués de chaînes saturées conférant ainsi une inertie

chimique. Cependant, les résultats du Plan d'Expérience ont démontré que l'huile isononyl isononanoate est plus favorable à la stabilité en comparaison des deux autres huiles. Deux hypothèses peuvent expliquer ces résultats : la longueur de la chaîne carbonée et la configuration moléculaire. En effet, la longueur de la chaîne carbonée de l'isononyl isononanoate est supérieure à celle de l'ethylhexyl palmitate et du myristate d'isopropyl. Cette caractéristique peut influencer l'interaction de l'huile avec les autres composants de la formulation, offrant ainsi une plus grande surface pour interagir avec d'autres molécules. De plus, la configuration moléculaire de l'isononyl isononanoate pourrait favoriser une meilleure intégration dans l'émulsion, permettant à l'huile de s'organiser de manière plus efficace autour des gouttelettes d'eau, ce qui contribue à la stabilité de l'émulsion.

Ces résultats renforcent l'influence de la nature des huiles sur les ETCs. Une étude menée par Solano en 2006 affirme qu'un changement de la structure moléculaire de l'huile affecte la formation des émulsions (leur stabilité), dans les mêmes conditions de procédé et avec des fractions volumiques (φv) identiques (Solano, 2018). Cependant, ces hypothèses concernant la nature des huiles nécessitent des études complémentaires pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents.

L'autre ingrédient qui est mis en évidence par le plan d'expérience est **le polymère huileux** à 2%. Contrairement au polymère hydrophile, qui n'a pas d'influence sur la stabilité des ETCs, le polymère huileux s'est révélé bénéfique à l'optimisation de la stabilité. La différence essentielle entre ces deux polymères réside au niveau de leur situation au sein de la structure. En effet, le gélifiant huileux est situé dans la phase continue entre les gouttelettes. Une raison possible concernant une meilleure stabilité, peut être expliquée par la présence d'un gélifiant dans la phase continue peut former une couche plus résistante et moins mobile, évitant ainsi les phénomènes de coalescence Une étude de Lee en 2019 cite l'utilisation d'un gélifiant huileux pour éviter l'instabilité (Lee *et al.*, 2019) (Tang *et al.*, 2022).

Pour conclure la section sur les ingrédients, nous allons à présent examiner l'impact du **sulfate de zinc** sur les ETCs. Alors que le sulfate de magnésium ($MgSO_4$) a été largement étudié dans le cadre des ETCs dans des travaux antérieurs (Aronson and Petko, 1993c) (Park, W. Cho and Lee, 2003) (Tansirikongkol, Visscher and Wickett, 2007), est un sel potentiellement intéressant. Le sulfate de magnésium est connu pour augmenter la viscosité de la phase aqueuse (Kunieda *et al.*, 1987b) et pour favoriser la stabilité des émulsions ETC (Park, W. Cho and Lee,

2003). Cependant, il existe peu d'études comparatives sur la stabilité des émulsions utilisant le sulfate de zinc par rapport au sulfate de magnésium. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre cette différence et ses implications dans la formulation des ETCs

Après avoir exploré l'impact de chaque ingrédient sur les ETCs dans le cadre de notre Plan d'Expérience, nous nous tournons maintenant vers l'influence des différentes méthodes de fabrication sur ces formulations. Les résultats obtenus ont été plutôt inattendus. En effet, aucune des variables examinées (vitesse, débit d'incorporation et type de mélangeur) n'a pas démontré avoir un effet significatif sur la stabilité des ETCs, que ce soit à température ambiante ou à 40°C. Il est cependant important de souligner que des analyses plus approfondies sur la stabilité pourraient être nécessaires pour confirmer ces conclusions. Néanmoins, d'après les données obtenues jusqu'à présent, le Plan d'Expérience n'a pas mis en évidence d'effet notable de ces facteurs (procédés de fabrication) sur les réponses observées.

Maintenant nous allons nous focaliser sur l'influence des facteurs, notamment des ingrédients, sur la **texture** des ETCs. Le Plan d'Expérience a révélé la complexité de ces textures, montrant comment les ingrédients et les procédés de fabrication peuvent influencer des caractéristiques telles que la fermeté, l'adhésion et le collant. Un deuxième Plan d'Expérience sera nécessaire pour obtenir des informations plus précises, qui seront un des sujets de l'article 2.

Cependant les propriétés thixotropes n'ont pu être observées qu'en présence de l'émulsionnant Isolan GPS, d'huile ethylhexyl palmitate et en haute vitesse 1200rpm. Nous pouvons noter que les propriétés de thixotropie dans les ETC étudiées dépendent des facteurs ingrédients et procédés de fabrication.

La thixotropie, une propriété complexe, impliquant la rhéofluidification d'un fluide sous cisaillement et décrit la réversibilité des changements de sa structure en fonction du temps. En d'autres termes, un fluide thixotrope met un certain temps à retrouver sa viscosité initiale après avoir subi un changement progressif par un cisaillement (Barnes and Walters, 1985). Ces matériaux présentent des caractéristiques spécifiques car ils peuvent se comporter comme des solides sous de faibles contraintes et comme des liquides sous des contraintes élevées. Bien que ces matériaux puissent sembler similaires à l'échelle macroscopique, leur comportement microscopique diffère considérablement. À un niveau microscopique, c'est la réorganisation des gouttelettes individuelles qui résiste au mouvement. Par exemple, dans une mousse ou une

émulsion, les bulles individuelles résistent à la déformation et à la réorganisation. Dans les gels, les chaînes de polymères ou les particules se lient pour former un réseau qui résiste à l'écoulement (Møller, Mewis and Bonn, 2006). Une étude menée par Møller a mis en évidence que l'interaction entre l'écoulement et la structure d'un fluide peut expliquer son comportement thixotrope. Du fait que ces interactions et les structures résultantes sont influencées par les ingrédients et les procédés, plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de ce phénomène. Des travaux concernant les ingrédients et la thixotropie ont permis de relier ces éléments. Les épaississants tels que les polymères gélifiants, les argiles ou les gommes ont été identifiés comme ayant le potentiel d'induire cette caractéristique de thixotropie(Benchabane, 2006).

Comme mentionné précédemment, la thixotropie est un phénomène complexe nécessitant des études plus approfondies pour une meilleure compréhension de l'impact de chaque facteur (ingrédients/procédés) sur ce phénomène. Les résultats du Plan d'Expériences ont néanmoins mis en évidence que ce n'est pas uniquement la nature d'un ingrédient, mais un ensemble de facteurs qui pourraient être responsables du comportement thixotrope de la formulation.

Ces résultats nous ont également permis de noter la relation entre les données du plan d'expérience et l'analyse en composantes principales. Les points situés plus à droite (16, 3 et 10) du graphique ACP, plus proches de l'axe du facteur thixotropie, correspondent aux formulations les plus thixotropes et sont également associés aux facteurs ayant le plus d'influence sur la thixotropie. Cela signifie qu'une vitesse de rotation de 1200 rpm, l'utilisation de l'émulsionnant 1 et la présence d'huile d'ethylhexyl palmitate sont associées à une thixotropie plus élevée. De plus, nous avons constaté que, du point de vue de la texture, les formulations thixotropes tendent à être plus fermes et à avoir une sensation plus collante au toucher. Ces observations concernant la texture et la thixotropie sont également confirmées par l'étude de Cyriac, réalisée en 2022 (Cyriac, Xin Yi and Chow, 2022).

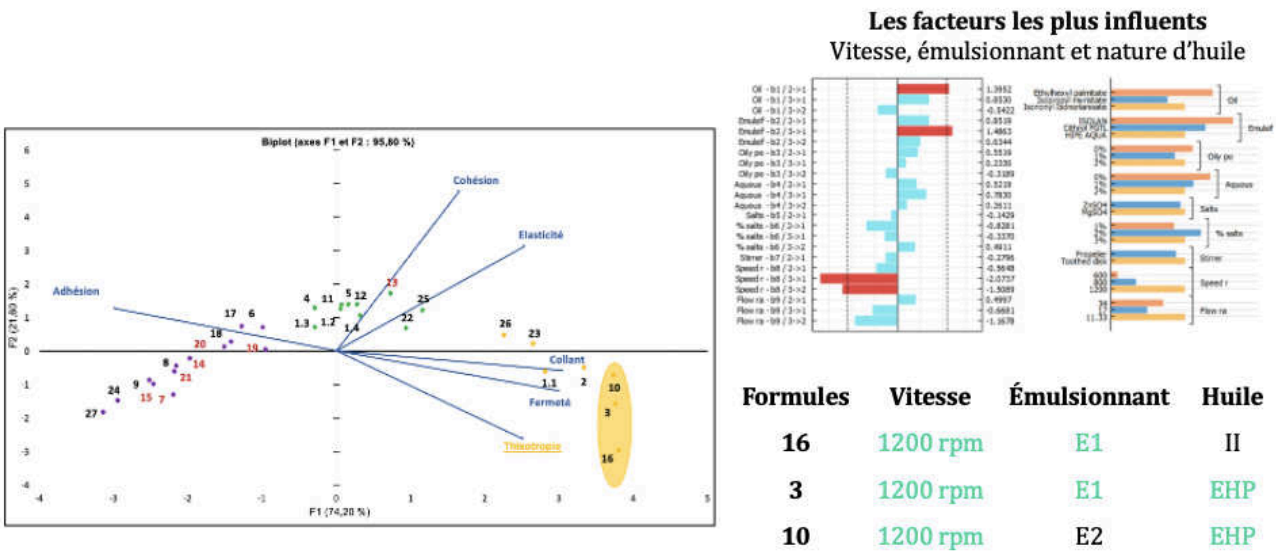


Figure 45 : *Corrélations entre la thixotropie, les facteurs d'influence et la composition des formules.*

En conclusion, les résultats présentés confirment l'optimisation des formulations d'émulsions très concentrées eau dans huile. Ils mettent en évidence les ingrédients et les procédés de fabrication nécessaires pour obtenir une formule stable, tout en offrant la possibilité d'obtenir différentes textures. De plus, cette étude a illustré l'efficacité de la combinaison du DOE avec d'autres techniques telles que la PCA pour affiner les analyses organoleptiques, microscopiques, de profil de texture et rhéologiques. En utilisant ces deux approches conjointement, il est possible de corréler plusieurs aspects de la texture et de la rhéologie. Ces méthodes convergentes contribuent à améliorer l'innovation et la reformulation des produits en fournissant des informations plus précises, ce qui permet d'identifier les conditions de formulation optimales (ingrédients et processus) pour diverses émulsions HIPE eau dans l'huile. Les résultats soulignent les variables clés responsables de la stabilité ainsi que celles liées aux différents types de textures.

En s'appuyant sur cette compréhension des facteurs influençant la stabilité du produit et les diverses textures, les futures études se concentrent sur un nombre restreint d'expériences avec six formules distinctes. L'objectif sera d'affiner les données de notre étude de stabilité et d'analyser les performances du produit en termes de caractéristiques texturales et de sécurité microbiologique. Notre objectif final est de développer un « châssis formulaire » adaptable à l'industrie cosmétique ou pharmaceutique. Cette section sera abordée dans le deuxième article, sous le sous-titre 2.3.

Après avoir optimisé les ETCs grâce à un premier Plan d'Expérience ciblant les ingrédients et les procédés les plus favorables pour obtenir des formules stables et variées en termes de texture, nous nous concentrons désormais sur l'exploration avancée de ces formules à l'aide d'un deuxième Plan d'Expérience. L'objectif de ce deuxième article est d'évaluer la stabilité des formules sélectionnées à J+1 et à J+90, en utilisant l'exploitation des analyses rhéologiques. Par la suite, nous examinerons les facteurs (ingrédients/procédés) influençant la texture de ces formules à l'aide d'un plan d'expérience. Pour conclure, nous examinerons la stabilité microbiologique en appliquant des tests de « challenge test » et analyserons l'impact des facteurs liés aux ingrédients et aux procédés sur ce test.

3. ARTICLE 2

Notre objectif principal est de développer des « châssis formulaire », ce qui signifie une formulation standard, généralement stable, de couleur neutre et sans parfum, qui peut servir de point de départ pour la création de différents produits cosmétiques. De plus, nous visons à créer des formulations sans conservateurs ou contenant le moins possible de conservateurs.

Afin d'améliorer la fluidité de la lecture dans cette section, nous avons séparé cette section en quatre parties :

- **Résumé de l'article 2 :** Cette partie comprend un résumé de l'article, comprenant une brève introduction, une présentation des méthodes utilisées et une conclusion.
- **Article 2 :** Cette partie contient l'article 2 soumis au Journal International Journal of Cosmetic Science.
- **Discussions et Conclusion de l'article 2 :** Dans cette partie, nous tirons des conclusions, tout en ouvrant la voie vers le deuxième article.

3.1. Résumé de l'article 2

Introduction :

L'objectif de cette étude est d'instaurer une nouvelle approche pour la concevoir un « châssis formulaire » de ETC, permettant la formulation de molécules biologiquement actives. Cela implique une attention particulière à la stabilité et à la création de textures distinctes, tout en observant scrupuleusement les normes microbiologiques strictes. Cette approche repose sur l'utilisation de techniques de science des données, comme le Plan d'Expérience (DOE) et l'analyse en composantes principales (ACP).

Cette étude fait référence au travaux antérieurs concernant 30 formules. L'article vise à approfondir l'étude initiale en mettant en œuvre un deuxième plan expérimental comprenant 6 formules. L'objectif est de développer des formulations ETCs eau dans huile stables, avec peu ou sans conservateurs, tout en offrant des textures variées.

Méthodes :

Les méthodes d'analyse adoptées incluent la rhéologie et la texturométrie. Ces techniques, intégrées aux approches de science des données, notamment le plan d'expérience (DOE), sont utilisées pour comprendre l'impact de divers paramètres tels que la nature des émulsifiants, la vitesse de rotation et le taux d'incorporation, sur la stabilité microbiologique et les caractéristiques texturales. De plus, l'analyse en composantes principales (ACP) est employée pour visualiser des données complexes multidimensionnelles et clarifier les corrélations entre les variables.

Concernant les analyses physico-chimiques

Les méthodes d'analyse organoleptique, rhéologiques et de texture utilisée sont identiques à celles décrites dans l'article précèdent. L'évolution de la structure des systèmes étudiés, est suivie de la fabrication à J+90, à température ambiante, pour permettre une comparaison entre les diverses différentes formules. Pour plus d'informations ces méthodes sont décrites dans l'article suivant « Optimization of highly concentrated preservative-free emulsions with various textures through design of experiments ».

Concernant les analyses de données

Afin de mieux caractériser nos systèmes nous avons choisi deux types de réponses, des descripteurs concernant la texture et une évaluation microbiologique.

- *Plan d'Expérience :* Pour la présente étude, un Plan d'Expérience de 6 formules a été réalisés avec l'objectif de conforter les résultats du premier plan du l'article 1. Les réponses retenues pour la texture sont : fermeté, adhésion, collant et thixotropie. Et les réponses pour le « challenge test » sont : *Staphylococcus aureaus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans et Aspergillus brasiliensis.*

Les facteurs et le domaine d'intérêt peuvent être décrits comme :

- L'influence de 3 variables (x1, x2 et x3) sur la formulation des HIPEs ont été étudiée : 7 variables à 2 niveaux. Le x1, relative à un ingrédient et le x2 et le x3 sont liés aux procédés de fabrication, ***Tableau 26***.

Variables	Niveau 1	Niveau 2
x1 Émmulsionnant	E1	E2
x2 Vitesse de rotation	600 rpm	1200 rpm
x3 Débit d'incorporation	11g/min	34 g/min

Tableau 26 : *Facteurs et domaine d'intérêt d'étude.*

Afin d'estimer les coefficients x1, x2 et x3, un plan expérimental avec n=6 expériences a été réalisé comme décrit dans le ***Tableau 27*** et ***Tableau 28***.

Variables				Responses			
	Ingredients	Process		TPA			Rheology
Formulas	X1 Emulsifier nature	X2 Speed of rotation (rpm)	X3 Flow rater (g/min)	Firmness (gf)	Adhesiveness (gf)	Stickiness (gf)	Thixotropy (Means absolue)
1	E2	600	34	96,00	65,16	97,21	3,0
2	E1	600	*34*	69,76	46,11	71,74	1,4
3	E2	1200	*11*	170,25	128,58	162,47	18,8
4	E1	1200	*11*	154,96	117,95	157,81	10,8
5	E1	600	11	104,15	76,13	109,15	1,9
6	E1	1200	34	160,69	121,81	163,68	2,2

Tableau 27 : *Variables et réponses de texture*

Variables				Responses					Results
Ingredients		Process		« Challenge Test » NF EN ISO 11930					Criteria A and B
Formulas	**X1 Emulsifier nature**	**X2 Speed of rotation (rpm)**	**X3 Flow rater (g/min)**	***Staphylococcus aureus log UFC/g (ml)***	***Escherichia coli log UFC/g (ml)***	***Pseudomonas aeruginosa log UFC/g (ml)***	***Candida albicans log UFC/g (ml)***	**Aspergillus brasiliensis *log UFC/g (ml)***	**Positives**
1	E2	600	34	T0= 5,25 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,31 T7= 5,56 T14= 5,6 T28= 5,32	T0= 5,39 T7= 5,55 T14= 5,57 T28= 5,52	T0= 4,72 T7= 3,96 T14= 3,45 T28= 3,44	T0= 4,19 T7= 3,17 T14= 2,41 T28= 2,35	-
2	E1	600	34	T0= 5,25 T7= 3,1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,31 T7= 2,49 T14= <1 T28= <1	T0= 5,39 T7= 5,31 T14= <1 T28= <1	T0= 4,72 T7= 3,68 T14= 2,62 T28= 1,65	T0= 4,19 T7= 3,69 T14= 3,37 T28= 2,35	B
3	E2	1200	11	T0= 5,25 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,31 T7= 4,53 T14= 4,89 T28= 4,57	T0= 5,39 T7= 5,03 T14= 4,83 T28= 4,45	T0= 4,72 T7= 3,49 T14= 2,3 T28= 1,97	T0= 4,19 T7= 3,30 T14= 2,50 T28= 2,24	-
4	E1	1200	11	T0= 5,25 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,31 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,39 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 4,72 T7= 3,26 T14= 2,52 T28= 2,06	T0= 4,19 T7= 3,14 T14= 2,47 T28= 2,16	A and B
5	E1	600	11	T0= 5,64 T7= 2,9 T14= <1 T28= <1	T0= 5,43 T7= 4,3 T14= <1 T28= <1	T0= 5,85 T7= 2,84 T14= <1 T28= <1	T0=5,88 T7= 3,73 T14= 3,16 T28= 2,50	T0= 4,00 T7= 3,1 T14= 2,54 T28= 2,31	B
6	E1	1200	34	T0= 5,36 T7= 2,65 T14= <1 T28= <1	T0= 5,44 T7= 5,33 T14= 5,21 T28= 5,44	T0= 5,57 T7= 2,2 T14= <1 T28= <1	T0=4,76 T7= 3,75 T14= 3,26 T28= 2,31	T0= 4,00 T7= 2,63 T14= 2,27 T28= 1,70	-

Tableau 28 : *Variables et réponses du « Challenge Test »*
La formule 4 démontre être positives aux critères A et B. Les formules 2 et 5, positives aux critères B.

Résultats :

En termes de stabilité physico-chimique, les résultats confirment la stabilité des six formulations de HIPE, aussi bien après la formulation (premier jour), qu'après une période de vieillissement de 90 jours, voir ***Tableau 29***. Pour plus de précisions concernant les résultats des tests rhéologiques, les résultats de tests seront développés dans l'article 2 « Optimization of highly concentrated preservative-free emulsions with various textures through design of experiments ». Le Tableau 29 illustre l'une des caractéristiques remarquables de la stabilité, comme un DVEL étendue et inchangé au cours du temps, entre le J+1 et le J+90.

Concernant l'évaluation de la stabilité microbiologique, réalisée via un « challenge test », elle met en évidence une formulation particulière répondant à la fois aux critères A et B de la pharmacopée sans l'incorporation d'aucun conservateurs listés, voir ***Tableau 28***.

En outre, nos travaux concernant la texture, permettent de prédire des profils texturaux en fonction du choix des ingrédients et des procédés de fabrication déterminés. Plus précisément, nous avons identifié la capacité d'obtenir une texture plus compacte caractérisée par un comportement thixotrope, ainsi qu'une texture plus fluide et sans propriétés thixotropes, voir ***Figure 46***.

Formulas	τ (Pa)	G' (Pa) Day 1	G' (Pa) Day 90	G" (Pa) Day1	G" (Pa) Day 90	Tg δ Day1	Tg δ Day 90	LVER (Pa) day1	LVER (Pa) day 90
1	0,1 Pa	1260 ± 29,8	1682 ± 21,0	189 ± 5,2	206 ± 13,2	0,15 ± 0,0	0,10 ± 0,0	50,8 ± 36,3	34,71 ± 40,2
	1 Pa	1234 ± 20,1	1633 ± 362,0	182 ± 2,1	217 ± 22,7	0,15 ± 0,0	0,13 ± 0,0		
	10 Pa	1226 ± 16,0	1526 ± 288,5	183 ± 2,8	319 ± 129,8	0,15 ± 0,0	0,20 ± 0,1		
2	0,1 Pa	784 ± 10,7	1071 ± 18,0	106 ± 1,6	143 ± 1,4	0,13 ± 0,0	0,13 ± 0,0	34,4 ± 4,7	64,8 ± 20,7
	1 Pa	767 ± 10,2	1054 ± 21,5	102 ± 1,4	140 ± 4,3	0,13 ± 0,0	0,13 ± 0,0		
	10 Pa	733 ± 8,8	1039 ± 3,0	104 ± 1,1	146 ± 3,6	0,14 ± 0,0	0,14 ± 0,0		
3	0,1 Pa	3271 ± 164,5	2710 ± 85,0	285 ± 28,5	268 ± 8,4	0,09 ± 0,0	0,10 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	1 Pa	3188 ± 166,3	2683 ± 101,0	275 ± 16,3	279 ± 17,9	0,09 ± 0,0	0,10 ± 0,0		
	10 Pa	3178 ± 149,7	2667 ± 82,0	277 ± 16,0	281 ± 13,9	0,09 ± 0,0	0,11 ± 0,0		
4	0,1 Pa	3340 ± 209,7	2952 ± 159,5	191 ± 14,1	250 ± 22,7	0,06 ± 0,0	0,08 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	1 Pa	3265 ± 157,6	2917 ± 182,5	191 ± 5,3	203 ± 8,6	0,06 ± 0,0	0,07 ± 0,0		
	10 Pa	3258 ± 153,2	2916 ± 174,0	195 ±5,8	205 ± 1,0	0,06 ± 0,0	0,07 ± 0,0		
5	0,1 Pa	1209 ± 21,5	1195 ± 2,5	154 ± 0,5	164 ± 2,2	0,13 ± 0,0	0,14 ± 0,0	71,3 ± 11,6	52,6 ± 18,2
	1 Pa	1177 ± 27,0	1160 ± 3,0	144 ± 4,7	157 ± 3,0	0,12 ± 0,0	0,14 ± 0,0		
	10 Pa	1183 ± 8,0	1130 ± 23,5	156 ± 1,3	160 ± 2,1	0,13 ± 0,0	0,14 ± 0,0		
6	0,1 Pa	2741 ± 349,0	2351 ± 5,5	183 ± 59,6	197 ± 1,9	0,07 ± 0,0	0,08 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	1 Pa	2719 ± 214,0	2292 ± 5,5	193 ± 18,3	188 ± 4,8	0,07 ± 0,0	0,08 ± 0,0		
	10 Pa	2703 ± 187,0	2288 ± 10,5	198 ± 15,3	193 ±2,9	0,07 ± 0,0	0,08 ± 0,0		

Tableau 29 *: Résultats balayage contrainte à J+1 et à J+90.*

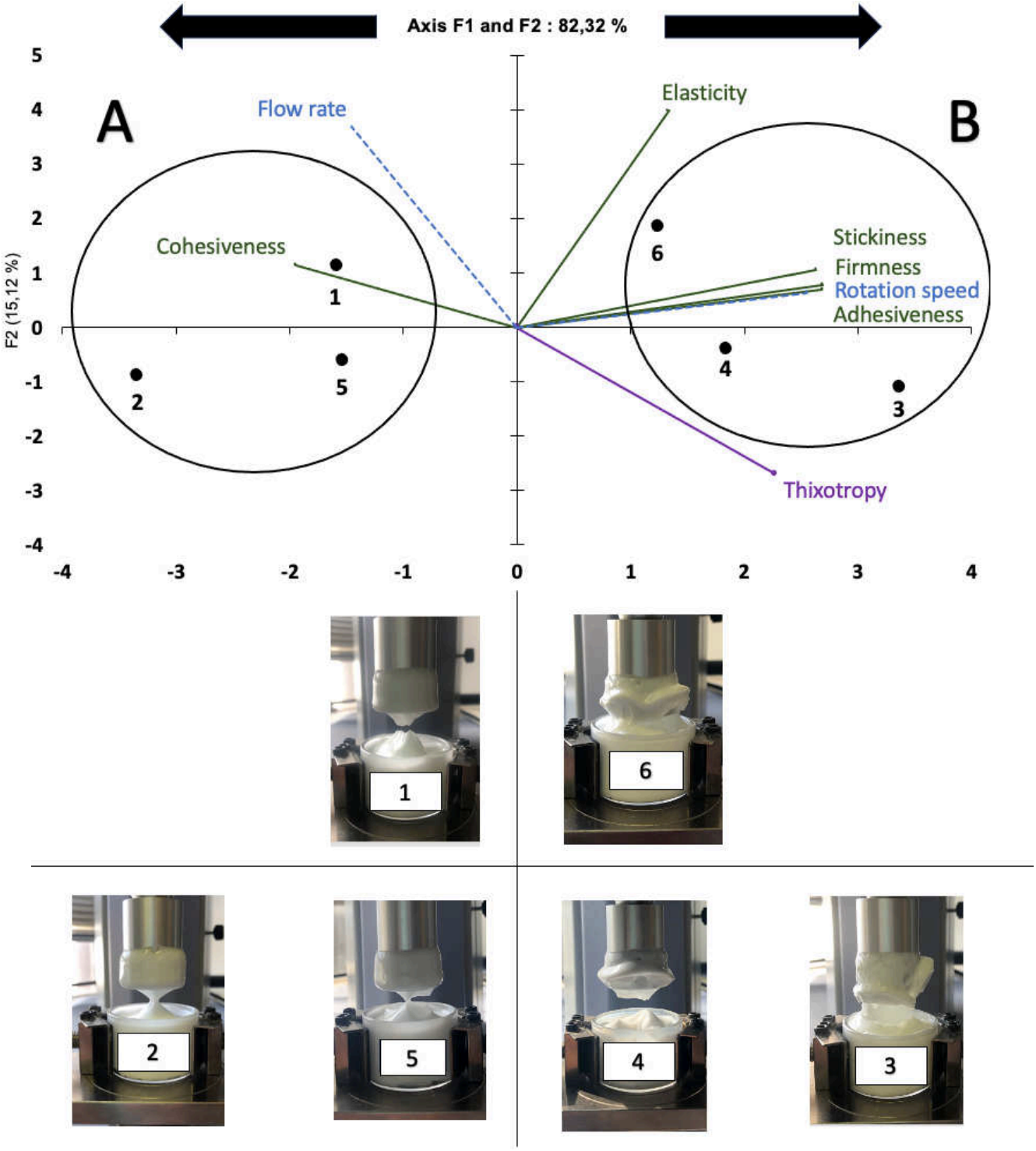
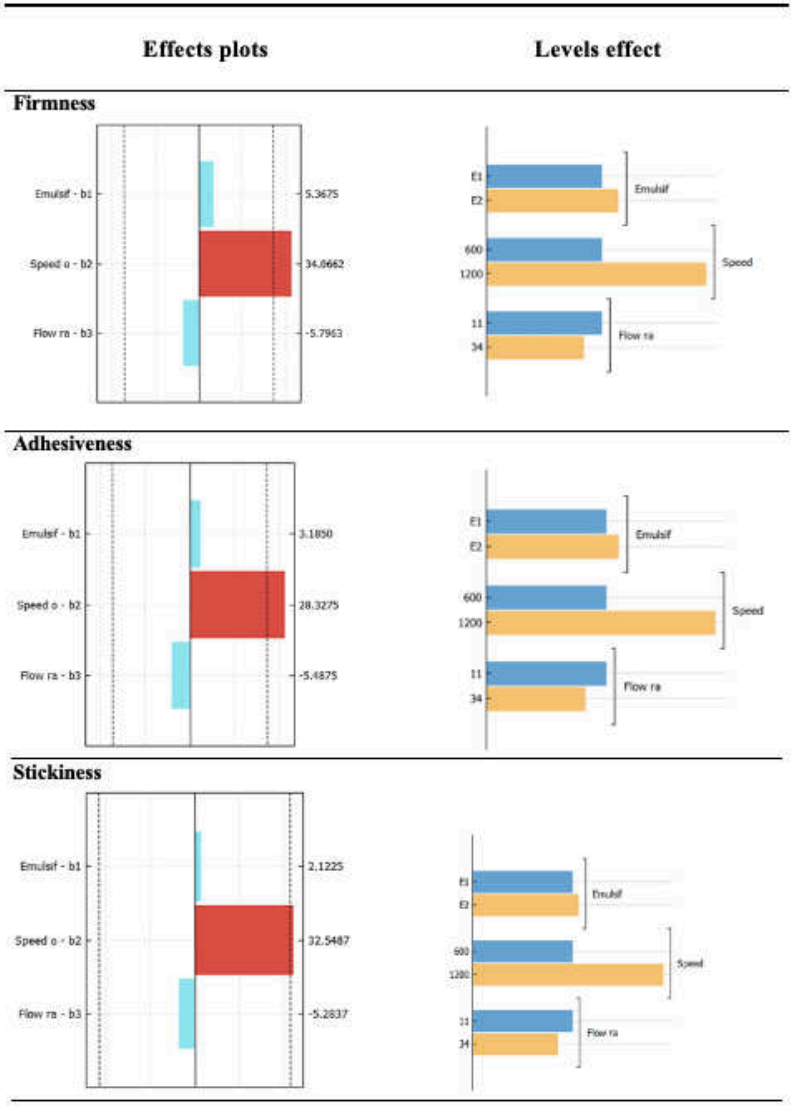


Figure 46 : *Résultats de l'ACP et les textures correspondants.*

Vous trouverez ci-dessous un bref résumé des résultats de ce Plan d'Expérience, avec *la* ***Figure 47*** présentant les résultats liés à la texture , et la ***Figure 48*** présentant les résultats liés aux tests de challenge test.



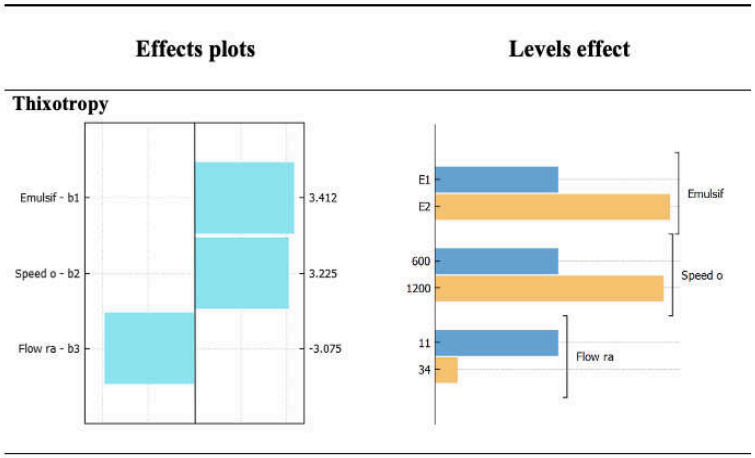


Figure 47 : *Diagrammes des effets des textures.*
Les effets des niveaux principaux de l'analyse de la fermeté, de l'adhésivité, du collage et de la thixotropie.

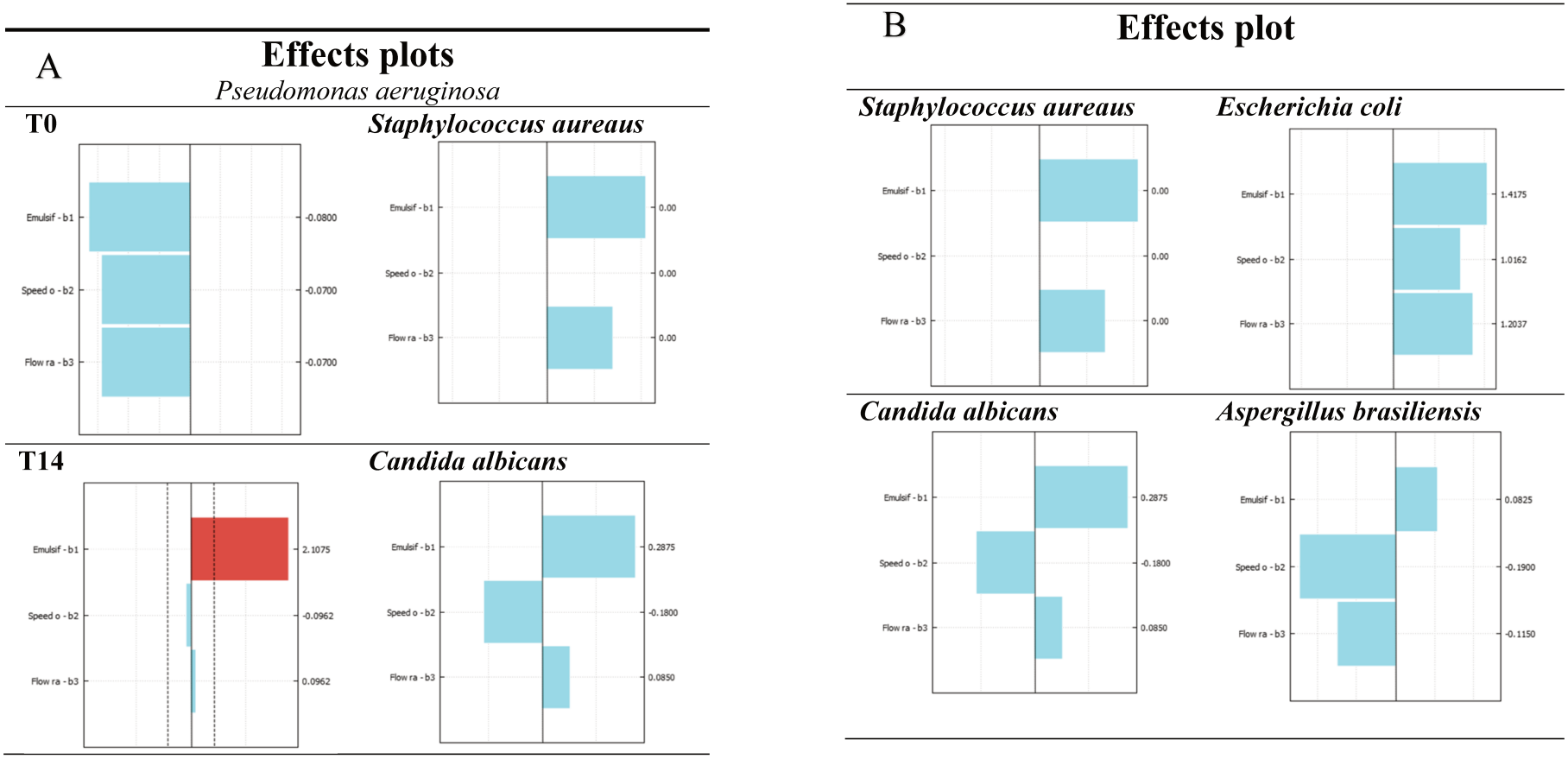


Figure 48 *: Diagrammes des effets des tests du challenge test.*
A- Diagrammes des effets du nombre de Pseudomonas aeruginosa à T0, T7, T14 et T28. Avec l'effet significatif, de la nature de l'émulsifiant, à partir de T14 en rouge. B- Même si sur Staphylococcus aureaus, Escherichia coli, Candida albicans et Aspergillus brasiliensis nous n'avons pas d'effet significatif, une tendance est observée sur l'émulsifiant.

Conclusion :

En intégrant le plan d'expériences (DOE) et l'analyse en composantes principales (ACP), cette étude a démontré une approche efficace et simplifiée pour optimiser le développement d'un « châssis formulaire » sur les HIPE. Cette optimisation prend en compte différents aspects critiques tels que la stabilité physico-chimique, la sécurité microbiologique et l'obtention des profils de texture souhaités ***Figure 49.***

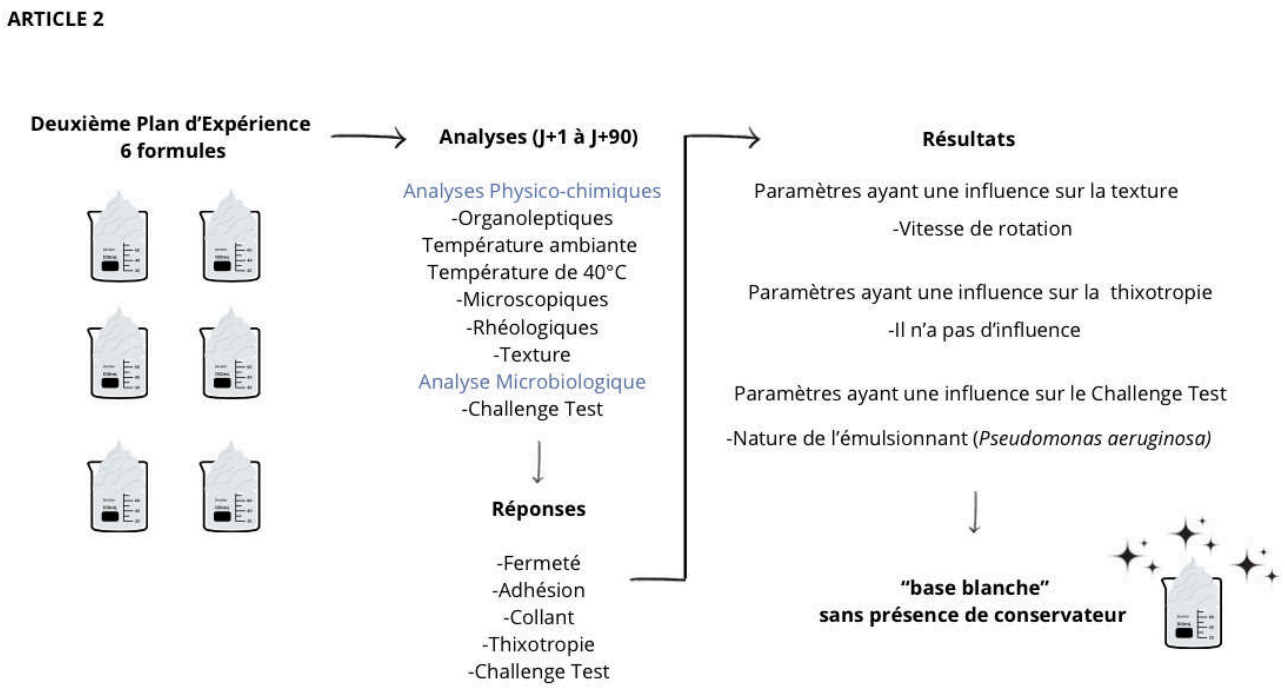


Figure 49 : *Résumé de l'article 2*

Après avoir résumé l'article 2 et exposé ses objectifs, méthodes et résultats, vous trouverez dans la prochaine section l'article 2 complet.

3.2. Article 2 : "Optimization of highly concentrated preservative-free emulsions with various textures through design of experiments"

TELES DE SOUZA Dany

Optimization of highly concentrated preservative-free emulsions with various textures through design of experiments.

D.T. Souza[*], M. Cassayre[*], M. Claeys-Bruno[*], A. Oline[†] ,C. Sauzet[*], and P. Piccerelle[*].

[*] Aix Marseille University, Avignon University, CNRS, IRD, IMBE, Marseille, France

† Pharmaceutical Bio-engineering Department, Faculty of Pharmacy, Aix-Marseille University, Marseille, France

[*]Corresponding author EMAIL: telesdesouza.dany@gmail.com (D.T. Souza)

[*] christophe.sauzet@univ-amu.fr (C. Sauzet)

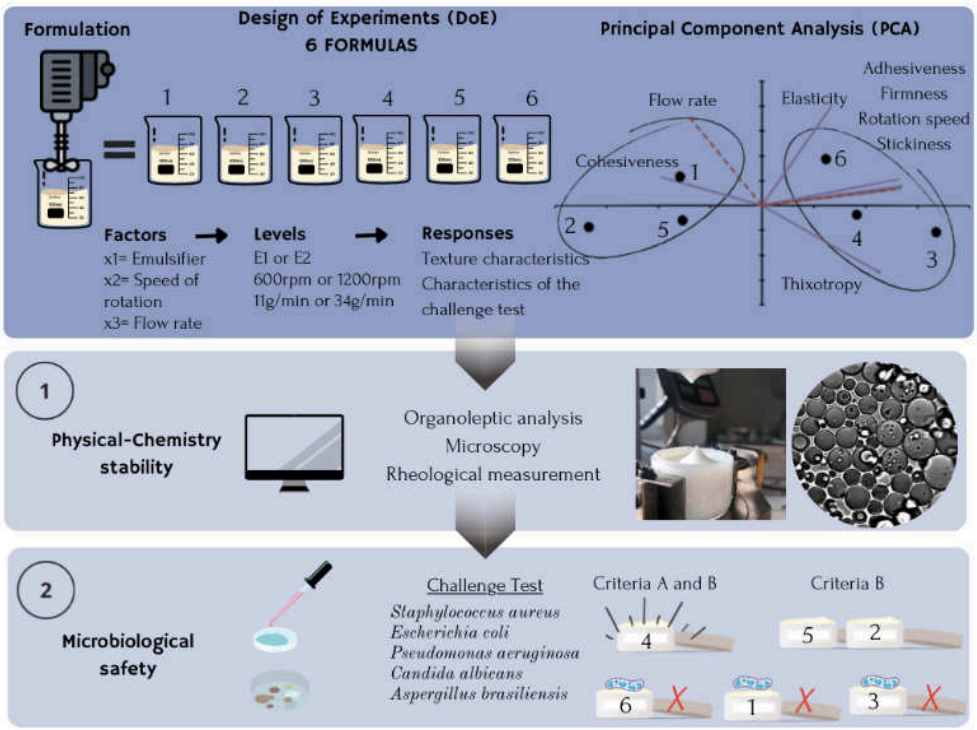
[*] cassayre.margot@gmail.com (M. Cassayre)

[*] auriane.oline@orange.fr (A. Oline)

† m.claeys-bruno@univ-amu.fr (M. Claeys-Bruno)

[*] philippe.piccerelle@univ-amu.fr (P. Piccerelle)

GRAPHICAL ABSTRACT



An experimental design including 6 HIPEs was developed in response to an earlier experimental design involving 30 formulations. The objective was to verify the stability of the various textures and microbiological behaviors through a "challenge test". As a result, this would make it possible to formulate base products with or without a minimal quantity of preservatives while offering different textures.

OBJECTIVE: High Internal Phase Emulsions (HIPEs) are widely employed across diverse industries, including food, materials, pharmaceuticals, cosmetics, and pharmaceuticals. However, owing to their distinctive properties, HIPEs are susceptible to instability issues, which poses challenges in their application, production, packaging, and pumping, particularly in cosmetic products. Furthermore, meeting ever-evolving consumer expectations for sensory experiences and ingredient safety adds complexity to product development endeavors.

The primary objective of this study is to introduce a novel approach for developing HIPE-based products with distinct textures while adhering to stringent microbiological safety standards.

This approach involves leveraging Data Science techniques, specifically Design of Experiments (DOE) and Principal Component Analysis (PCA), as sub-domains of Machine Learning.

This study was based on a previous study of 30 formulas conducted by Souza, D.T. in 2023 [1]. This article aims to further refine the initial study with a second experimental plan involving 6 formulas. The objective is to obtain water-in-oil HIPEs that are basic or "blank," stable, with minimal to no preservatives, and offering a variety of textures.

METHODS: The analysis methods adopted encompass rheology and texturometry. These techniques, integrated with Data Science methodologies such as Design of Experiments (DOE), are employed to elucidate the impact of various parameters, including the nature of emulsifiers, rotation speed, and incorporation rate, on microbiological stability and textural attributes. Additionally, Principal Component Analysis (PCA) is employed to visualize complex multidimensional data and elucidate correlations among variables.

RESULTS: In terms of physico-chemical stability, the results confirm the robust stability of all six HIPE formulations, both immediately after formulation (day one) and following a 90-day aging period. Microbiological stability, as evaluated via a "challenge test," reveals the presence of a formulation meeting the criteria for Categories A and B, achieved without the incorporation of any listed preservatives.

Moreover, our findings concerning texture characterization highlight the potential to develop two distinct textural profiles through deliberate ingredient selection and precise processing methods. Specifically, we have identified the capability to create a denser texture characterized by thixotropic behavior, alongside a contrasting, more fluid texture devoid of thixotropic properties.

CONCLUSION: Through the integration of Design of Experiments (DOE) and Principal Component Analysis (PCA), this study has demonstrated an effective, transparent approach for optimizing the development of HIPE-based products. This optimization encompasses critical

aspects, including physico-chemical stability, microbiological safety, and the attainment of desired texture profiles.

Keywords: Optimization of highly concentrated emulsions, experimental design, principal component analysis, data science, challenge test, rheology, texture, formulation.

Introduction

When we delve into the realm of emulsions, an intriguing phenomenon emerges as we surpass an internal phase concentration threshold of 74% [2]. At this juncture, emulsions transform into highly concentrated entities, where the internal phase concentration can soar to a staggering 99% [3]. This shift in concentration dynamics exerts a profound influence on the emulsion's structural attributes. The dispersed phase now claims a significant portion of the emulsion's volume, relegating the continuous phase to a mere fraction. This dramatic alteration in composition leads to remarkable transformations in the physical characteristics of the emulsion. The high water concentration within these emulsions induces the deformation of dispersed phase droplets, causing them to assume polyhedral shapes, while delicate films of the continuous phase separate these polyhedral entities [4]. This distinctive class of emulsions is widely recognized in scientific literature as high internal phase emulsions (HIPEs) [5].

Rheologically graded HIPEs are celebrated for their distinctive properties, most notably their highly viscous nature and viscoelastic behavior. These properties endow HIPEs with a unique combination of elasticity and viscosity when subjected to deformation [5]. The elasticity observed in HIPEs can be attributed to the compressed state of the droplets, a consequence of the remarkably voluminous internal phase [4]. These distinctive rheological traits render HIPEs particularly attractive in various industrial sectors, with a notable presence in the realms of cosmetics and dermo-cosmetics.

For instance, the substantial volume of the internal phase in water-in-oil HIPEs (w/o) offers an enticing opportunity to incorporate substantial quantities of hydrophilic actives. Conversely, oil-in-water HIPEs (o/w) can effectively accommodate hydrophobic actives [6] [7]. These active ingredients often exhibit vulnerability to environmental factors such as temperature fluctuations, pH variations, mechanical agitation, and oxidative stress. The unique structure of HIPEs, however, serves as a protective shield for these delicate actives, effectively safeguarding them from detrimental influences [7] [8] [9] . This protective role contributes to the preservation of both the active ingredients and the internal phase, a fact substantiated by an array of scientific studies [8] [10] [11] [12].

An intriguing aspect of HIPEs extends to their sensory characteristics. These emulsions exhibit a distinctive “gel-like” behavior when at rest, yet they undergo a dramatic transition to a highly fluid state when subjected to stress. Additionally, HIPEs are renowned for their “quick-break” effect, a sensory phenomenon characterized by a refreshing sensation as the well-swollen water droplets explosively rupture upon application [12] [13]. A recent study, published in 2023, establishes a link between cosmetic formulations and emotions, highlighting the importance of textures. The results indicate that skincare formulations influence emotional potential and the types of emotions generated, and that modifying an ingredient primarily affects the intensity of emotions felt. Analysis of HIPEs' textures reveals that they are described as smooth, creating a feeling of gliding and freshness upon application and spreading. These textures evoke scenes of life such as the sky, snowy mountains and winter, providing a feeling of comfort. The subsequent sensation phase suggests a final perception of comfort, described by some users as a protective or residual presence [14].

Despite their myriad advantages in the fields of cosmetics and dermo-cosmetics, the development of water-in-oil HIPEs poses substantial challenges for formulators. These challenges include several demanding parameters and constraints:

- Stability Formulas: formulations with a tendency toward instability.
- Natural Ingredients: the demand for the incorporation of the most natural and sustainable ingredients possible requires meticulous consideration.
- Eco-Responsibility: aligning ingredients and processes with eco-responsibility and sustainability standards is paramount in contemporary product development.
- Preservative-Free or Low-Preservative Products: formulating products that meet stringent safety and regulatory standards, while minimizing or eliminating the use of preservatives, adds an additional layer of complexity.
- Sensory Pleasure: despite the technical challenges, the end product must deliver an enjoyable sensory experience to consumers.

These multifaceted requirements translate into a substantial workload and protracted project timelines, compounded by the accumulation of vast datasets. Mere data collection is insufficient; the critical need lies in the coherent interpretation and comprehensive utilization of this wealth of information.

In the present era, it is well-established that the adept understanding and utilization of extensive datasets serve as pivotal drivers of performance and innovation. Among the pantheon of technologies, machine learning, a subset of artificial intelligence (AI), emerges as a powerful tool for harnessing the full potential of these datasets. Rooted in data science and optimization techniques, this study leveraged machine learning sub-domains, specifically Design of Experiments (DOE) [15] and Principal Component Analysis (PCA) [16] [17] [18], to scrutinize statistically grounded data and conduct predictive analysis through data mining.

Experimental design played a pivotal role in the optimization of formulas and the identification of key variables influencing critical aspects of product development. These aspects included

texture type, thixotropy, and microbiological influences. To facilitate the visualization of multidimensional data and intuitively identify correlated variables, texture profile analysis was performed, aided by PCA. This comprehensive analytical approach has opened new horizons in the development of water-in-oil HIPEs, promising innovative and stable products that meet the ever-evolving demands of consumers and regulatory standards.

Experimental methods

Chemical providing

In order to prepare the formulations, common chemicals such as purified water, type 2, were supplied by Merck KgaA (Darmstadt, Germany) and glycerin (organic vegetable glycerin) was bought from IeS LABO (Oraison, France). The tested salt in the formula was zinc sulfate from COOPER (Melun, France). The oily polymer (OP) tested was Isostearyl alcohol, butylene glycol cocoate, and ethylcellulose (Emulfree CBG) from Gattefossé (Saint-Priest, France). The surfactants tested were Polyglyceryl-4 Diisostearate/ Polyhydroxystearate/ Sebacate, Isolan® GPS, (E1) from EVONIK personal care (Ham, France), Tri(Polyglyceryl-3 Lauryl) hydrogenated trilinoleate, Cithrol™ PGTL, (E2) from CRODA (Montigny-le-Bretonneux, France). The oil tested was Isononyl Isononanoate, LANOL 99 from SEPPIC (Paris, France), was used as an external phase.

Formulation procedure

For this experimental design, 6 formulas were produced using the same rigorous approach. The percentage of external phase (oil) was 12% and the internal phase (water) was 88%. All formulas were produced cold, without heating, and with a controlled incorporation rate. The ingredients and percentages used in the experimental design are shown in **Table I** and all

formula information is given in **Table III.** The following protocol was used to carry out the experimental design.

The formulation of the highly concentrated emulsion consists of 4 steps:

i. The water phase was weighed (water, salt and glycerin), added to a beaker and stirred at 600 rpm with a Heidolph RZR 2021 mixer (Schwalbach, Germany). A transparent solution was obtained at room temperature. The aqueous phase was then set aside.
ii. The oil phase was weighed (oil, surfactant and oily polymer), added to a beaker and stirred with a VMI-Rayneri Turbotest V2004 (Montaigu, France) fine-bladed propeller at 600 rpm or 1200 rpm, at room temperature.
iii. In the final stage of the emulsion, the aqueous phase was added to the oily phase using a Gilson MINIPULS 3 M312 (Villiers, France) peristaltic pump at a flow rate of 11g/min or 35g/min, again with stirring VMI-Rayneri Turbotest V2004 (Montaigu, France) at a speed of 600 or 1200 rpm, at room temperature.
iv. Finally, the highly concentrated emulsion preparations were packaged into two hermetically sealed alcohol bottles. The first 150-ml vial was kept in the dark at room temperature, and the second 50-ml vial was kept in the oven at 40°C.

Table I Ingredients used in formulation (%, (w/w)). A- Water phase; B- Oil phase.

Phase	Ingredients/INCI	Supplier	Function	% (w/w)
A (water phase)	Water	-	Solvent	85
	Zinc sulfate	COOPER	Stabilizing agent	1
	Glycerin	IeS LABO	Humectant	2
B (oil phase)	Isostearyl alcohol, butylene glycol cocoate, and ethylcellulose	Gattefossé	Oil polymer	2
	Isononyl Isononanoate	SEPPIC	Emollient	8
	Polyglyceryl-4 Diisostearate/ Polyhydroxystearate Sebacate or Tri (Polyglyceryl-3 Lauryl) hydrogenated trilinoleate	EVONIK or CRODA	Emulsifier	2
			TOTAL	100

Physical-Chemistry stability condition

Room temperature

A sample was placed at room temperature in the dark, for 3 months.

40° C temperature

The other sample was placed in a Memmert oven (Schwalbach, Germany) at 40°C with 75% humidity, for 3 months.

Organoleptic analysis

Organoleptic analyses constitute primarily physical assessments. These assessments encompass parameters critical for consumer product acceptance, typically involving the evaluation of appearance, color, odor, flavor, and texture [19].

Moreover, these analyses serve as an initial means of detecting potential indicators of formula instability, including phenomena like creaming, turbidity, and sedimentation, among others. The identification of such instability markers holds paramount importance in ensuring the safety of cosmetic products. The objective of this analysis is to detect any potential alterations in the product.

To achieve this, a reference sample is utilized, carefully stored at room temperature and shielded from light to prevent deviations in the original organoleptic properties. Organoleptic characteristics are then assessed at intervals of 24 hours, 1 month, and 3 months, with testing conducted at temperatures of 25°C and 40°C. The analyses are categorized as follows: normal, indicating no alterations; slightly modified; modified; and intensively modified.

Optical Microscope

Microscopic images of water-in-oil high internal phase emulsions (HIPEs) without any additives were acquired using a Nikon Eclipse E600 optical microscope equipped with a Nikon DS Fi3 digital camera. The HIPE samples were carefully placed onto a glass slide containing oil and were observed at a magnification of 100x. Software was employed to assess homogeneity and droplet size. This analysis was exclusively conducted 24 hours after the preparation of the emulsion at a temperature of 25°C, serving the purpose of characterizing the emulsions.

Confocal Microscope

Droplets were formed in absolute ethanol before being extemporaneously labelled with the lipophilic FAST DiO (3,3'-dilinoleyloxacarbocyanine perchlorate; V/V 1:20 ThermoFisher Scientific, France) probe (30 min, at RT). Image acquisition was performed using a Leica SP5 confocal laser scanning microscope (CLSM) equipped with a Leica inverted microscope, coupled to a Plan-Apochromat 63× oil immersion objective (NA=1.4). Each image was recorded with the spectral mode of the CLSM selecting specific domains of the emission spectrum, i.e. FAST DiO was excited at 488 nm with an argon laser and its fluorescence emission was collected between 496 nm and 535 nm. The public domain software ImageJ was used for image analysis [20].

Rheological measurements

Rheological tests were performed using a stress-controlled Advanced Rheometer AR 1000 from TA Instruments (Guyancourt, France). For the measurement of highly concentrated emulsions at a temperature of 25 °C using stainless steel plates (sandblasted parallel plates), geometry (diameter: 40 mm; spacing: 1 mm). The tests studied were as follows:

i. Stress sweep step: HIPE was performed at a frequency of 10 Hz under a stress swing (τ) from 0.1 to 100 Pa. Amplitude sweep testing provides results for changes in storage and loss moduli (G' and G'') and shows linear viscoelasticity (LVE).
ii. Frequency sweep step: HIPE was performed in a variable range between 1 and 100 Hz with a stress (τ) of 1.0 Pa. This test allows to see the elastic behavior at different frequencies. Meanwhile, the dynamic behavior between elastic modulus and viscous modulus is represented by complex viscosity ($|\eta^*|$). The size is expressed in Macosko **Eq. 1** [20]

$$|\eta^*| = (\eta'^2) + (\eta''^2)^{1/2} = \left[\left(\frac{G''}{w}\right)^2 + \left(\frac{G'}{w}\right)^2\right]^{\frac{1}{2}} = \frac{1}{w} \quad (1)$$

iii. Flow: The shear rate was varied from 0 to 100 s-1 and the flow curves were obtained in three consecutive flow steps in a continuous ramp.

- Step 1: shear rate ($\dot{\gamma}$) 0 to 100 s-1; time: 2 minutes
- Step 2: peak hold ($\dot{\gamma}$) 100 s-1; time: 1 minute
- Step 3: shear rate ($\dot{\gamma}$) 100 s-1 to 0; time: 2 minutes

The results of this test enable rheological behavior to be characterized by increasing and decreasing shear ramps. They also enable us to verify the existence of thixotropic behavior. All measurements were carried out in triplicate, 24 hours and 3 months after formulation, at room temperature.

Microbiological stability

Challenge Test

The procedure used for assessing the effectiveness of preservatives is commonly referred to as the 'challenge test' or 'preservative efficacy test.' The primary objective of the 'challenge test' method is to ascertain product safety by evaluating the microbiological risk associated with the product.

Challenge Test Procedure: initially, an assessment of the microbiological cleanliness of the sample was conducted to quantify aerobic mesophilic flora, as well as yeasts and molds, following the guidelines outlined in standards NF EN ISO 21149 [21] and NF EN ISO 16212 [22].

Subsequently, tests were carried out in accordance with NF EN ISO 11930 [23]. A 20 g sample of water-in-oil (w/o) high internal phase emulsion (HIPE) was inoculated with 0.2 ml of a calibrated inoculum, followed by thorough homogenization, with incubation maintained at 22.5

+/- 2.5°C. For the neutralization tests, the formulation was mixed with the neutralizing diluent in a ratio of 1:10 (mass to volume), followed by rigorous homogenization. Each enumeration was preceded by vigorous homogenization of the test matrix. This approach facilitated the study of the microbial population's evolution at defined time intervals, enabling the assessment of the preservative system's efficacy within the formulation.

The bacterial and yeast strains utilized were those typically encountered in the epidermis. The microbial population was quantified logarithmically over periods of 7 days, 14 days, and 28 days. Samples were subjected to testing one month after formulation. These analyses were conducted in collaboration with the CERES Laboratory (Villeneuve-de-Berg, France).

Analysis Requirements:

i. Microbial Strains – The microbial strains used included *A. brasiliensis* (ATCC16404), *P. aeruginosa* (ATCC9027), *E. coli* (CCM4517) (equivalent to ATCC8739), *Staph coag*+ CIP4.83 (equivalent to ATCC6538), and *C. albicans* (ATCC10231).
ii. Counting Method – The counting method used was based on inclusion and the logarithmic spiral.
iii. Incubation Conditions for Petri Dishes – Bacteria and Candida were incubated at 32.5 +/- 2.5°C, while Aspergillus incubation was conducted at 22.5 +/- 2.5°C.

Texture characteristics

Texture analysis (TPA) was performed using a texture analyzer Shimadzu EZ-SX (Noisiel, France) and Trapezium X software (version 349-02788, March 2007). This enabled us to characterize the mechanical properties of the emulsions. The compression effect was studied using a probe cylinder (25 mm diameter, stainless steel). The probe penetrates the sample to

a depth of 10 mm at a speed of 10 mm/s. Then go up to 5 mm. It then moves up to 5 mm and stays in place for 10 seconds. Then it moves back down to a depth of 10 mm and finally back to 20 mm. The force applied to the probe is automatically recorded. The purpose of this test is to observe the physical properties related to stress. Five parameters can be analyzed: stickiness, adhesion, cohesion, firmness, and elasticity. This test is equivalent to the analysis of absorption (sensory properties when removed from the container) and the analysis of skin application.

Tests were carried out 24 hours after formulation at a temperature of 25°C. The analyses were performed in triplicate. The tests were analyzed through texture profile analysis (ATP) and a statistical analysis was carried out using principal component analysis (PCA) to characterize the formulations.

Principal Component Analysis (PCA)

Principal Component Analysis (PCA) is an algorithm for unsupervised Machine Learning and a statistical method for data visualization and dimension reduction. It can be used to visualize multidimensional data and visually identify correlated and uncorrelated variables [24] .

The fundamental concept behind PCA is to decrease the number of interrelated variables, thus reducing the dimensionality of the data. This is accomplished through the application of a principal component transformation function to the primary parameters. Following this, the number of principal components is determined based on the cumulative percentage of total alterations. It is generally accepted that the anticipated level of accuracy is between 80-90% of all variations [18].

In this study, the variables analyzed are texture-related, such as: (i) firmness, (ii) adhesion, (ii) stickiness, (iii) elasticity, (iv) cohesion and (v) thixotropy. As well as process-related variables such as: (vi) rotation speed and (vii) incorporation rate.

The aim of this statistical analysis is to visualize the formulas in groups of similar or different behaviors, and to check whether there are possible correlations in these procedural changes.

All data used was based on texture profile analysis (PCA) and flow data from the rheology test. As seen previously.

Design of Experiments (DOE)

The type and concentration of each ingredient in the formula and the process parameters are optimized. The usual strategy is to vary each parameter independently. Using Design of Experiments (DOE) we can reduce the number of trials to achieve the best results if the problem and protocol are well defined from the start. DOE is a set of statistical methods that provide specific information for the selection and ranking of experiments [25] [26] . It is used to determine the quantitative impact of selected parameters by examining test results. It consists of conducting a limited number of experiments in which combinations are selected to study the influence of parameters (factors). In this case, the main goal is to filter out significant factors from all potentially significant factors considered (screening strategy) and to determine the number of treatments recommended by a factorial design, often exceeding available resources. Screening studies are performed to provide the experimenter with the most effective tools in this situation. The design was defined using the Azurad software [27].

The aim of this study is to optimize the structure of HIPE and investigate its rheological properties and structural characteristics by analyzing its main components.

A previous study [1] had already carried out an experiment involving 30 formulas, with the aim of carrying out preliminary tests for the selection of ingredients and processes more favorable to HIPE stability (w/o). Using the data from the first experimental design, a second experimental design was created, involving 6 formulas, with the aim of refining the results for the development of a water-in-oil HIPE. The responses sought are variables that may influence the texture (firmness, adhesion, and stickiness), thixotropy, and microbiological protection of the formulas (challenge test).

The analyses carried out include texture profile analysis (TPA), rheological flow, and challenge test, method NF EN ISO 11930 [23].

Factors and experimental domain of interest

For the study, the nature of the emulsifiers was varied, as well as the type of process, speed, and incorporation. The experimental area of interest can be described as follows in **Table II** **Table *II***.

- The influence of 3 variables (X1, X2 and X3) on the formulation of a highly concentrated emulsion was studied: 3 variables at 2 levels. 1 variable (X1) is ingredient related and 2 variables (X2, X3) are process related.

Table II Factors and domain of interest for the study.

Variables	Level 1	Level 2
X1 Emulsifier nature	E1	E2
X2 Speed of rotation	600rpm	1200rpm

X3 Flow rate	11g/min	34g/min	

Mathematical modeling

In this screening study [28], the effects of factors were supposed to be additive. This hypothesis implied that all the interaction effects were negligible. The model used for 3 factors with 2 levels (factors X_1, X_2 and X_3) could be written as **Eq. 2.**

$$\eta = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 \quad (2)$$

This strategy allows the identification of influent factors on the responses and the selection of the best level for each factor.

Construction of the experimental design

In order to estimate coefficients b_1, b_2 and b_3, an experimental design with N=6 experiments was performed as described in **Table III** and

Table *IV*.

Table III The 6 formulas (HIPEs) with their compositions, variables, and texture responses (TPA and rheology).

Variables				Responses			
	Ingredients	Process		TPA			Rheology
Formulas	X1 Emulsifier nature	X2 Speed of rotation (rpm)	X3 Flow rater (g/min)	Firmness (gf)	Adhesiveness (gf)	Stickiness (gf)	Thixotropy (Means absolue)
1	E2	600	34	96,00	65,16	97,21	3,0
2	E1	600	*34*	69,76	46,11	71,74	1,4
3	E2	1200	*11*	170,25	128,58	162,47	18,8
4	E1	1200	*11*	154,96	117,95	157,81	10,8
5	E1	600	11	104,15	76,13	109,15	1,9
6	E1	1200	34	160,69	121,81	163,68	2,2

Table IV The 6 formulas (HIPEs) with their compositions, variables, and microbiological responses (challenge test).

Variables				Responses					Results
	Ingredients	Process		« Challenge Test » NF EN ISO 11930					Criteria A and B
Formulas	X1 Emulsifier nature	X2 Speed of rotation (rpm)	X3 Flow rater (g/min)	*Staphylococcus aureus* log UFC/g (ml)	*Escherichia coli* log UFC/g (ml)	*Pseudomonas aeruginosa* log UFC/g (ml)	*Candida albicans* log UFC/g (ml)	Aspergillus brasiliensis log UFC/g (ml)	Positives
1	E2	600	34	T0= 5,25 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,31 T7= 5,56 T14= 5,6 T28= 5,32	T0= 5,39 T7= 5,55 T14= 5,57 T28= 5,52	T0= 4,72 T7= 3,96 T14= 3,45 T28= 3,44	T0= 4,19 T7= 3,17 T14= 2,41 T28= 2,35	-
2	E1	600	34	T0= 5,25 T7= 3,1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,31 T7= 2,49 T14= <1 T28= <1	T0= 5,39 T7= 5,31 T14= <1 T28= <1	T0= 4,72 T7= 3,68 T14= 2,62 T28= 1,65	T0= 4,19 T7= 3,69 T14= 3,37 T28= 2,35	B
3	E2	1200	11	T0= 5,25 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,31 T7= 4,53 T14= 4,89 T28= 4,57	T0= 5,39 T7= 5,03 T14= 4,83 T28= 4,45	T0= 4,72 T7= 3,49 T14= 2,3 T28= 1,97	T0= 4,19 T7= 3,30 T14= 2,50 T28= 2,24	-
4	E1	1200	11	T0= 5,25 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,31 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 5,39 T7= <1 T14= <1 T28= <1	T0= 4,72 T7= 3,26 T14= 2,52 T28= 2,06	T0= 4,19 T7= 3,14 T14= 2,47 T28= 2,16	A and B
5	E1	600	11	T0= 5,64 T7= 2,9 T14= <1 T28= <1	T0= 5,43 T7= 4,3 T14= <1 T28= <1	T0= 5,85 T7= 2,84 T14= <1 T28= <1	T0=5,88 T7= 3,73 T14= 3,16 T28= 2,50	T0= 4,00 T7= 3,1 T14= 2,54 T28= 2,31	B
6	E1	1200	34	T0= 5,36 T7= 2,65 T14= <1 T28= <1	T0= 5,44 T7= 5,33 T14= 5,21 T28= 5,44	T0= 5,57 T7= 2,2 T14= <1 T28= <1	T0=4,76 T7= 3,75 T14= 3,26 T28= 2,31	T0= 4,00 T7= 2,63 T14= 2,27 T28= 1,70	-

Results and discussion

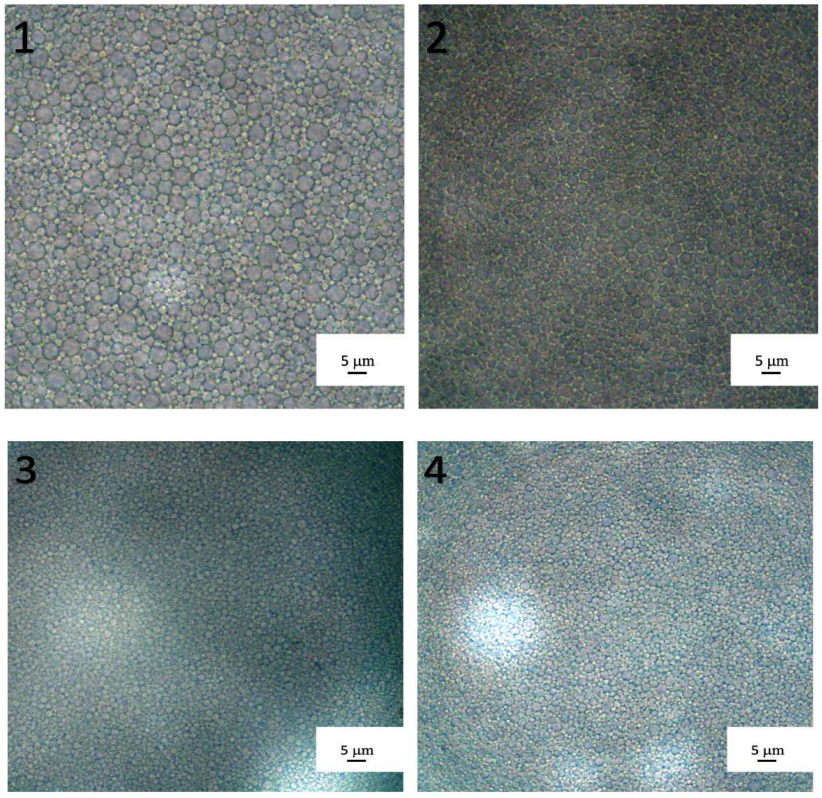
Organoleptic analysis

The formulas were analyzed for 90 days at room temperature and at 40°C. The 6 formulas showed no change in visual appearance, color, odor, or texture. The water-in-oil HIPEs are still very white, with a high gloss and homogeneity.

Optical Microscope

Optical microscopy images show that the emulsions consisted of very compact water droplets, confirming the formation of W/O type HIPE. The formulations were found to be homogeneous with slightly varying droplet sizes. The droplets range in size, with an average ranging from 1.0

μm to 5.0 μm depending on the formula. This information is shown in **Figure 1.** It was observed that when only the emulsifier is changed, there is a noticeable variation in droplet size. Emulsifier 1 allows for smaller droplets compared to Emulsifier 2. This can be seen in Formula 2 with E1 and Formula 1 with E2. Another parameter that affects droplet size is the change in speed. The higher the rotation speed, the smaller the droplets, as observed in Formula 4 with 1200 rpm and Formula 5 with 600 rpm. Conversely, when only the flow rate is changed, there is no visible change in droplet size between the formulas, as seen in Formula 2 with 34 g/min and Formula 5 with 11 g/min. Therefore, it was observed that these six formulations are primarily influenced by the emulsifier and the rotation speed.



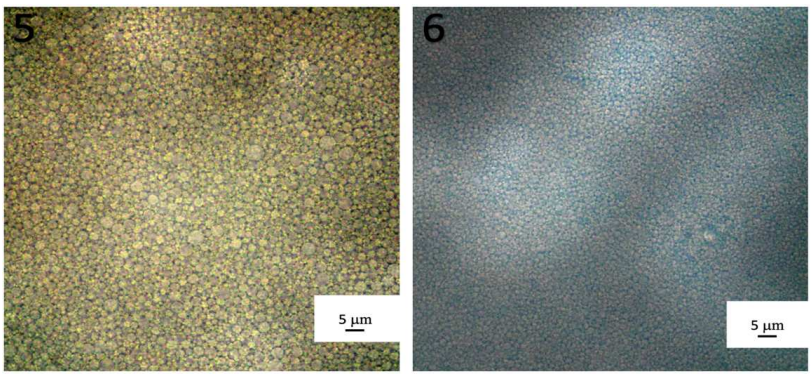


Figure 1 Images from the optical microscope with the 6 formulas.

Confocal Microscope

As described earlier, the structure of HIPEs is quite unique: it is characterized by droplets with a diameter of a few microns that make the entire structure opaque [3]. However, for confocal microscopy, it is essential to prepare the sample according to the previously mentioned method. It is important to note that this technique has an invasive impact on the samples. Indeed, appropriate dilution of the sample is required to obtain an image, while ensuring it retains an adequate representation of the initial structure. It should be emphasized that during dilution, structures may lose their initial configuration. Nevertheless, when these structures manage to maintain their aggregation, it demonstrates their robustness. This preparation can be considered as an indicator of instability. Confocal analysis results demonstrate that the presence of emulsifier 2 (E2) leads to a decrease in the quantity of droplets per unit area, as illustrated in **Figure 2**. Formulas 1 and 3 indicate a more pronounced structural fragility. Conversely, formulas 2, 4, 5, and 6, in the presence of emulsifier 1 (E1), exhibit greater robustness, with more numerous and closely spaced droplets. The HIPEs obtained with the E1 emulsifier have a more cohesive structure maintaining a few globules in the form of "grape" clusters reflecting the initial structure.

Formula 4 is a specific example that illustrates the formation of highly concentrated emulsions with polyhedral droplets [4], as shown in **Figure 3.**

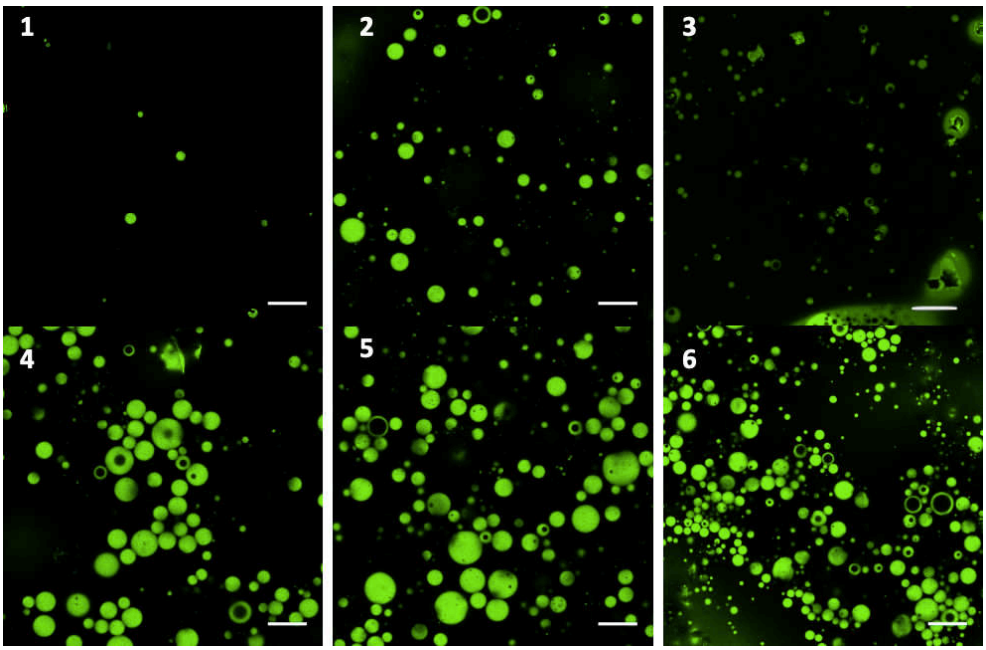


Figure 2 Images from the confocal microscope with the 6 formulas with a scale of 30µm

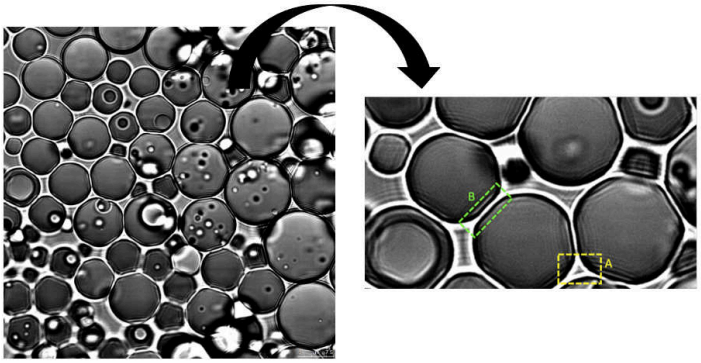


Figure 3 Confocal microscope image of formula 4, presenting droplets with a polyhedral structure, very common for highly concentrated water-in-oil emulsions, with the demonstration of a "plateau edge" indicated by the letter A, as well as the compression of a droplet with the formation of a thin oily film indicated by the letter B.

Rheological measurement

Oscillatory tests: amplitude sweep testing

The stress sweep analyses have revealed distinct rheological profiles among the six analyzed formulas. All six formulations exhibit viscoelastic behavior. However, it is noteworthy that formulas 3, 4, and 6 exhibit a remarkable degree of elasticity, with elasticity moduli (G') ranging from 2741 Pa to 3271 Pa at a stress level of 0.1 Pa. Moreover, these formulations demonstrate a pronounced gel-like character, which is attributed to the substantial difference between the elastic modulus (G') and the viscous modulus (G"). This difference ranges from 2558 Pa to 2986 Pa, which is indicative of their robust elasticity and capacity for energy storage. The delta tangent values for these formulas, ranging between 0.06 and 0.09, further underscore their high elasticity.

Furthermore, following stress variations from 0.1 Pa to 100 Pa, an extended region of elastic viscosity (LVER) was observed in these formulas, without any crossover between the elastic and viscous moduli (G'=G") up to 100 Pa, demonstrating a remarkable tolerance to G' variations of up to 10%.

Conversely, formulas 1, 2, and 5 exhibit a relatively lower but still significant elastic modulus (G') compared to the previous set of formulas, with G' values ranging from 784 Pa to 1260 Pa. Notably, the difference between the elastic and viscous moduli (G"-G') in these formulations is smaller, averaging between 678 Pa and 1071 Pa. Unlike the previous group, these formulas do not display a gel-like character. Additionally, their delta tangent values, ranging from 0.13 to 0.14, indicate a less solid character compared to the other formulations. These three formulas also exhibit a narrower viscoelasticity range (LVER), with no crossover between G' and G",

and LVER values ranging from 34.4 Pa to 71.3 Pa. A summary of these findings is presented in **Table V**.

We have also observed the influence of speed on the structure of the formulations, as shown in formulations (2 and 6) and (4 and 5). Although they are similar, the only difference lies in the speed. As the speed increases (1200 rpm), the elastic modulus (hardness) increases, the tangent delta approaches 0.0, and the LVER also increases. However, when the formulations remain identical, except for the emulsifier, as in formulations (1 and 2) and (3 and 4), we see much less difference in terms of the elastic modulus, tangent delta, and LVER as shown in **Table VI.**

Table V Results Amplitude sweep testing for elastic modulus (G'), viscous modulus (G"), Tgδ and LVER. At day 1 and day 90 (mean values ± SD).

Formulas	Emulsifier nature	Speed of rotation (rpm)	Flow rate (g/min)	τ (Pa)	G' (Pa) Day 1	G' (Pa) Day 90	G" (Pa) Day1	G" (Pa) Day 90	Tg δ Day1	Tg δ Day 90	LVER (Pa) day1	LVER (Pa) day 90
1	E2	600	34	0,1	1260 ± 29,8	1682 ± 21,0	189 ± 5,2	206 ± 13,2	0,15 ± 0,0	0,10 ± 0,0	50,8 ± 36,3	34,71 ± 40,2
				1	1234 ± 20,1	1633 ± 362,0	182 ± 2,1	217 ± 22,7	0,15 ± 0,0	0,13 ± 0,0		
				10	1226 ± 16,0	1526 ± 288,5	183 ± 2,8	319 ± 129,8	0,15 ± 0,0	0,20 ± 0,1		
2	E1	600	34	0,1	784 ± 10,7	1071 ± 18,0	106 ± 1,6	143 ± 1,4	0,13 ± 0,0	0,13 ± 0,0	34,4 ± 4,7	64,8 ± 20,7
				1	767 ± 10,2	1054 ± 21,5	102 ± 1,4	140 ± 4,3	0,13 ± 0,0	0,13 ± 0,0		
				10	733 ± 8,8	1039 ± 3,0	104 ± 1,1	146 ± 3,6	0,14 ± 0,0	0,14 ± 0,0		
3	E2	1200	11	0,1	3271 ± 164,5	2710 ± 85,0	285 ± 28,5	268 ± 8,4	0,09 ± 0,0	0,10 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
				1	3188 ± 166,3	2683 ± 101,0	275 ± 16,3	279 ± 17,9	0,09 ± 0,0	0,10 ± 0,0		
				10	3178 ± 149,7	2667 ± 82,0	277 ± 16,0	281 ± 13,9	0,09 ± 0,0	0,11 ± 0,0		
4	E1	1200	11	0,1	3340 ± 209,7	2952 ± 159,5	191 ± 14,1	250 ± 22,7	0,06 ± 0,0	0,08 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
				1	3265 ± 157,6	2917 ± 182,5	191 ± 5,3	203 ± 8,6	0,06 ± 0,0	0,07 ± 0,0		
				10	3258 ± 153,2	2916 ± 174,0	195 ±5,8	205 ± 1,0	0,06 ± 0,0	0,07 ± 0,0		
5	E1	600	11	0,1	1209 ± 21,5	1195 ± 2,5	154 ± 0,5	164 ± 2,2	0,13 ± 0,0	0,14 ± 0,0	71,3 ± 11,6	52,6 ± 18,2
				1	1177 ± 27,0	1160 ± 3,0	144 ± 4,7	157 ± 3,0	0,12 ± 0,0	0,14 ± 0,0		
				10	1183 ± 8,0	1130 ± 23,5	156 ± 1,3	160 ± 2,1	0,13 ± 0,0	0,14 ± 0,0		
6	E1	1200	34	0,1	2741 ± 349,0	2351 ± 5,5	183 ± 59,6	197 ± 1,9	0,07 ± 0,0	0,08 ± 0,0	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
				1	2719 ± 214,0	2292 ± 5,5	193 ± 18,3	188 ± 4,8	0,07 ± 0,0	0,08 ± 0,0		
				10	2703 ± 187,0	2288 ± 10,5	198 ± 15,3	193 ±2,9	0,07 ± 0,0	0,08 ± 0,0		

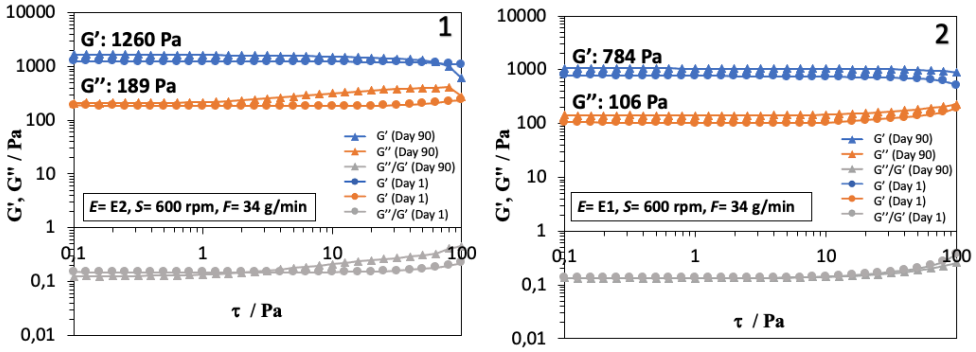
After analysis of the stability behavior of these 6 formulas on day 1 and day 90. The observed parameters were LVER, delta tangent variance and elastic modulus.

We can see that formulas 3, 4 and 6 have the same behavior regarding the linear viscosity range (LVER), which means that the three formulas show no difference in LVER. On days 1 and 90, they maintained an LVER greater than 100 Pa. As for the delta tangent at 0.1, 1 and 10 Pa, there was almost no variance between day 1 and day 90. These data demonstrate a high degree of stability. The "gel-like" characteristic of these 3 formulas gives them a particular elasticity that could prevent irreversible destabilization phenomena such as coalescence by reducing the Brownian movements of the drops in suspension, thus decreasing the likelihood of contact [29]. Formulas 1 and 5 show a decrease in the linear viscosity range (LVER) and an increase in the

tangent delta. This demonstrates that as stress increases, the formulas tend to gain in viscous modulus (G") and lose in viscosity. The loss in LVER shows that after 90 days, the network has become less structured over time.

For formula 2, it behaved differently from the rest of the formulas, as its elastic modulus (G') increased by around 300 Pa between day 1 and day 90, and its elastic viscosity range (LVER) also increased from 34.7 Pa to 64.8 Pa. The delta tangent showed no variance. This information shows that perhaps formula 2 needs more time to structure its network and stabilize. The behavior of the 6 formulas can be seen in **Figure 4.**

To conclude, oscillation experiments are well known to be used to predict formulation stability. Typically, the flocculation phenomenon is well detected by a strong increase of the elastic modulus (G') during amplitude oscillation experiments (at a constant frequency). Coalescence is evidenced by rapid decay of the elastic modulus over time [29] [30]. Regarding the elastic modulus (G'), the 5 formulas show less than a 30% difference between day 1 and day 90 at 0,1 Pa, 1.0 Pa and 10 Pa, which is a good sign of stability.



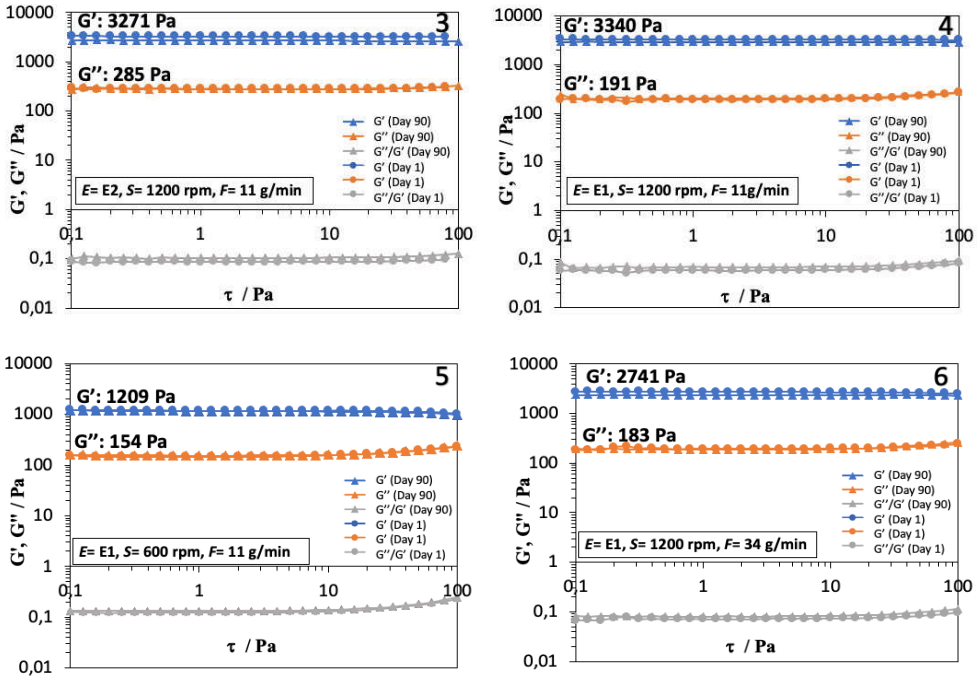


Figure 4 Results of amplitude sweep in terms of variation of storage and loss moduli (G' and G") with shear rate (τ), performed varying from 0.1 and 100 Pa. The 6 formulas were compared at day 1 and day 90.

Oscillatory tests: frequency sweep testing

The results of the frequency sweep indicate the stability of the material on frequency variances at constant stresses. This type of test makes it possible to account for the strength and the number of interactions between the different constituents. A bonus of this is a test that allows to analyze the behaviors during transport, storage and the manufacturing process. The studies analyze the characteristic time of the crossing point (G'=G") and assimilate the life of the products [31] . In this study, we observe the strength of resistance of interactions. For the analysis, the stress (τ) should typically be in the linear regime, where the material was found to be stable during amplitude sweep tests. In our samples, the frequency sweep was performed by varying the angular frequency (w) from 6.28 to 628 rad.s^{-1}, which corresponds to a frequency

of 1 Hz to 100 Hz, at a constant stress (τ) of 1.0 Pa, which was well within the linear viscoelastic regime, as determined by the amplitude sweep tests described above.

The data show that all 6 formulations exhibit solid viscoelastic or Voigt solid behavior, which means that the elastic modulus (G') is greater than the viscous modulus (G'') at low frequencies. Despite the difference in modulus of elasticity (G'), all formulas exhibit a plateau-like behavior at low and mid frequencies. These data show that the elastic modulus (G') and complex viscosity ($|\eta^*|$) are stable as a function of angular frequency (w), **Figure *5***. One study of Tripathi S. shows that the fact that there is a constant and almost frequency-independent response is due to the droplets being tightly interconnected. At low frequencies, the overall response of the sample should dominate as the time scale becomes larger and the droplet packing remains stiff and elastic. However, at higher angular frequencies, this behavior is not directly related to the stiffness of the droplet packing, since the sample reacts only locally and increases the G' value due to the shorter timescale [32].

Regarding formula 1, with an initial elastic modulus (G') of 1108 Pa and a crossover point around 499.7 rad/s (79 Hz), it has the lowest plateau. After 3 months, however, the G' and complex viscosity ($|\eta^*|$) analyses showed little variation up to the crossover point. Regarding formula 2, even with a low elasticity modulus at 804.0 Pa, the results show that at day 1 as at day 90, the two graphs have the same behavior without of a crossover point. A feature of stability at high frequencies, even though formula 2 does not have a very high elastic modulus (G') compared with the other formulas. Formula 3, with an elastic modulus (G') three times greater than formula 2, has the same behavior on day 1 and on day 90, without a crossover point. The difference between formula 3 and formula 2 lies in the process and the nature of the emulsifier. Formula 3 had a higher speed at 1200 rpm, accompanied by a low flow rate of 11.33 g/min with the emulsifier Tri(Polyglyceryl-3 Lauryl) hydrogenated trilinoleate, while formula 2 had a lower speed, at 600 rpm with a higher flow rate, in the presence of the emulsifier

Polyglyceryl-4 Diisostearate/ Polyhydroxystearate/ Sebacate. All three parameters had an effect on product viscosity, but both showed stable behavior. Formula 4 is very similar to formula 3, with an elastic modulus (G') of 3105 Pa, and no crossover point. The difference between the two formulas lies in the different emulsifiers used. Formula 5 showed a low elasticity modulus (G'), with a crossover point at 499.7 rad/s (79Hz), but the same behavior after 3 months, with no major changes. Finally, formula 6 showed an elastic modulus at around 2196 Pa, with a G'=G'' at the end of 100 Hz. Concerning the complex viscosity ($|\eta^*|$), which is the value ratio of the complex shear modulus $|G^*|$ and the angular frequency (w), the data show no significant changes between day 1 and day 90 for the 5 formulas. This information is shown in **Table VII** and **Figure 5**. Formulas at small frequencies (1 Hz) behave with an initial viscosity between 500 Pa. s and 130 Pa. s and lose their viscosity considerably as the frequency increases. This data represents the total resistance of the HIPE and is the result of a combination of viscous and elastic resistance. The decrease in ($|\eta^*|$) as frequency increase is mainly due to the increased energy dissipation within the HIPE sample, which reduces encumbrance.

In conclusion, most formulas show signs of stability due to the repeatability of their elastic modulus and their complex viscosity after aging (3 months). However, formulas 1, 5, and 6 show to have a force had a few interactions a little less efficient than formulas 2, 3 and 4.

Table VI Results of frequency sweep of elastic modulus (G'), complex viscosity ($|\eta^*|$) and crossover on day 1 and day 90 between 6.28 rad/s (1Hz) and 188.4 rad/s (30Hz) (mean values ± SD).

Formulas	w rad.s^{-1}	G' (Day 1) Pa	| η* | (Day 1) Pa.s	G'(Day 90) Pa	| η* | (Day 90) Pa.s
1	6,28 (1Hz)	1107,7 ± 31,5	176,8 ± 5,0	914,6 ± 30,1	149,4 ± 4,8
	31,4 (5Hz)	1205,3 ± 4,8	38,5 ± 1,1	1013 ± 19,1	32,8 ± 1,5
	62,8 (10Hz)	1257,3 ± 5,8	20,4 ± 0,4	1101 ± 5,7	17,9 ± 1,1
	188,4 (30Hz)	1274,7 ± 2,2	6,5 ± 0,8	1410 ± 73,5	8,7 ± 0,5
2	6,28 (1Hz)	804,0 ± 163,5	128,1 ± 26,0	942,8 ± 63,1	150,1 ± 10,0
	31,4 (5Hz)	847,2 ± 170,2	27,0 ± 5,4	990,1 ± 56,5	31,5 ± 1,8
	62,8 (10Hz)	900,0 ± 167,5	14,5 ± 2,7	1036,5 ± 46,0	16,7 ± 0,7
	188,4 (30Hz)	1096 ± 180,4	7,0 ± 1,1	1155,0 ± 25,5	7,4 ± 0,2
3	6,28 (1Hz)	2857,7 ± 278,5	455,4 ± 44,4	2783,5 ± 243,8	443,4 ± 38,8
	31,4 (5Hz)	3015,7 ± 277,0	95,9 ± 8,8	2874,6 ± 239,9	91,3 ± 7,6
	62,8 (10Hz)	3015,7 ± 257,7	50,1 ± 4,1	2802,8 ± 224,5	45,0 ± 3,6
	188,4 (30Hz)	3380,0 ± 99,2	21,6 ± 0,7	2693,8 ± 69,2	17,2 ± 0,5
4	6,28 (1Hz)	3104,7 ± 130,4	494,2 ± 20,76	2745,5 ± 106,8	437,0 ± 17,0
	31,4 (5Hz)	3143,7 ± 126,8	99,7 ± 4,02	2778,5 ± 101,1	88,2 ± 3,2
	62,8 (10Hz)	3199,0 ± 119,6	51,3 ± 1,91	2836,0 ± 87,7	44,5 ± 1,4
	188,4 (30Hz)	3401,0 ± 72,3	21,6 ± 0,46	2978,0 ± 21,2	23,9 ± 0,2
5	6,28 (1Hz)	1170,0 ± 72,1	186,3 ± 11,5	1048,9 ± 60,3	167,1 ± 9,6
	31,4 (5Hz)	1211,0 ± 73,5	38,5 ± 2,3	1091,3 ± 53,4	34,8 ± 1,7
	62,8 (10Hz)	1243,5 ± 65,8	20,1 ± 1,1	1132,7 ± 40,7	18,3 ± 0,7
	188,4 (30Hz)	1231,8 ± 2,1	8,0 ± 0,0	1205,0 ± 50,3	7,8 ± 0,3
6	6,28 (1Hz)	2195,5 ± 119,5	349,5 ± 19,0	2305,0 ± 178,4	367,0 ± 28,4
	31,4 (5Hz)	2252,0 ± 108,9	71,5 ± 3,5	2355,0 ± 174,2	74,8 ± 5,5
	62,8 (10Hz)	2321,5 ± 84,2	37,3 ± 1,4	2409,0 ± 158,1	38,7 ± 2,5
	188,4 (30Hz)	2623,5 ± 61,6	16,7 ± 0,3	2538,3 ± 44,4	16,2 ± 0,3

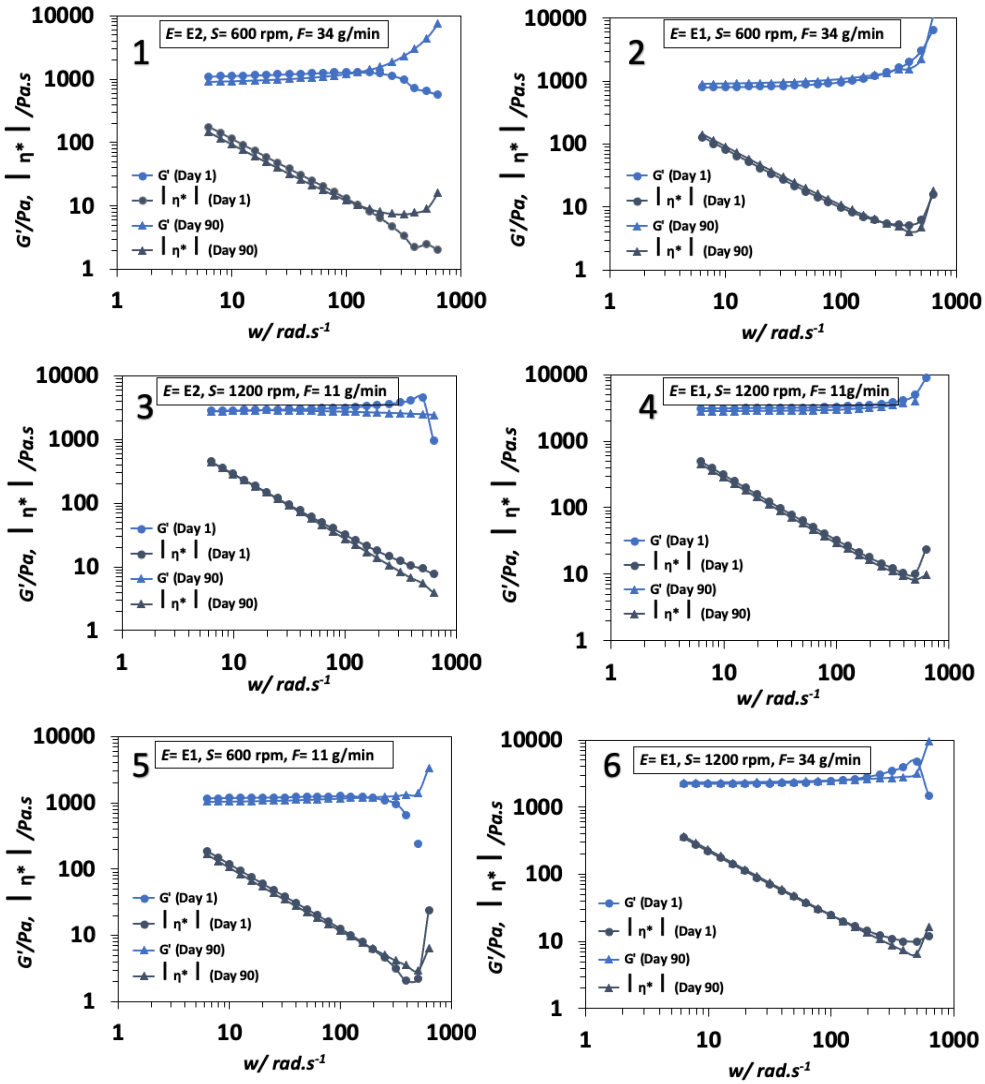


Figure 5 Comparison of frequency sweep curves on Day 1 and Day 90. With plateau behavior of elastic modulus (G') at low and medium frequencies.

Flow curves

Consistent with increasing shear rate, the sample tends to flow. A shear-thinning character for non-Newtonian samples. One of the importance aspects of this test is to be able to verify their ability to lose their viscosity level during flow and limit process losses and ease of coating [32]. At low stress values, HIPEs generally behave like elastic solids, while at stresses above their yield point, they exhibit viscous shear-thinning behavior [33]. According to Mason, the elasticity present in HIPEs is the result of the compressed nature of the droplets, which derives from the high-volume fraction of the internal phase, thus storing interfacial shear energy by deforming their interfaces [34]. Another important factor is the presence of thixotropy during filling, as the cream passes through valves and undergoes high pressures; if it is thixotropic, its recovery time must be ascertained beforehand to ensure that the consumer will find the expected formulation. For example, experiments involving oscillation over time after a strong disturbance will give an idea of the time required for G' to return to its initial value. Among other things, thixotropy will also provide valuable information, such as how easy it is to get the product out of the pump and how comfortable application is.

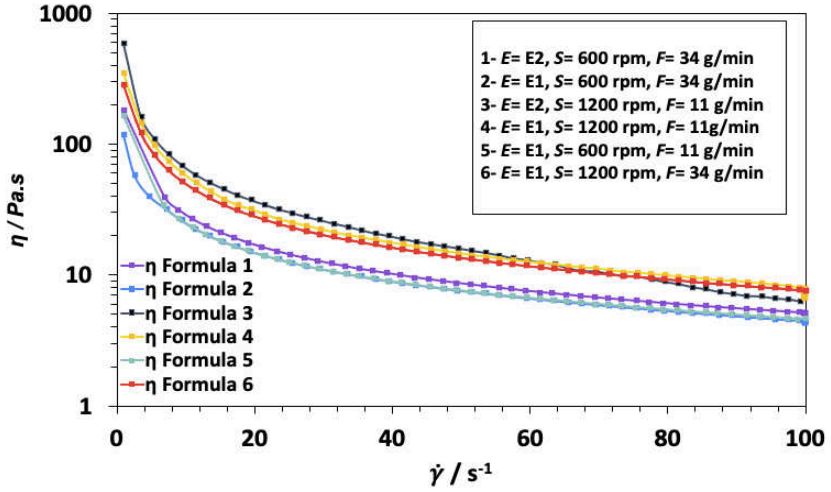


Figure 6 Comparative results between the 5 formulas with flow analysis, viscosity (η) versus shear ($\dot{\gamma}$) between 0 s^{-1} to 100 s^{-1}. Formulas 3, 4 and 6 with higher viscosity at the beginning of the shear curve, and formulas 1, 2 and 5 with lower viscosity at the beginning of the curve.

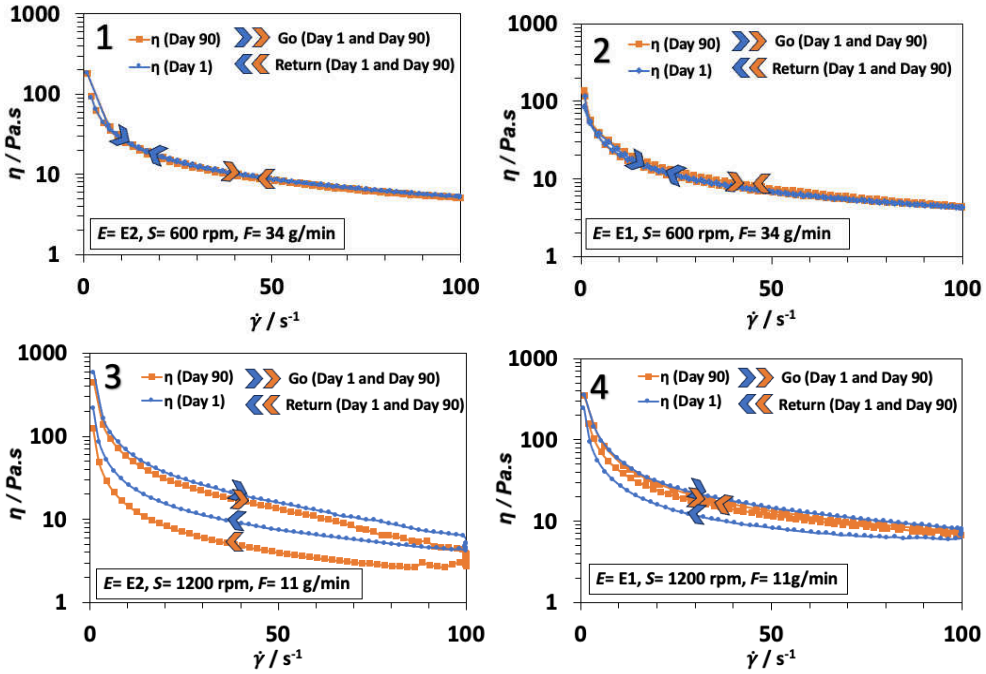
The analyses were performed in loop form. A descending curve (go) and an ascending curve (return). The first part analyzed was the behavior of viscosity (η) during the first downward curve (go), with all HIPE formulas showing shear-thinning behavior. Formulas 3, 4 and 6 show higher viscosity than formulas 1, 5 and 2, as already observed in the previous frequency sweep test **Figure *6***.

We observed the presence of two groups with different viscosities. High viscosity formulas include 3, 4 and 6, while low viscosity formulas include 1, 2 and 5. The common factor in the first group is the speed at 1200 rpm, and in the second group, it is the speed at 600 rpm. Therefore, we can conclude that speed directly influences viscosity. As we can see in **Figure 6**.

Stability was then analyzed by comparing viscosity on day 1 and day 90. The results show that formulas 1, 2, 5 and 6 have a very stable behavior, with a small deviation of the mean absolute viscosity between day 1 and day 90 between 0.4 and 1.6. This means that the downward (go) curve on day 1 is the same as on day 90. With a very small difference. On the other hand, formulas 3 and 4 have a slightly greater viscosity deviation at around 5.1 and 6.2. This information is shown in **Table VII** and **Figure *7***.

Regarding thixotropic behavior on day 1, the entire loop was analyzed, the descending (go) curve and the ascending (return) curve. HIPEs 3 and 4 have a well-defined thixotropic behavior with a hysteresis loop. This means that these are formulas which, after undergoing significant shearing, successfully return to their initial viscosity state. The larger the loop, the greater the thixotropy, as can be seen on HIPE 3 and 4. Even though Formula 3 has almost the same absolute deviation (18,8 and 19,2) in terms of thixotropy on day 90, the curve shows a deviation or shift compared to the curve on day 1 (5,1). There is a decrease in viscosity. Similarly, formula

4 on day 90 shows a decrease in thixotropy, indicating an evolution in the structure 90 days later. Another characteristic of thixotropic formulations is their "gel-like" character, which was observed during oscillation tests (stress sweep). The only difference between these two formulas is the nature of the emulsifier. Mixing speed and delivery rate are the same at 1200 rpm and 11 g/min. A high mixing speed with a low incorporation rate. HIPEs 1, 2, 5 and 6, on the other hand, don't behave in this way: the descending curve is the same as the ascending one. HIPEs 1, 2 and 5 showed no change on day 1 and day 90. This is because on day 1 and day 90, the curves follow the same paths, as shown in **Figure** *7*. On the other hand, formulas 3, 4 and 6 have had changes, as shown in **Table VII.**



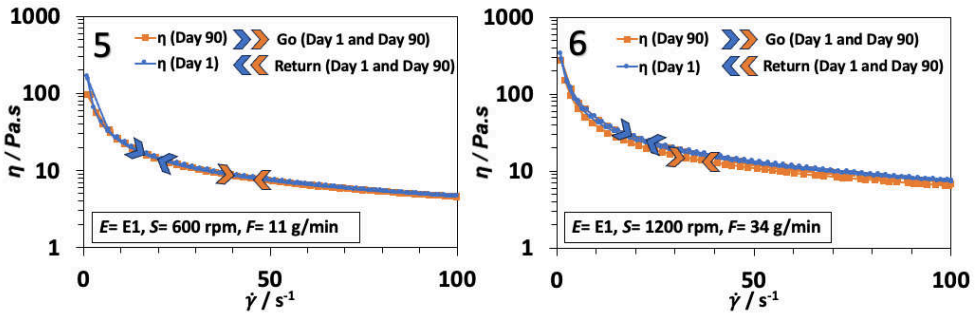


Figure 7 Comparison of flow curves (go and return) on day 1 (blue) and day 90 (orange). Results show the presence of thixotropy for formulas 3 and 4 and the absence of thixotropy for formulas 1, 2, 5, and 6.

Table VII Flow results for stability with mean absolute deviation of viscosity between day 1 and day 90. And thixotropy with the difference in deviation between the ascending curve and the descending curve, for day 1 and day 90.

Formulas	Stability	Thixotropy		
	Day 1 and Day 90	Day 1	Day 90	Day 1 and Day 90
	Mean absolute deviation η	Mean absolute deviation η (go and return)	Mean absolute deviation η (go and return)	Thixotropy
1	0,4	3,0	3,1	No
2	0,9	1,4	0,8	No
3	5,1	18,8	19,2	Yes
4	6,2	10,8	5,3	Yes
5	1,4	1,9	1,5	No
6	1,6	2,2	4,6	No

Challenge Test

Challenge tests are analyzed based on two criteria, known as Criteria A and Criteria B. The main difference between these two criteria is the level of demand. To meet the requirements of Criteria A, a logarithmic reduction of the bacterial population is required as early as day 7 (logarithmic reduction of 10^3), whereas Criteria B only requires a logarithmic reduction on day

14 [23]. Ideally, a product should meet both A and B criteria. The acceptance criteria are shown in **Table VIII** below.

Table VIII Challenge Test (NF EN ISO 11930) acceptance for criteria A and B.

Challenge Test	Logarithmic reduction							
	Bacteria			***Candida albicans***			***Aspergillus brasiliensis***	
	T7	T14	T28	T7	T14	T28	T14	T28
Criteria A	>=3	>=3 and NI	>=3 and NI	>=1	>=1 and NI	>=1 and NI	>=0	>=1 and NI
Criteria B	/	>=3	>=3 and NI	/	>=1	>=1 and NI	>=0	>=0 and NI

NI: no increase in the number of viable microorganisms compared with the previous reading.
/: Analysis not performed
In this test, a deviation range of 0.5 log is acceptable.

Up until the seventh day, most formulations have difficulty resisting bacteria. Only formula 4 (in purple) achieves a significant reduction. On the other hand, from the fourteenth day, other formulations (such as 2 in pink and 5 in yellow) also successfully reduce the presence of these bacteria. Moreover, regarding mold, no problems are observed for all six formulations. Fig.8

In line with the requirements of the challenge test, the results show that the HIPEs w/o had surprising results. After 1 month of analysis, HIPE 1 (red), 3 (blue) and 6 (green) do not show significant reductions in microorganisms for the challenge test, and therefore no protection; they were A and B criterion negative. However, HIPEs 2 (pink) and 5 (yellow) are considered partially protected, since the data show that both formulas meet criterion B, but do not meet criterion A. On day 7, the 3 bacterial strains did not achieve the expected logarithmic reduction, as can be seen in **Figure *8***.

For this reason, these two formulas do not meet criterion A. This result is already interesting, as the formulas are preservative-free and 88% aqueous phase. Finally, formula 4 proved to be both criterion A positive and criterion B positive. On day 7, all bacterial strains showed a very significant logarithmic decrease of <1. All results are detailed in **Table IX**.

Table IX Challenge test results (EN ISO 11930) for the 6 HIPEs.

Type of analysis	Parameters analyzed	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6	Units
Initial microbiological cleanup	Count of aerobic mesophilic flora T0	<10 ISO 21149	140 ISO 21149	<10 ISO 21149	<10 ISO 21149	<10 ISO 21149	<10 ISO 21149	UFC/g
	Count of yeasts and molds T0	<10 ISO 16212	<10 ISO 16212	<10 ISO 16212	<10 ISO 16212	<10 ISO 16212	<10 ISO 16212	
Challenge test NF EN ISO 11930	***Staphylococcus aureus T0***	5,25	5,25	5,25	5,25	5,64	5,36	log UFC/g (ml)
	Staphylococcus aureus T7	<1	3,1	<1	<1	2,9	2,65	
	Staphylococcus aureus T14	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
	Staphylococcus aureus T28	<1	<1	<1	<1	<1	<1	
	Escherichia coli T0	5,31	5,31	5,31	5,31	5,43	5,44	log UFC/g (ml)
	Escherichia coli T7	5,56	2,49	4,53	<1	4,3	5,33	
	Escherichia coli T14	5,6	<1	4,89	<1	<1	5,21	
	Escherichia coli T 28	5,32	<1	4,57	<1	<1	5,44	
	Pseudomonas aeruginosa T0	5,39	5,39	5,39	5,39	5,85	5,57	log UFC/g (ml)
	Pseudomonas aeruginosa T7	5,55	5,31	5,03	<1	2,84	2,2	
	Pseudomonas aeruginosa T14	5,57	<1	4,83	<1	<1	<1	
	Pseudomonas aeruginosa T28	5,52	<1	4,45	<1	<1	<1	
	Candida albicans T0	4,72	4,72	4,72	4,72	5,88	4,76	log UFC/g (ml)
	Candida albicans T7	3,96	3,68	3,49	3,26	3,73	3,75	
	Candida albicans T14	3,45	2,62	2,3	2,52	3,16	3,26	
	Candida albicans T28	3,44	1,65	1,97	2,06	2,5	2,31	
	Aspergillus brasiliensis T0	4,19	4,19	4,19	4,19	4,00	4,00	log UFC/g (ml)
	Aspergillus brasiliensis T7	3,17	3,69	3,30	3,14	3,1	4,63	
	Aspergillus brasiliensis T14	2,41	3,37	2,5	2,47	2,54	2,27	
	Aspergillus brasiliensis T28	2,35	2,36	2,24	2,16	2,31	1,7	
	Conclusion Criteria A	**Negative**	**Negative**	**Negative**	**Positive**	**Negative**	**Negative**	
	Conclusion Criteria B	**Negative**	**Positive**	**Negative**	**Positive**	**Positive**	**Negative**	

These results show that the combination of 3 parameters (emulsifier type, rotation speed, incorporation rate) is what makes one formula more protected than another. This information is shown in **Table III**.

For example, HIPE 6 has the same emulsifier, the same rotation speed, just a different incorporation rate, and only this change makes one formula negative on both criteria. And if we maintain the incorporation rate and the rotation speed while changing the emulsifier, the same

situation occurs. The formula is negative for both criterion A and criterion B, as shown on HIPE 3.

On the other hand, if the type of emulsifier is the same and the incorporation rate is also the same, but the rotation speed is changed, we can already see that the formula is more protected. It is negative criterion A but positive criterion B. We can say that the emulsifier and the incorporation rate have more influence than the speed of rotation, for example, for total protection of the formula. This means satisfying criteria A and B. This information is shown in **Table IV**.

In conclusion, formula 4, even without the presence of listed preservatives, complies with the quantitative and qualitative limits acceptable for finished cosmetic products. This is a "self-preserving" formula, without preservatives as described in Annex V of the regulations.

It's important to note that the other 5 formulas are more resistant to mold than bacteria. They have demonstrated difficulty in lowering bacterial numbers (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) over time. To be criterion A positive, they need more time for the reduction of microorganisms. Therefore, for formulas 2 and 5, which are criterion B positive, the preservative indicated will tend to be preservatives with a broad spectrum of activity for bacteria.

One hypothesis may come from the difference in nature between emulsifiers 1 and 2: emulsifier 1 contains a polymer.

Due to its large size and spatial conformity, the presence of this polymer can give interfacial configurations different from a simple surfactant. It can sit like a comb on the interface and may act as a bilayer throughout the droplets. Another reason perhaps, due to the nature of this polymer, is that it could prevent the development of bacteria as well as disrupt and prevent microorganisms from clinging to the surface [35].

Although the nature of the emulsifier has a major influence on the “challenge test” results, we also found that the processes play an equally important role. This could be explained by the different configurations of the droplets as a function of the various speeds and flow rates of incorporation. It was therefore possible to conclude that the protection against microorganisms depends on how the structure of this network is formed.

All of these factors combined can create a hostile environment for the proliferation of microorganisms.

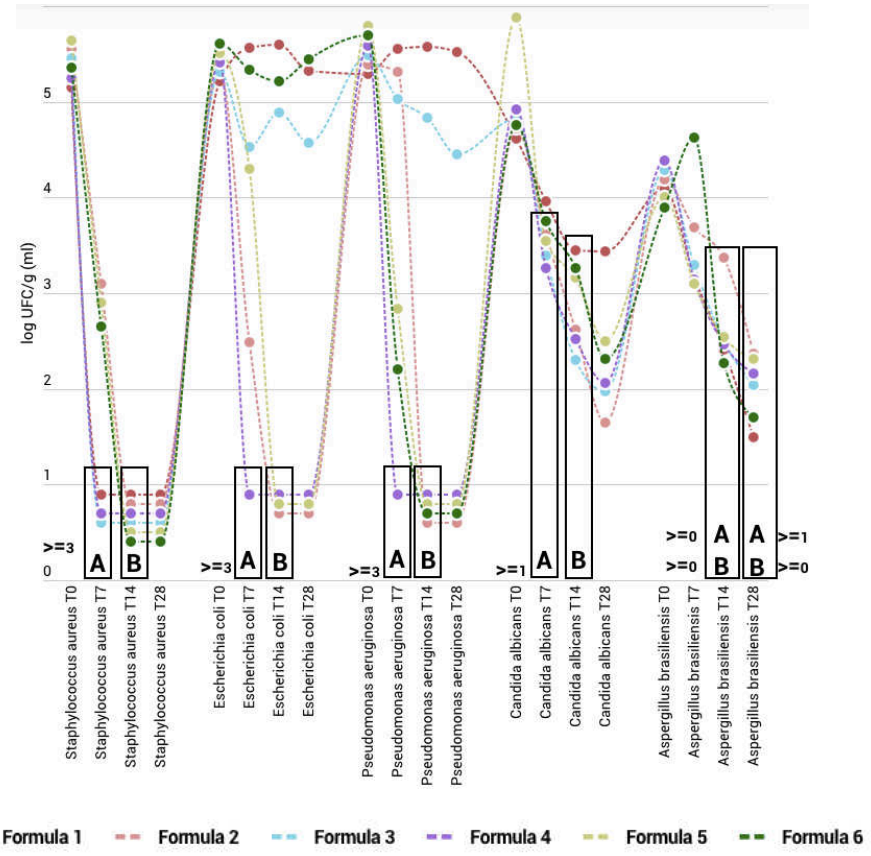


Figure 8 Diagram illustrating the results of the challenge test (criteria A and B) according to the decrease in microorganisms over time (days 0, 7, 14 and 28). For bacteria, a reduction value of >= 3 is expected; for *Candida albicans,* a reduction of >=1 and for *Aspergillus brasiliensis,* a reduction of >=1 (criterion A) or >=0 (criterion B). Each formulation is identified by a distinct color.

Texture characteristics with PCA

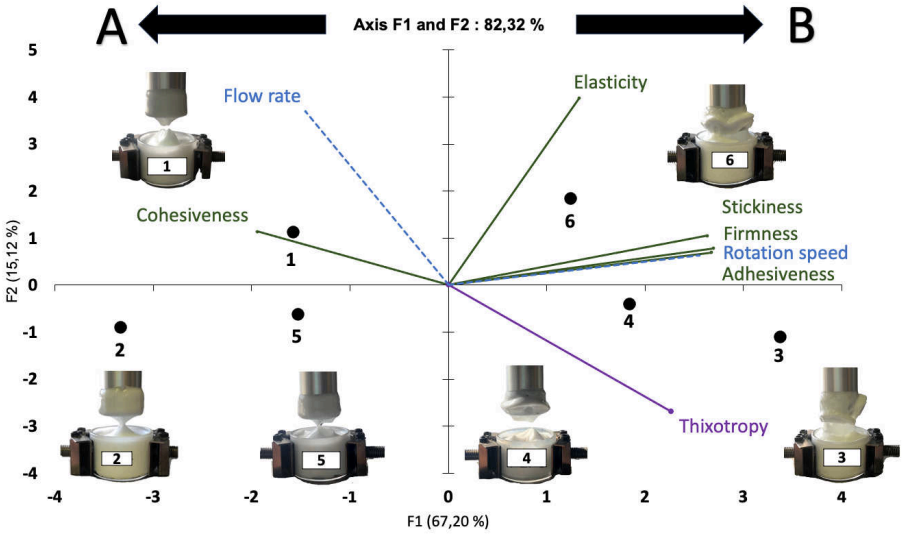
Based on the results of a triplicate texture profile analysis (Table III), the visualization method of principal component analysis (PCA) was possible. It shows that there are two main groups of different textures. Group A on the left, with formulas 1, 2 and 5, and Group B on the right, with formulas 3, 4 and 6. The two groups are opposites in terms of textures. Looking closely at the right-hand side of the correlation graph, we can see that because of the acute and very close angles between the axes of firmness, stickiness, adhesion, and speed, all three axes are correlated. This means that if a formula is firm, it will be sticky because these axes are correlated, and vice versa. Another interesting piece of information is that these three texture characteristics are also linked to rotation speed. This means that the higher the speed, the firmer, stickier, and more adhesive the formula tends to be, for example. In the same vein, thixotropy and elasticity are also influenced, but to a much lesser extent. The smaller the acute angle, the greater the correlation and the larger the acute angle, the less important the correlation.

Another piece of information is that the elasticity and thixotropy axes form a 90° angle, and are therefore considered independent, meaning they are not correlated.

If we now look at the left-hand side of the graph, we see that the formulas are at the opposite of the firmness, stickiness, and adhesion axes. Formulas tend to have a light, non-sticky, non-adhesive cream texture. These formulas are distinguished by their cohesive power, as they are close to the cohesive axis. As the cohesion axis forms an obtuse angle with the other axes (firmness, stickiness, and adhesion), they are negatively correlated. This means that a formula cannot be very firm and cohesive.

Another important data point concerns the incorporation flow axis and the thixotropy axis. As they are completely opposite, they are negatively correlated. This means that a formula can be thixotropic but must have a slow incorporation rate.

In summary, Group B formulas are characterized by firm, sticky, adhesive, adherent textures, with a tendency towards thixotropy for formulas 3 and 4. Group A formulas are characterized by less firm, sticky, and adherent textures without thixotropy. All this information can be seen while the different textures are shown in **Figure 9**.



1- E= E2, S= 600 rpm, F= 34 g/min **3- E= E2, S= 1200 rpm, F= 11 g/min** **5- E= E1, S= 600 rpm, F= 11 g/min**

2- E= E1, S= 600 rpm, F= 34 g/min **4- E= E1, S= 1200 rpm, F= 11g/min** **6- E= E1, S= 1200 rpm, F= 34 g/min**

Figure 9 The results of the principal component analysis (PCA) graph show 2 main texture groups (group A and group B). And the correlations between texture (texture analysis profile, rheology) and process (incorporation rate and speed).

Experimental Design

Effects plots

Coefficient values can be represented in an effects plot that shows the magnitude and sign of each effect on the variable. Effects in red are statistically significant effects, whether positive or negative. In these plots, coefficient importance is calculated from the variance represented by the vertical dotted line. All coefficients exceeding this limit are considered favorable. This means that this variable influences the answer. All coefficients that do not exceed or come close to this limit are considered unfavorable.

Texture analysis profile (TPA) and Rheology

Regarding texture, the results show that a rotation speed of 1200 rpm is a favorable variable for firmness, adhesion, and stickiness. However, other parameters such as incorporation rate and emulsifier type had no effect on the test. The results of the experimental design corroborate the results of the principal component analysis (PCA). This shows and explains why in the principal component analysis (PCA), speed, firmness, adhesion, and stickiness variables are correlated.

Concerning thixotropy, there is no favorable variable linked to it. However, there are trends, i.e., the presence of emulsifier 2 favors thixotropy, as does speed: the higher the speed, the greater the tendency towards thixotropy. These results are also reflected in the principal component analysis (PCA). This can be seen in **Figure *9***.

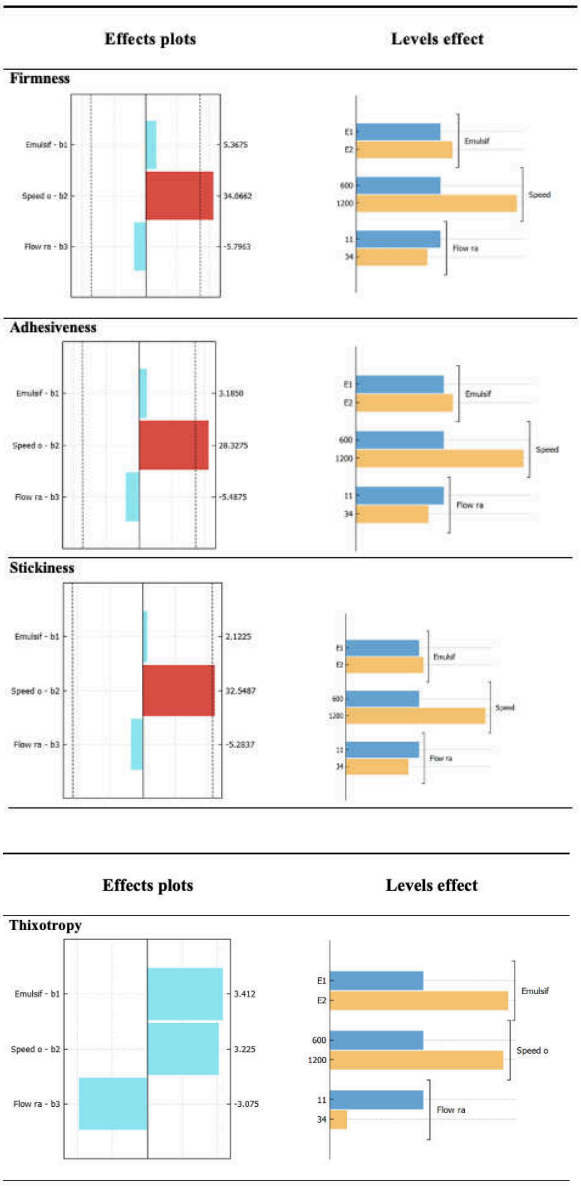


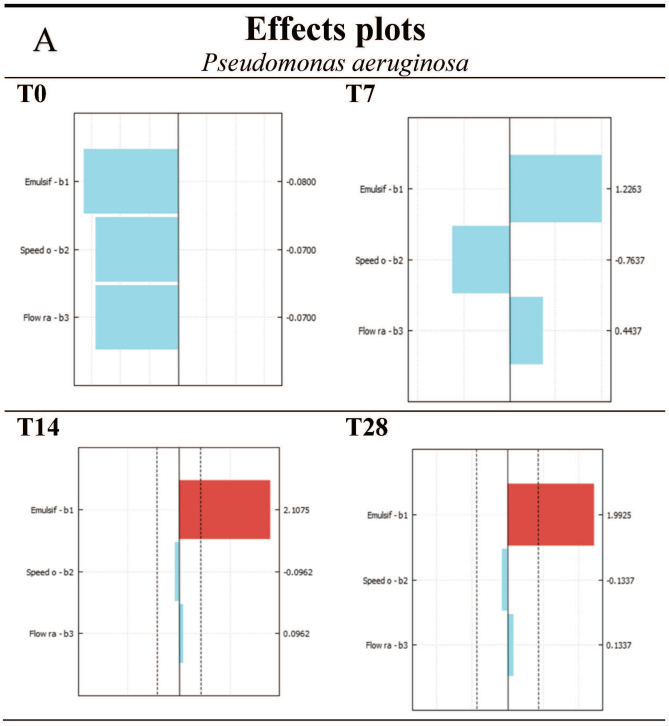
Figure 10 Effects plots and main levels effects of the analysis of firmness, adhesiveness, stickiness and thixotropy.

Microbiological Control - Challenge Test

For the effects plots on the "challenge test", of all the microorganisms analyzed, only *Pseudomonas aeruginosa* showed a significant variation of the quantity of microorganisms.

The presence of emulsifier 1 (E1) led to a significant decrease from day 14 (T14). But it's important to note that even from day 7 onwards, a strong downward trend in bacterial counts can already be observed **in Figure 11.** A shows the counts as a function of time.

Although the other micro-organisms (bacteria and molds) did not show significant variations, they showed a tendency to decrease in quantity when emulsifier 1 (E1) was used, **Figure 11**.





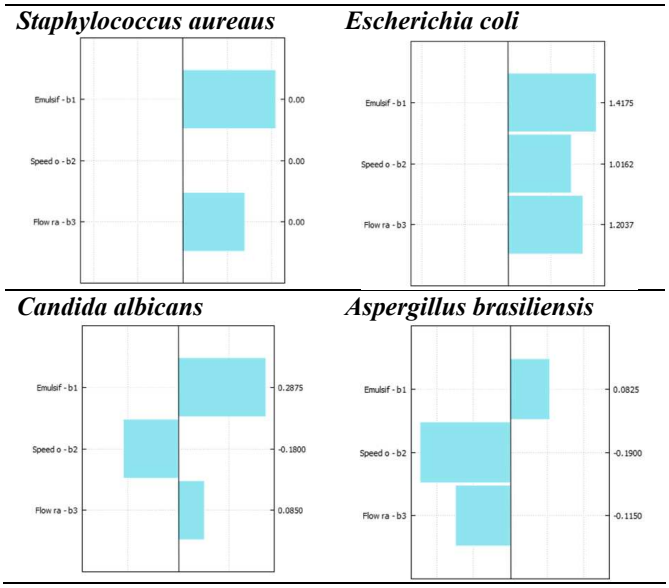


Figure 11 A- Effects plots of *Pseudomonas aeruginosa* counts at T0, T7, T14 and T28. With the significant effect, of the nature of emulsifier, from T14 in red. **B-** Even if on *Staphylococcus aureaus, Escherichia coli, Candida albicans* and *Aspergillus brasiliensis* we do not have a significant effect, a trend is observed on the emulsifier.

Conclusion

In conclusion, rheological analyses strongly affirmed the formulations' unwavering stability, with results remaining virtually unchanged from day one to the following 90 days. Examination of the stress scan revealed that the formulations, in particular HIPEs 3, 4 and 6, maintained a constant resistance to applied stress, forming a plateau in the stress range 0.1 to 100 Pa, without exhibiting any crossover between elastic modulus (G') and viscous modulus (G"). This stability was confirmed by the observation that the elastic modulus (G') and viscous modulus (G") curves, as well as the delta tangent, showed minimal variation between fresh samples and those aged for 90 days.

In addition, the frequency sweep analysis revealed the presence of a plateau in the elastic modulus, indicating stability at different frequencies, a behavior that persisted even after 90 days. Most formulations showed no crossover between G' and G", except for two formulations showing a crossover at 79 Hz.

Concerning viscosity, the flow analysis showed little difference between measurements taken on day one and those taken on day 90.

In summary, our results indicate that the variables, initially identified as stable in our first series of experiments based on the experimental design described in D.T. Souza's study 2023, retain their stability both on day one and after 90 days, confirming their robustness and potential for long-term application. These findings provide a solid basis for the development of new products.

In addition, as part of the texture characterization, we carried out a principal component analysis (PCA) which corroborated the results obtained in our initial experimental design. From a pedagogical point of view, we identified two main categories of texture. One group is characterized by lighter textures, with reduced adhesion, lower viscosity and the absence of thixotropy. The other group was distinguished by highly viscous, sticky and adhesive formulations, with the notable possibility of exhibiting thixotropic behavior. Importantly, we were able to establish a visual correlation between the presence of thixotropy and the nature of texture in the same graph.

In conclusion, our observations also revealed a significant correlation between rotation speed at 1200 rpm and texture parameters such as cohesion, adhesion and firmness. This finding underlines the central importance of rotation speed at 1200 rpm as the main parameter influencing the textural characteristics of our formulations.

With regard to the challenge test, we were able to verify that the variables essential for obtaining favorable A and B criteria are linked to the nature of the emulsifier and the flow rate.

Finally, this study demonstrated the effective use of data science, combined with a Design of Experiments (DOE) approach and Principal Component Analysis (PCA). These two methods combined can optimize the creation and development of HIPEs (water-in-oil). This

optimization encompasses various aspects, including physico-chemical and microbiological stability, as well as the texture profiles desired by consumers.

This study therefore allowed us to offer “white” bases to produce water-in-oil HIPEs formulas, favoring the use of a maximum of ingredients of natural origin, according to a simple process, without heat, in keeping with consumer-health standards, without preservatives or with a low concentration thereof, and with a variety of textures. These formulas open promising avenues for the incorporation of future hydrophilic active ingredients for industrial applications in cosmetics or pharmaceuticals.

Acknowledgements

Expressing gratitude, our appreciation goes to Protisvalor (Marseille, France) and Capital Joëlle Ciocco Paris (Paris, France) for their financial support. We also extend our thanks to the companies that supplied the raw materials, including Merck KGaA (Darmstadt, Germany) IeS LABO (Oraison, France), COOPER (Melun, France). Gattefossé (Saint-Priest, France), EVONIK personal care (Ham, France), CRODA (Montigny-le-Bretonneux, France). SEPPIC (Paris, France).

Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest related to the content of this article. None of the research was influenced by financial or personal interests, or institutional affiliations that could introduce bias. The authors also confirm that they did not receive any specific funding for this study that could have influenced their findings.

Bibliography

[1] D. T. Souza, «Optimization of a stability and texture on a highly concentrated emulsion water in oil by experimental design,» *International Journal of Cosmetic Science,* 2023.

[2] K. J. Lissant, «A study of medium and high internal phase ratio water/polymer emulsions,» *Journal of Colloid and Interface Science,* vol. 42, pp. 201-208, 1973.

[3] K. J. Lissant, «The geometry of high-internal-phase-ratio emulsions,» *Journal of Colloid and Interface Science,* vol. 22, pp. 462-468, 1966.

[4] I. Masalova et A. Y. Malkin, «A new mechanism of aging of highly concentrated emulsions: Correlation between crystallization and plasticity,» *Colloid Journal of the Russian Academy of Sciences,* vol. 69, pp. 198-202, 2007.

[5] N. Cameron, D. Sherrington et L. Albiston, «High internal phase emulsions (HIPEs) - Structure, properties, and use in polymer preparation.,» *Biopolymers liquid crystalline polymers phase emulsion,* pp. 163-214, 1996.

[6] G. Hongxia, M. Li et C. Ce, «Review of recent advances in the preparation, properties, and applications of high internal phase emulsions,» *Trends in Food Science & Technology,* vol. 112, pp. 36-49, 2021.

[7] T. Zeng, Z. L. Wu, J. Y. Zhu, S. W. Yin, C. H. Tang et L. Y. Wu, «Development of antioxidant Pickering high internal phase emulsions (HIPEs) stabilized by protein/polysaccharide hybrid particles as potential alternative for PHOs,» *Food Chemistry,* pp. 122-130, 2017.

[8] F. Z. Zhou, T. Zeng, S. W. Ying, C. H. Tang, D. B. Yuan et X. Q. Yang, «Development of antioxidant gliadin particle stabilized Pickering high internal phase emulsions (HIPEs) as oral delivery systems and the in vitro digestion fate.,» *Food & Trends in Food Science & Technology,* vol. 9, pp. 959-970, 2015.

[9] J. Su, W. Wang, W. Li, L. Chen, X. Zeng et Q. Huang, «Enhancing the viability of lactobacillus plantarum as probiotics through encapsulation with high internal phase emulsions stabilized with whey protein isolate microgels,» *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* vol. 66, pp. 12335-12343, 2018.

[10] L. Ryan et A. M. Symington, «Algal-oil supplements are a viable alternative to fish-oil supplements in terms of docosahexaenoic acid,» *Journal of Functional Foods,* pp. 852-858, 2015.

[11] T. Yang, J. Zheng et B. S. Zheng, «High internal phase emulsions stabilized by starch nanocrystals,» *Food Hydrocolloids,* vol. 82, pp. 230-238, 2018.

[12] C. Ratscow, C. Meyer, C. Hagens et S. Scheede.Brevet 2014090615, 2014.

[13] V. Hobiger, M. Paljevac et P. Krajnc, «Emulsion Templated Porous Poly(thiol-enes): Influence of Photopolymerisation, Emulsion Composition, and Phase Behaviour on the Porous Structure and Morphology.,» *Polymers,* vol. 14, pp. 1317-1338, 2022.

[14] A. Roso, A. Aubert, S. Cambos, F. Vial et J. Schäfer, «Contribution of cosmetic ingredients and skin care texture to emotions,» *Int J Cosmetic Science,* 2023.

[15] R. Arboretti, R. Ceccato, L. Pegoraro, L. Salmaso et R. Arboretti, «Design of Experiments and machine learning for product innovation: A systematic literature review.,» *Quality and Realiability Engineering International,* vol. 38, pp. 1131-1156, 2022.

[16] R. Fontana, A. Molena et L. Pegoraro, «Design of experiments and machine learning with application to industrial experiments.,» *Statistical Papers,* vol. 64, pp. 1251-1274, 2023.

[17] J. A. Rodrigues, «Machine learning & automation to accelerate formulations for personall care & cosmetics,» *Nanyang Technological University, Singapure,* 2022.

[18] W. Jiangfing, M.A. Salih, M. Elzbieta, A. Mujahib, D. Vladimirovich, D. Vladimirovich et F. Qiancheng, «A Novel Combination of PCA and Machine Learning Techniques to Select the Most Important Factors for Predicting Tunnel Construction Performance,» *Buildings,* vol. 12, p. 919, 2022.

[19] ANVISA, Cosmetic Products Stability Guide, vol. 1, 2004.

[20] R. W., «ImageJ,» *US National Institutes of Health, Bethesda, MA,* 1997.

[21] C. W. Macosko, Rheology: Principles, Measurements, and Applications, New York: VCH Publishers, 1994.

[22] NF EN ISO 21149, Cosmétiques-Microbiologie Dénombrement et détection des bactéries aèrobies mésophiles., 2017.

[23] NF EN ISO 16212, Cosmétiques-Microbiologie Dénombrement des levures et des moisissures., 2017.

[24] NF EN ISO 11930, Cosmétiques-Microbiologie-Evaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique., 2019.

[25] S. Chahboun et M. Maaroufi, «Principal Component Analysis and Machine Learning Approaches for Photovoltaic Power Prediction: A Comparative Study.,» *Applied Sciences,* vol. 11, p. 7943, 2021.

[26] J. J. Droesbeke, J. Fine et G. Saporta, Plans d'expériences: Applications à l'entreprise, Technip, 1997.

[27] D. Montgomery, «Design and Analysis of Experiments,» *Wiley,* vol. 5, 2001.

[28] Azurad, «Intuitive and Powerfull Software for the Construction and Processing of DOE,» 2019. [En ligne]. Available: http://www.azurad.fr/logiciel-plans-experience.php. [Accès le 2023].

[29] R. Cela, M. B. Claeys et R. Phan-Tan-Luu, Comprehensive Chemometrics- Screening Strategies, Elsevier, 2009.

[30] T. Tadros, «Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions,» *Adv. Colloid Interface Sci,* n° %1108-109, p. 227, 2004.

[31] T. Tadros, J. Nestor, C.-T. M. et R. Smits, «Correlation of the longterm physical stability of emulsions, rheological mesurements.,» *Cosmetic Toiletries,* vol. 119(2), p. 67, 2004.

[32] P. Reeve et S. Amigoni, «La Rhéologie. Un outil précieux pour la formulation cosmétique,» *L'actualité chimique ,* pp. 323-324, 2008.

[33] S. Tripathi, A. Bhattacharya, R. Singh et R.Tabor, «Chemical Engineering Science,» vol. 174, pp. 290-301, 2017.

[34] C. F. Welch, G. D. Rose, D. Malotky et S. T. Eckersley, «Rheology of high internal phase emulsion,» *Langumir,* vol. 22, pp. 1544-1550, 2006.

[35] T. Mason, M. D. Lacasse, G. Grest, D. Levine, J. Bibette et D. Weitz, «Osmotic pressure and viscoelastic shear moduli of concentrated emulsions,» *Physical Review E,* vol. 56, pp. 3150-3166, 1997.

[36] Y. D. Tremblay, S. Hathroubi et M. Jacques, «Bacterial biofilms: their importance in animal health and public heath,» *Can J Vet Res.,* vol. 78, pp. 110-6, 2014.

[37] S. Addelman, «Orthogonal Main-Effect Plans for Asymmetrical Factorial Experiments,» *Technometrics,* vol. 4:1, pp. 21-46, 1962.

[38] D. Miller et M. Loffler, «Rheological effects with a hydrophobically modified polymer,» *Colloids ans Surfaces A: Physicochemicam and Engineering Aspects,* vol. 288, pp. 165-169, 2006.

3.3. Discussions et conclusion de l'article 2

En conclusion, les analyses rhéologiques ont confirmé la stabilité des formulations, avec des résultats pratiquement inchangés du premier jour aux 90 jours suivants. L'analyse en balayage de contrainte a révélé que les formulations, en particulier les HIPEs 3, 4 et 6, ont maintenu une résistance constante aux contraintes appliquées, caractérisé par un plateau dans la plage de contrainte de 0,1 à 100 Pa (DVEL), sans présenter de croisement entre le module élastique (G') et le module visqueux (G''). Cette stabilité a été confirmée par le fait que les courbes du module élastique (G') et du module visqueux (G''), ainsi que la valeur de la tangente delta ne présente que minime variation au cours du temps (J+90).

De plus, l'analyse en mode balayage fréquence a montré des valeurs du module élastique (G') supérieur au module visqueux (G''), le module G' restant constant en fonction de la fréquence étudiée même après 90 jours de vieillissement. La plupart des formulations n'ont pas montré de croisement entre les courbes G' et G'', à l'exception de deux formulations montrant un crossover à 79 Hz, représentant une caractéristique liée à la stabilité du produit. En ce qui concerne la valeur de la viscosité apparente, l'analyse rhéologique en mode écoulement a montré peu de différence entre les mesures prises le premier jour et celles prises le 90e jour.

En résumé, nos résultats indiquent que les variables, initialement identifiées comme stables dans notre première série d'expériences basées sur la conception expérimentale décrite dans l'étude de D.T. Souza en 2023, conservent leur stabilité au jour 90. Ils maintiennent leur stabilité à la fois le premier jour et après 90 jours, confirmant leur robustesse et leur potentiel d'application à long terme. Ces constatations fournissent une base solide pour le développement de nouveaux produits.

De plus, dans le cadre de la caractérisation de la texture, nous avons effectué une analyse en composantes principales (ACP) qui a corroboré les résultats obtenus dans notre conception expérimentale initiale. D'un point de vue pédagogique, nous avons identifié deux catégories principales de texture. Un groupe se caractérise par des textures plus légères, avec une adhérence réduite, une viscosité plus faible et l'absence de thixotropie. D'autre part, un autre groupe se distinguait par des formulations très visqueuses, collantes et adhésives, avec la possibilité notable de présenter un comportement thixotrope. Il était important de constater

que nous étions en mesure d'établir une corrélation visuelle entre la présence de la thixotropie et la nature de la texture sur le même graphique.

En conclusion, nos observations ont révélé une corrélation significative entre la vitesse de rotation à 1200 rpm et les paramètres de texture tels que la cohésion, l'adhérence et la fermeté. Ces résultats soulignent l'importance de la vitesse de rotation fixée à 1200 rpm en tant que principal paramètre influençant les caractéristiques texturales de nos formulations. La relation entre la vitesse et la texture semble logique, car une augmentation de la vitesse entraîne un transfert accru d'énergie et une réduction de la taille des gouttelettes, ce qui se traduit par des viscosités plus élevées (Tripathi *et al.*, 2017a).

En ce qui concerne le "Challenge Test", nous avons pu constater que les variables essentielles pour atteindre les critères favorables A et B étaient étroitement liées à la nature de l'émulsifiant et le débit d'incorporation, mais plus précisément, à la nature de l'émulsifiant. Bien que le Plan d'Expérience ne montre pas toujours l'influence pour tous les microorganismes, nous avons observé une nette tendance à la réduction du nombre de microorganismes en présence de l'émulsifiant 1. Une hypothèse peut être reliée à la différence de nature entre l'émulsifiant 1 et 2 ou dû à la structure polymérique dans l'émulsifiant 1. La présence de cette structure polymérique de par son encombrement stérique et sa conformation spatial, peut procurer des configurations interfaciales différentes par rapport à celles d'un tensioactif non polymérique. Il peut se placer à la façon d'un peigne au niveau de l'interface et agir comme une bicouche entre les gouttelettes. Une autre hypothèse, peut être reliée à la nature de ce polymère, et ayant la propriété d'empêcher le développement des bactéries ainsi que de perturber l'interaction entre les micro-organismes et la surface du système de formulation (Hathroubi, 2014).

Même si nous constatons que la nature de l'émulsifiant joue un rôle important dans les résultats du test « challenge test », nous avons également pu mettre en évidence l'influence importante de procédés de fabrication.

Il est possible qu'un plus grand nombre d'essais soit nécessaire pour obtenir une meilleure compréhension du phénomène.

Enfin, cette étude a démontré que l'utilisation efficace de l'analyse des données, combinée à une approche de conception expérimentale (DOE) et à une analyse en composantes principales (ACP), peut optimiser la création et le développement de HIPEs (eau-dans-huile). Cette optimisation englobe divers aspects, notamment la stabilité physico-chimique et microbiologique, ainsi que les profils texturaux souhaités par les consommateurs.

Cette étude a donc été en mesure de proposer des « châssis formulaire » pour les formules de HIPEs eau-dans-huile, en mettant l'accent sur l'utilisation d'un maximum d'ingrédients naturels, en employant un processus simple et sans chauffage, en respectant la sécurité des consommateurs, sans conservateurs et avec une variété de textures.

Ces formules ouvrent des perspectives prometteuses pour l'incorporation de futurs actifs hydrophiles et ensuite une application cosmétique ou pharmaceutique. Cet aspect dans la partie Approche Industrielle.

4. APPROCHE INDUSTRIELLE

4.1. Objectif

Après avoir identifié six formules distinctes et obtenu des résultats variés liés aux tests microbiologiques et des textures, une formule a été choisi à la suite des résultats spécifiques concernant les propriétés de protection microbiologique démontrées lors du « Challenge Test », à savoir la formule 4. Dans cette étude on va l'appeler « châssis formulaire » ou « formule base ».

Après la sélection de la « formule base » ou « châssis formulaire » de la ETC eau dans huile, ainsi que des actifs choisis en début d'étude, à savoir la L-carnosine et la L-carnitine, la prochaine étape consiste à incorporer ces actifs à des proportions différentes, soit isolément soit en mélange, afin de vérifier si la stabilité, la texture et la protection microbiologique demeurent constantes. Il est important de rappeler que l'objectif fixé par l'équipe industrielle (coparticipation) était de développer un soin visage « anti-âge » innovant. Il est donc indispensable de vérifier que l'introduction de molécules actives ne perturbent pas les paramètres de texture, la stabilité physico-chimiques ou l'effet protecteur du produit vis-à-vis des microorganismes. Le résumé est sur la ***Figure 50***.

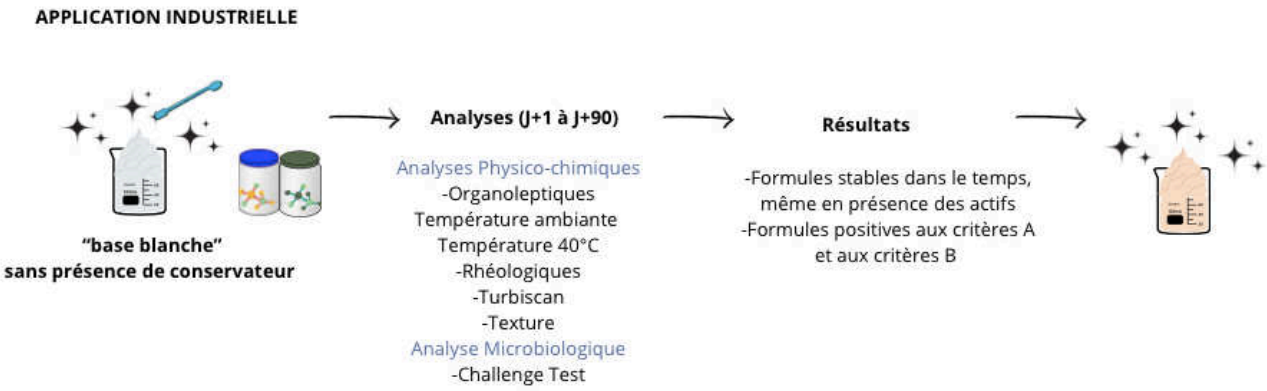


Figure 50 : *Résumé de l'application industrielle.*

4.2. Matériel et méthode

En ce qui concerne le matériel et les méthodes de cette section, il est essentiel de souligner que nous avons appliqué les mêmes méthodes que celles décrites dans l'article 1 et l'article 2. Les analyses réalisées dans cette section sont : l'analyse organoleptique, l'analyse de texture, la

rhéologique et l'analyse de diffusion statique multiple de la lumière (SMLS). Cette approche vise à garantir une méthodologie uniforme, facilitant ainsi une comparaison précise des résultats. Cette section est focalisée sur la formulation avec les actifs.

La formulation choisie pour l'étude a été la formule 4, initialement identifiée comme le « châssis formulaire » de notre étude. La stratégie a été d'étudier les effets des concentrations minimales et maximales de chaque actif, ainsi que leurs associations. Cela a conduit à la création de 6 formulations au total, comme indiqué ci-dessous ***Tableau 30***. La quantité minimale de L-carnosine a été fixée à 0,05%, tandis que sa concentration maximale a été établie à 0,2%. En ce qui concerne la L-carnitine, la concentration minimale a été fixée à 2%, avec un maximum de 5,0%.

Formules	Actifs	L- Carnosine	L-Carnitine
CAS min	Carnosine min	0,05%	0,0%
CAT min	Carnitine min	0,0%	2,0%
CAS + CAT min	Carnosine min + Carnitine min	0,05%	2,0%
CAS max	Carnosine max	0,2%	0,0%
CAT max	Carnitine max	0,0%	5,0%
CAS + CAT max	Carnosine max + Carnitine max	0,2%	5,0%

Tableau 30 : *Les 6 formules avec concentrations différents des actifs (L-carnosine et L-carnitine).*

Les pourcentages des phases externes et internes ont ainsi été fixés : 12% pour la phase externe, 88% pour la phase interne. Toutes les formules ont été réalisées à froid, sans chauffage, et avec un taux d'incorporation maîtrisé. Les ingrédients et les pourcentages du « châssis formulaire » sont développés dans l'article 2.

La fabrication des émulsions très concentrées sont divisés en 4 étapes, ***Figure 51*** :

(a) Étape 1 : Préparation phase aqueuse

En premier lieu, la quantité d'eau requise est mesurée et ajoutée à un bécher. Ensuite, l'actif est introduit dans l'eau à température ambiante en utilisant un agitateur à hélice VMI-Rayneri Turbotest V2004 (Montaigu, France) réglé à 1200 rpm. Le mélange est agité jusqu'à une incorporation complète dans l'eau. Une fois que l'actif est solubilisé, le sel et la glycérine sont ajoutés, et le mélange est maintenu en agitation constante à 1200 tours par minute. Une solution transparente est obtenue à température ambiante. La phase aqueuse est ensuite conservée.

(b) Étape 2 : Préparation phase huileuse

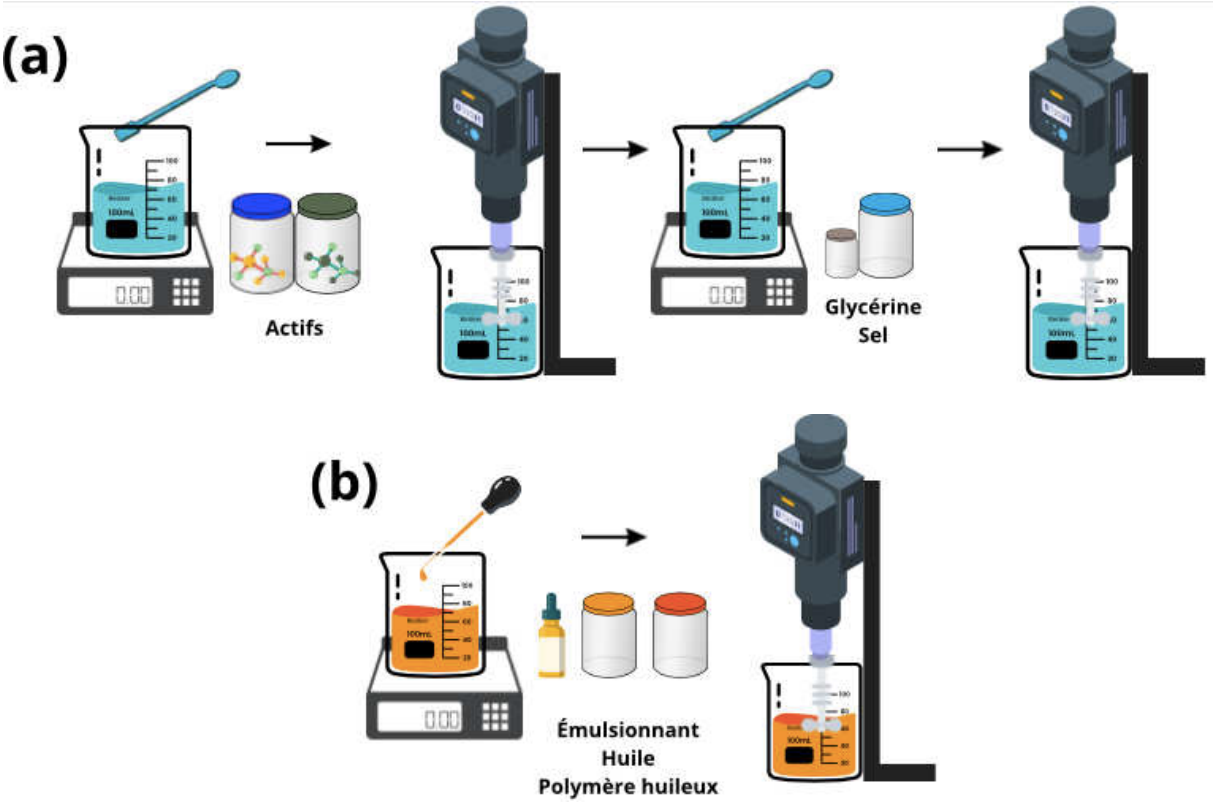
La phase huileuse a été pesée (huile, tensioactif et polymère huileux), ajoutée dans un bécher et agitée avec une hélice à pales fines VMI-Rayneri Turbotest V2004 (Montaigu, France) à 1200 tr/min, à température ambiante.

(c) Étape 3 : Préparation de l'émulsion

Dans l'étape finale de l'émulsion, la phase aqueuse a été ajoutée à la phase huileuse à l'aide d'une pompe péristaltique Gilson MINIPULS 3 M312 (Villiers, France) à un débit de 11g/min, toujours sous agitation VMI-Rayneri Turbotest. V2004 (Montaigu, France) à une vitesse de 1200 tr/min, à température ambiante.

(d) Étape 4 : Conditionnement

Finalement, les formules ont été conditionnées dans trois flacons hermétiquement fermés. Le premier flacon, 150g ont été stocké à l'abri de la lumière à température ambiante. Le deuxième flacon, 25g a été placé dans une étuve à 40°C et le troisième flacon, 25g, a été soumis à une étuve à 50°C, dans un flacon de 50 ml.



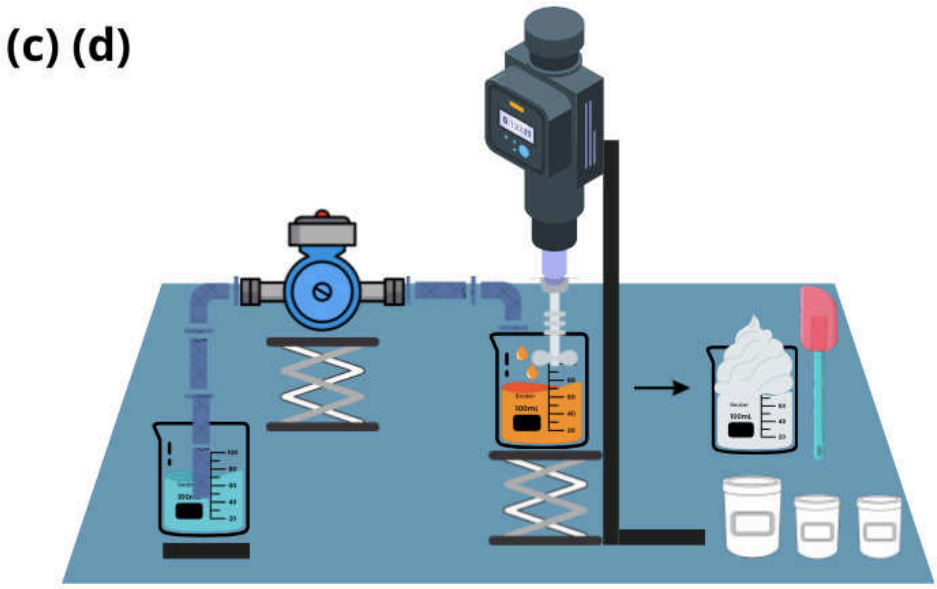


Figure 51 : *Illustration de la formulation.*
(A) Illustration de la préparation de la phase aqueuse; (B) préparation de la phase huileuse et (C) (D) Illustration de la formulation des ETCs (préparation de l'émulsion et conditionnement).

4.3. Analyses et Résultats

4.3.1. Analyse Organoleptique

Les résultats indiquent que les formulations contenant des actifs restent stables à température ambiante ainsi qu'à 40 °C pendant une période de 3 mois. Les formulations demeurent uniformes, de couleur blanche, et ne présentent aucune altération d'odeur ou de couleur.

4.3.2. Analyse Rhéologique

Les essais ont été réalisés en triplica. Les résultats de l'analyse rhéologique sont présentés respectivement dans 3 parties : (a)balayage contrainte, (b)balayage fréquence et (c)écoulement.

(a) Balayage contrainte

L'analyse par balayage contrainte a été réalisée à une fréquence constante de 10 Hz, avec en faisant varier la contrainte de 0,1 Pa à 100 Pa.

En ce qui concerne les analyses en balayage contrainte, on note qu'après l'introduction des actifs, il y a eu une légère augmentation du module élastique (G') de 17% pour la formule contenant la carnosine en quantité minimale (CAS min), tandis que les autres formules ont également montré une augmentation, mais de manière moins prononcée par rapport à la formule de base. En ce qui concerne la tg δ, toutes les formules présentent un comportement similaire, à l'exception de la formule CAS+CAT max, qui montre une légère augmentation de la tg δ par rapport aux autres formules, voir ***Tableau 31***.

Cependant, des variations plus importantes sont mises en évidence pour la détermination du domaine de la linéarité (DVEL). Les formules contenant la carnosine en quantité minimale (CAS min) présentent une diminution significative du DVEL, de même que la formule contenant la carnosine et la carnitine en quantité maximale (CAS + CAT max). Cela suggère une possible fragilité dans le réseau formé en présence de ces actifs à ces concentrations. Malgré la variation du DVEL entre les formules, il est important de souligner que celles-ci ne présentent pas encore les caractéristiques retrouvées pour la formule instable, comme le montre le ***Tableau 31*** avec un faible DVEL de 7,94 Pa et la présence d'un « cross over ».

Il est important de noter que les formules avec des actifs ne présentent pas de « cross over » ou croisement entre les courbes des modules élastique(G') et visqueux(G''). Ce crossover représente un passage d'un état élastique à un état visqueux, témoin d'une rupture ou fragilité de la structure du système, donc potentiellement d'une stabilité moins robuste.

Des analyses complémentaires seront réalisées pour mieux comprendre ce comportement.

Par ailleurs, toutes les autres formules présentent une stabilité similaire à la formule de base, avec un réseau solidement consolidé et une viscoélasticité très marquée. Un comportement gel est clairement observé.

Formules	τ(Pa)	G'(Pa)	G''(Pa)	Tg δ	DVEL(Pa)
Base	0,1	3340 ± 209,7	191 ± 14,1	0,06 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	10	3258 ± 153,2	195 ± 5,8	0,06 ± 0,0	
	100	3220 ± 40,6	266 ± 7,2	0,08 ± 0,0	
CAS min	0,1	3924 ± 62,9	242 ± 18,7	0,06 ± 0,0	39,81 ± 7,3
	10	3847 ± 79,2	255 ± 5,3	0,07 ± 0,0	
	100	3438 ± 70,7	292 ± 0,5	0,08 ± 0,0	
CAS max	0,1	3512 ± 347,2	232 ± 49,5	0,07 ± 0,0	100,0 ± 14,5
	10	3430 ± 292,7	241 ± 17,2	0,07 ± 0,0	
	100	3322 ± 78,5	302 ± 6,2	0,09 ± 0,0	
CAT min	0,1	3528 ± 221,3	227 ± 0,35	0,06 ± 0,0	100,0 ± 0,0

	10	3369 ± 177,5	241 ± 13,8	0,07 ± 0,0	
	100	3378 ± 24,7	303 ± 24,7	0,09 ± 0,0	
CAT max	0,1	3766 ± 99,0	237 ± 65,6	0,06 ± 0,0	
	10	3635 ± 107,5	259 ± 7,7	0,07 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	100	3659 ± 59,4	326 ± 7,8	0,09 ± 0,0	
CAS+CAT min	0,1	3679 ± 160,5	273 ± 19,1	0,07 ± 0,0	
	10	3605 ± 148,5	380 ± 10,7	0,11 ± 0,0	100,0 ± 0,0
	100	3339 ± 153,4	262 ± 12,9	0,08 ± 0,0	
CAS+CAT max	0,1	3583 ± 246,1	304 ± 20,3	0,1 ± 0,0	
	10	3445 ± 555,1	476 ± 102,5	0,1 ± 0,0	39,81 ± 49,0
	100	2718 ± 710,6	887 ± 338,5	0,3 ± 0,0	
Instable	0,1	520 ± 32,5	79 ± 7,2	0,2 ± 0,0	
	10	454 ± 24,7	124 ± 0,9	0,3 ± 0,0	7,94 ± 0,0
	100	151 ± 2,3	148 ± 7,2	1,0 ± 0,0	

Tableau 31 : *Résultats comparatifs de la balayage contraint à des contraintes entre 0,1Pa et 100Pa.*
Formules avec actifs, formule base « châssis formulaire » et formule instable.

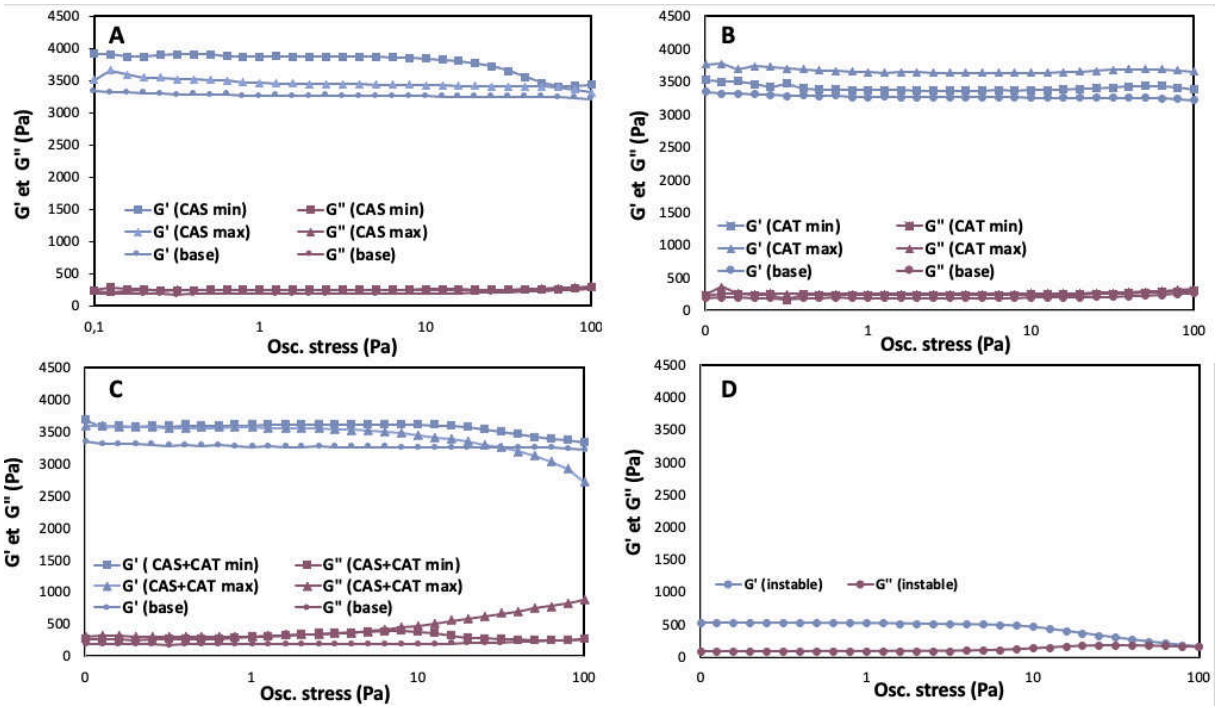


Figure 52 : *Comportement des formulations lors du balayage contraint comparées à la formule de base.*
(A) Formules contenant la carnosine en quantité minimale et maximale; (B) Formules contenant la carnitine en quantité minimale et maximale; (C) Formules avec le mélange de carnosine et de carnitine; (D) Formule de référence pour l'instabilité.

(b) Balayage fréquence

L'analyse par balayage fréquence a été réalisé à une rampe de fréquences que l'on fait varier entre 6.28 rad/s à 628 rad/s, à une contrainte (**τ**) de 1.0Pa. La contrainte a été fixé dans le domaine linéaire de viscoélasticité du balayage contrainte, réalisé précédemment.

Ce test permet de définir le comportement élastique à différentes fréquences. Le comportement dynamique entre le module élastique et le module visqueux est représenté par la viscosité dynamique $|\eta^*|$. La valeur est représentée par ***Équation 12*** *:*

$$|\eta^*| = (\eta'^2) + (\eta''^2)^{1/2} = \left[\left(\frac{G''}{w}\right)^2 + \left(\frac{G'}{w}\right)^2\right]^{\frac{1}{2}} = \frac{1}{w}|G^*|$$

Équation 12: *Equation de la viscosité complexe* $/\eta^*/$.

Les résultats démontrent qu'entre la formule de « base » et les formules en présence des actifs ne montrent pas de grandes différences, voir ***Tableau 32***

Formules	G'(Pa)	G''(Pa)	$\|\eta^*\|$ (Pa.s)
Base	3104 ± 130,4	467 ± 3,3	494 ± 20,7
CAS min	2874 ± 67,9	63 ± 7,0	458 ± 10,8
CAS max	2783 ± 474,5	63 ± 8,9	443 ± 75,5
CAT min	3247 ± 282,8	76 ± 4,9	517 ± 45,0
CAT max	3702 ± 257,4	86 ± 0,4	589 ± 41,0
CAS+CAT min	3322 ± 1704	78 ± 2,2	529 ± 27,1
CAS+CAT max	3399 ± 360,6	105 ± 7,5	541 ± 57,4
Instable	425 ± 39,2	46 ± 2,81	68 ± 6,2

Tableau 32 : *Résultats de la balayage fréquence.*
En module élastique (G'), module visqueux (G'') et viscosité complexe ($/\eta^*/$*) à une fréquence de 1,0Hz (6,28 rad/s).*

Les comportements observés en mode balayage fréquence pour la formule de « base » présentent des profils similaires comme nous pouvons le constater sur la ***Figure 53***.

On observe toujours un plateau pour les valeurs du module élastique (G') démontrant ainsi un comportement indépendant de la fréquence. Ce type de comportement pourrait s'expliquer par la formation des gouttelettes fortement associées entre elles créant une structure compacte typique des émulsions très concentrées. On note des valeurs du module élastique beaucoup plus importantes que celles du module visqueux, d'un rapport de dix entre G' et G''. Ce rapport a déjà été noté lors des tests en balayage contrainte. Ce comportement démontre la présence d'un réseau interconnecté caractérisé par une énergie de cohésion importante entre les gouttelettes de la phase dispersée et un état « gel-like ».

Concernant la viscosité dynamique $|\eta^*|$, la présence de molécules actives peut être responsable d'une légère augmentation de la valeur de la viscosité apparente. Une augmentation de 20% a été constatée pour la carnitine en quantité maximale (CAS max).

On observe aussi la présence de croisement (crossover) entre le module élastique et le module visqueux comme vu sur la formule instable à la fréquence de 389 rad/s (62Hz). Les formules CAS min et CAS+CAT max démontre aussi un croisement, en revanche plus tardif à 628 rad/s (100Hz). Donc on peut conclure que les formules plus sensibles à hautes fréquences (100Hz) sont les formules CAS min et CAS+CAT max, voir ***Figure 53***.

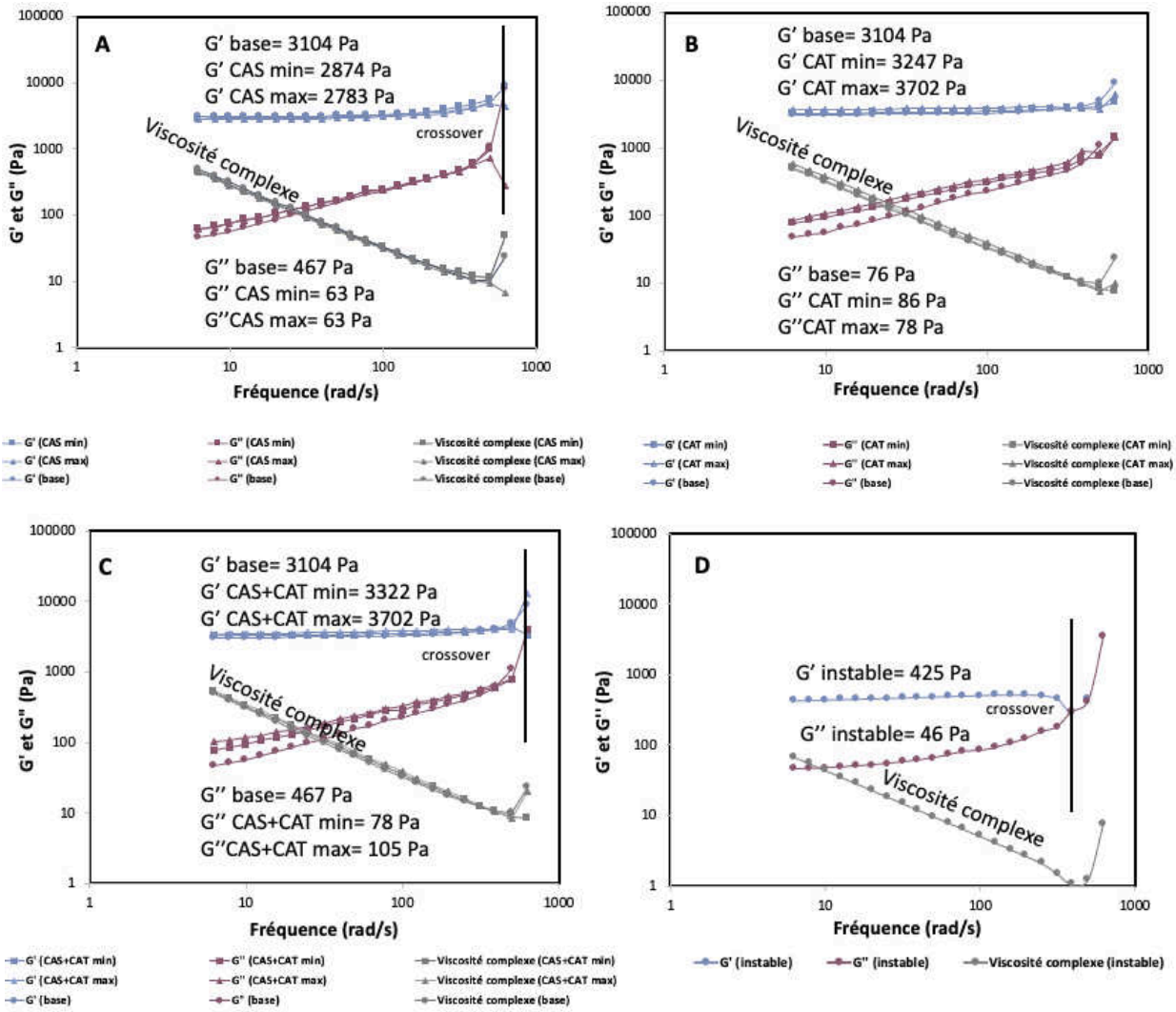


Figure 53 : *Graphiques des balayages en mode fréquence. Comparaison des comportements avec la formule de base. (A) Modules élastique (G'), visqueux (G'') et viscosité complexe de la carnosine à différents pourcentages ; (B) Modules élastique (G'), visqueux (G'') et viscosité complexe de la carnitine à différents pourcentages ; (C) Modules élastique (G'), visqueux (G'') et viscosité complexe de la combinaison carnosine + carnitine à différents pourcentages ; et (D) Référence d'une formule instable.*

(c) Écoulement

L'analyse en mode écoulement a été effectuée selon un protocole en boucle. Elle commence par une courbe descendante, couvrant un intervalle de cisaillement de 0 à 100 s^{-1}, suivie d'une pause à 100 s^{-1} pendant une minute, puis se poursuit avec une courbe ascendante de 100s^{-1} à 0. La première phase de l'analyse (courbe descendante) porte sur le comportement de la viscosité (n) pendant l'augmentation du cisaillement, tandis que la deuxième phase (boucle) explore le comportement thixotrope des formulations en les comparant à la formule de base.

Il est fondamental d'étudier également les limites de rupture des émulsions très concentrées (ETC) et de noter les conséquences vis-à-vis des perturbations mécaniques, pour anticiper la survenue de problèmes lors des étapes de transposition industrielle. (Analyses réalisées avec un cisaillement maximum de 100 s^{-1}.)

En ce qui concerne les résultats des valeurs de la viscosité apparente, il a été observé que l'incorporation de la carnosine en faible (0,05%) ou en grande (0,2%) quantité entraîne une diminution de la viscosité. Les valeurs évoluent ainsi de 347,9 Pa.s (base) à 281,8 Pa.s (min pour CAS) et 262,3 Pa.s (max pour CAS). Cependant, la quantité de carnosine n'a pas eu un impact significatif sur la viscosité. En ce qui concerne la carnitine, la présence de cet actif a augmenté la viscosité de 347,9 Pa.s (base) à 492,4 Pa.s pour la quantité minimale de carnitine (2,0%) et 570 Pa.s pour la quantité maximale de carnitine (5,0%). En revanche, il n'y a eu que peu de modifications de viscosité lorsque les pourcentages varient voir ***Tableau 33***.

Formules	Pourcentage	Viscosité (η) 1,0 s^{-1}	Viscosité (η) 20 s^{-1}	Viscosité (η) 100s^{-1}
Base	0%	348 Pa.s	32 Pa.s	8 Pa.s
CAS min	0,05%	281 Pa.s	22 Pa.s	3 Pa.s
CAS max	0,2%	262 Pa.s	27 Pa.s	3 Pa.s
CAT min	2,0%	492 Pa.s	28 Pa.s	3 Pa.s
CAT max	5,0%	570 Pa.s	502 Pa.s	55 Pa.s
CAS+CAT min	0,05%-2,0%	159 Pa.s	15 Pa.s	0,1 Pa.s
CAS+CAT max	0,2%-5,0%	24 Pa.s	1 Pa.s	0,6 Pa.s
Instable	0%	26 Pa.s	3 Pa.s	0,1 Pa.s

Tableau 33 : *Différents viscosités conforme les formules et cisaillements différents.*

Cependant, lorsque les deux actifs sont associés à leur concentration minimale (0,05% et 0,2%), une diminution significative de la viscosité est observée, passant de 347,9 Pa.s (base) à 159,6Pa.s (min pour CAS et CAT). Lorsque ce mélange est utilisé à des pourcentages plus élevés (0,2% et 0,5%), la viscosité chute de manière encore plus significative à 23,8 Pa.s, proche des valeurs d'une formule instable (26 Pa.s).

À la suite de toutes les analyses, on peut conclure que la présence des actifs provoque un changement des valeurs de la viscosité, mais n'a pas nécessairement influencé la stabilité des produits analysés. Cependant la carnosine et la carnitine considérés à leurs concentrations maximales (CAS+CAT max) peut altérer la structure du réseau et, par conséquent, entraîner une baisse significative de la stabilité de la formule de base, voir ***Figure 54***.

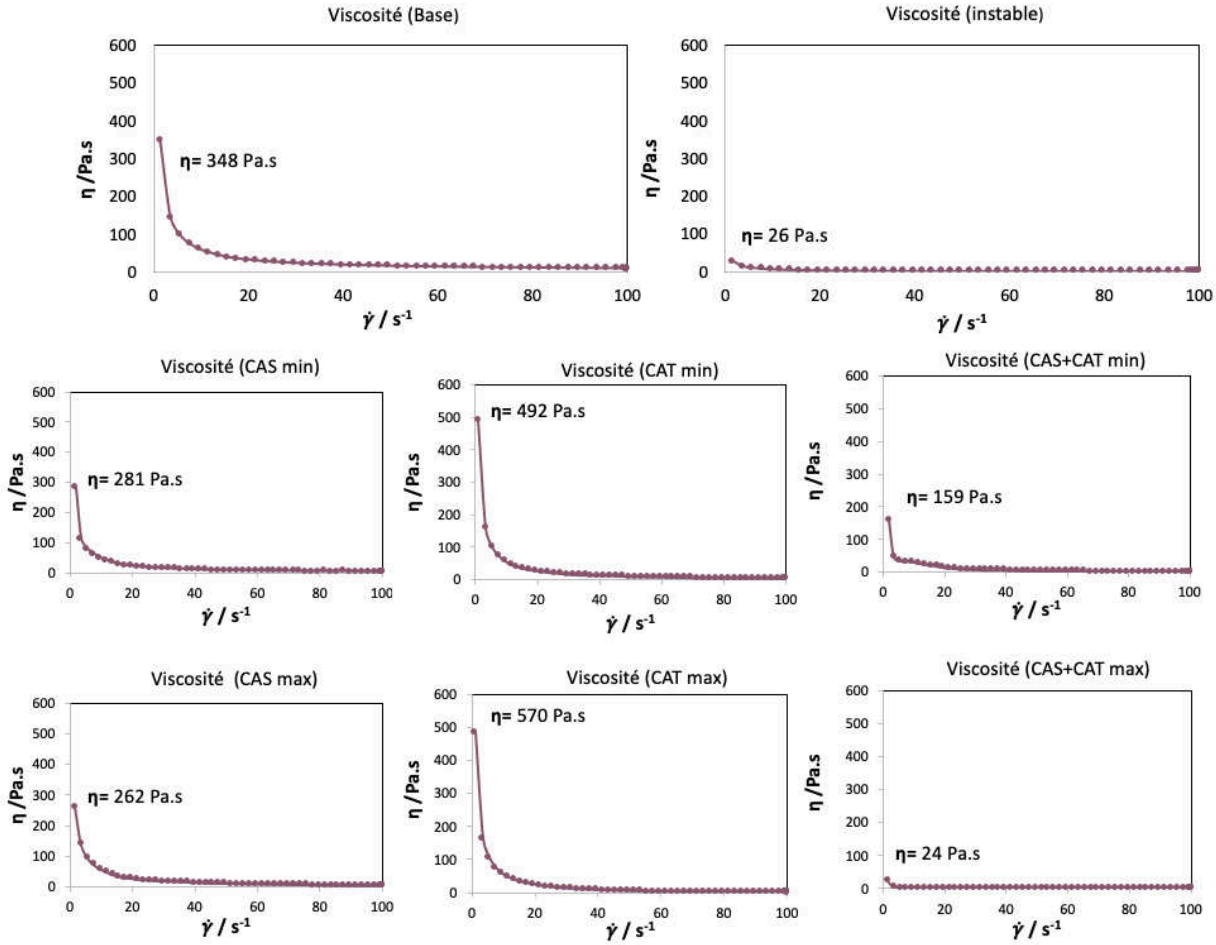


Figure 54 : *Graphiques des écoulements.*
Ils démontrent leur viscosité conforme les pourcentages des actifs et ses mélanges.

En ce qui concerne le phénomène de thixotropie, il a été observé que la présence de la carnosine, quelle que soit sa concentration, présente un profil rhéofluidifiant avec une thixotropie toujours présente. L'écart-type de la moyenne absolue de la déviation des valeurs de la viscosité varient entre 8,2 et 13,7 entre la courbe d'aller et la courbe de retour.

En présence de la carnitine à une concentration minimale (2,0%), un profil rhéofluidifiant avec la présence d'un comportement thixotrope similaire à celui de la formule de base est observé. Cependant, avec la carnitine à concentration maximale (5,0%), le comportement thixotrope est ici très prononcé, avec des valeurs (index) proches de 246,0, comme indiqué dans le ***Tableau 34***.

Lorsqu'on examine le mélange de la carnitine et de la carnosine à concentration minimale, (0,05% et 2,0%), la thixotropie persiste, avec une perte significative de viscosité, comme observé dans l'analyse précédente. En revanche, la carnitine associée à la carnosine à concentration maximale (0,2% et 5,0%) est responsable d'un profil avec un comportement non thixotrope

En résumé, la plupart des formules présentent un comportement similaire en termes de thixotropie. Cependant, les formules contenant la carnitine en quantité maximale(CAT max) et le mélange de carnosine et carnitine à quantité maximale(CAS+CAT max) montrent un comportement différent par rapport à la formule de base, ***Figure 55***.

Formules	Pourcentage	Moyenne absolue de déviation η (aller et retour)	Thixotropie
Base	0%	8,2	Oui
CAS min	0,05%	10,0	Oui
CAS max	0,2%	13,7	Oui
CAT min	2,0%	17,7	Oui
CAT max	5,0%	246,7	Oui +
CAS+CAT min	0,05%-2,0%	9,6	Oui
CAS+CAT max	0,2%-5,0%	0,7	Non

Tableau 34 : *Résultats de l'écoulement.*
La moyenne absolue de déviation de la viscosité et la thixotropie de chaque formule conforme les variations des actifs.

Dans le but de caractériser ces systèmes complexes et fragiles, d'éviter les problèmes d'échantillonnages constatés (glissement, fracture), il est nécessaire d'effectuer des analyses de viscosité à des régimes de cisaillement très bas, généralement autour de 10^{-4} à 10^{-3} s^{-1}. Cependant, afin de vérifier la robustesse des formules étudiées, il est possible d'explorer des régimes de cisaillement proches de 1000 s^{-1}. La sélection du régime dépend du type de dispersion étudié et des objectifs spécifiques de l'analyse.

Dans le cadre de cette thèse axée sur une application industrielle, il est nécessaire d'anticiper et d'évaluer la puissance requise pour simuler les conditions de cisaillement du matériel de fabrication. Par conséquent, il est fondamental de comprendre le comportement rhéologique à différents stades, des faibles aux forts régimes de cisaillement. Ces analyses permettront d'optimiser les étapes clés du processus en garantissant une performance adaptée à chaque situation.

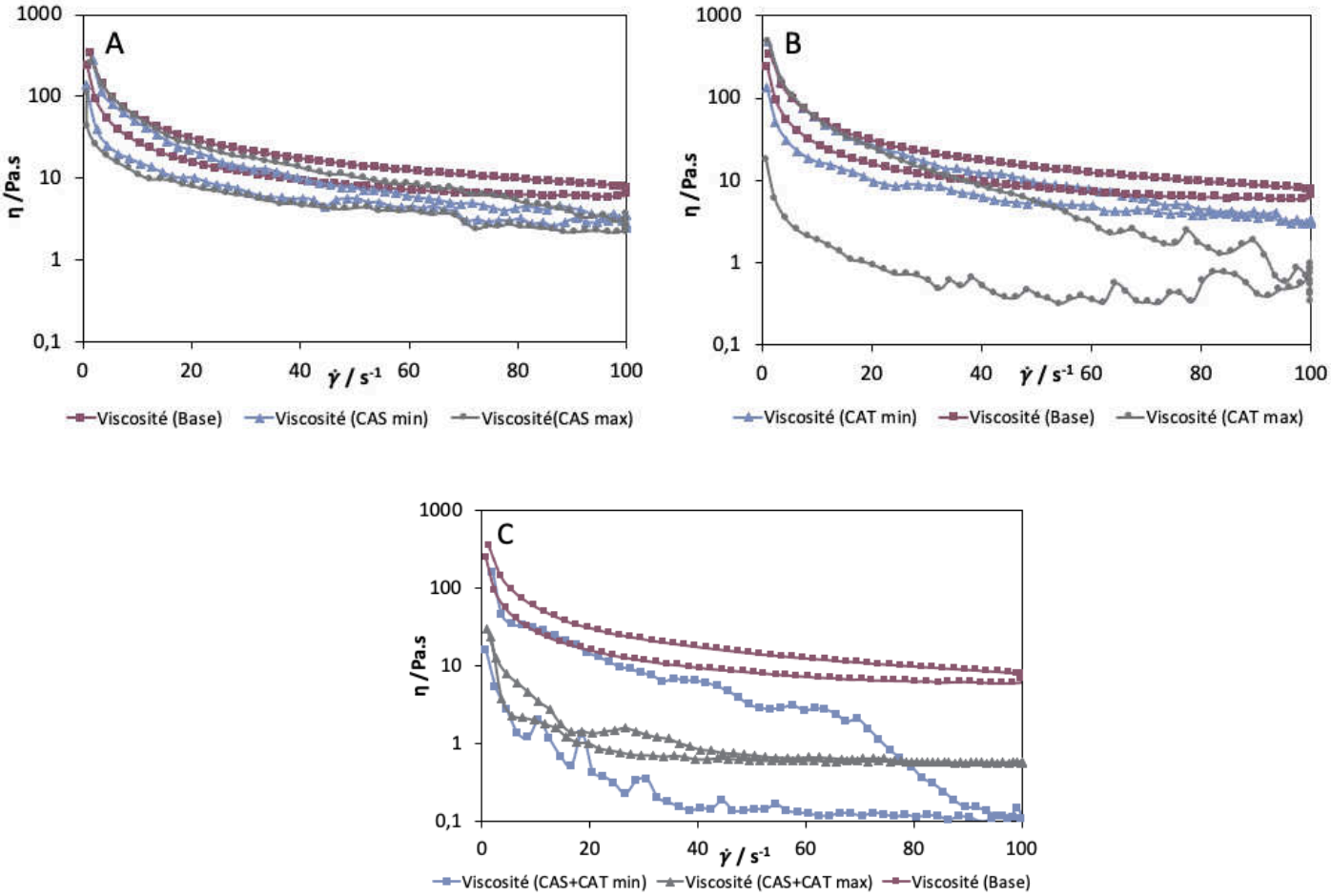


Figure 55 : *Graphiques de l'écoulement.*
Démonstration des courbes d'aller et de retour avec ses respectifs boucles de thixotropie. (A) CAS min, CAS max et base ; (B) CAT min, CAT max et base et (C) CAS+CAT min, CAS+CAT max et base.

4.3.3. Analyse de texture

L'évaluation de la texture (APT) a été réalisée à l'aide d'un texturomètre pour caractériser les propriétés mécaniques des émulsions. Le protocole de compression a été réalisée au moyen d'une sonde cylindrique en acier inoxydable de 25 mm de diamètre. La sonde a pénétré dans l'échantillon jusqu'à une profondeur de 10 mm à une vitesse de 10 mm/s. La force appliquée à la sonde a été enregistrée automatiquement. L'objectif de ce test était d'évaluer les propriétés physiques liées à la compression, permettant d'accéder à l'analyse de cinq paramètres : la collant, l'adhésion, la cohésion, la fermeté et l'élasticité. Les résultats sont sur le ***Tableau 35***.

Les tests ont été effectués 24 heures après la formulation à une température de 25°C, et les analyses ont été réalisées en triplicata. Les données ont été analysées à l'aide de l'analyse en composantes principales (ACP) pour caractériser les différentes formulations.

Formules	Fermeté (gf)	Adhérence (gf)	Cohésion	Élasticité	Collant
Base	227,893	184,38	1,021	1,404	232,698
CAS min	241,642	188,910	0,94	1,433	227,184
CAS max	271,281	219,320	0,963	1,394	261,429
CAT min	258,475	211,68	0,977	1,424	252,58
CAT max	293,212	237,32	0,842	1,297	247,143
CAS+CAT min	280,916	228,2	0,904	1,411	254,223
CAS+CAT max	297,495	237,39	0,894	1,418	266,056
Instable	50,258	27,103	0,921	1,356	46,336

Tableau 35 : *Les résultats APT.*
Comparaison des textures sur les formules pour l'analyse de profil de texture (APT).

Ensuite les résultats ont été analysés par l'analyse de composant principal (ACP) et nous observons que, du point de vue de la texture (sensorielle), les actifs ou associations d'actifs ayant le moins d'impact sur la formule de base sont : CAS min, CAT min et CAS max. Nous pouvons noter que ces formules se situent près de la formule de base sur le graphique comme on peut voir sur la . En revanche, le mélange des deux agents, en concentration minimale ou maximale (CAS+CAT min ou CAS+CAT max), montre une augmentation de la fermeté et, par conséquent, de l'adhérence également, voir ***Figure 56***.

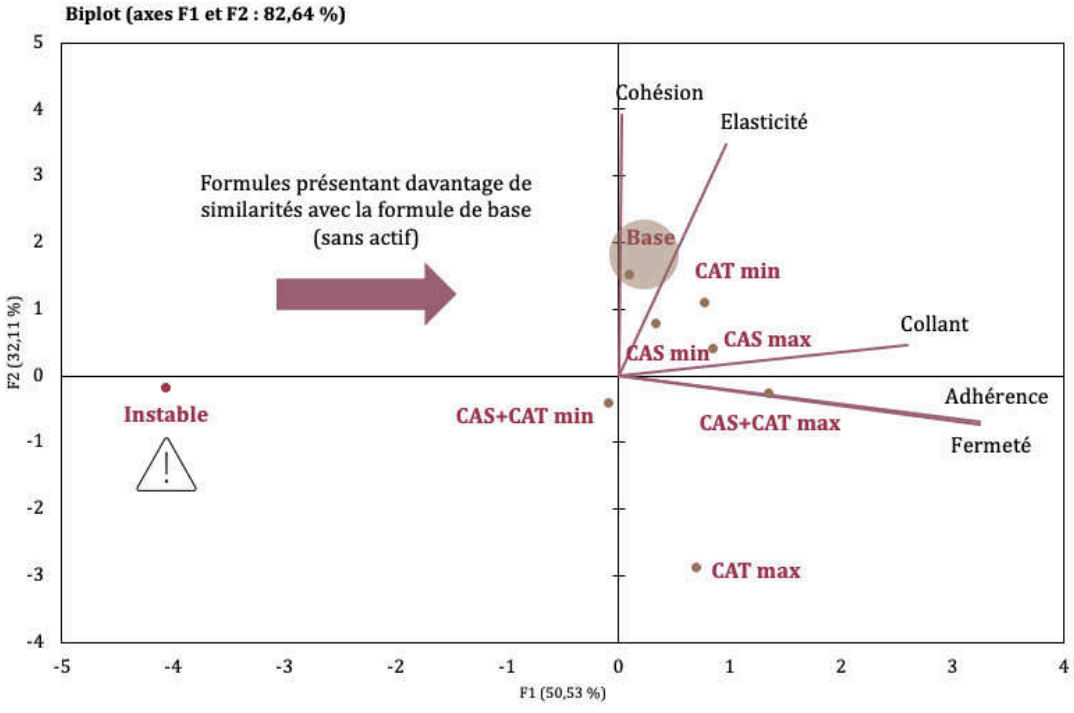


Figure 56 : *Résultats d'analyse de profil de texture par l'analyse de composant principal.*

En analysant les composants principaux (ACP), il est notable que les actifs peuvent être incorporés à ces systèmes en ajustant certains paramètres. Il est indéniable que l'ajout de ces actifs entraîne une variation de la texture, dépendant de la quantité et du type d'actif utilisé. Cela permet la possibilité de d'accéder à des textures variées selon les préférences des consommateurs. La ***Figure 57*** *et* ***Figure 58*** illustre visuellement les différentes textures pour une meilleure compréhension.

Au cours de cette analyse, il est notable que la formule instable présente des caractéristiques de texture distinctes par rapport aux autres formulations. Il serait prématuré de conclure ~~de là~~ que toutes les formulations sont stables. Cependant, constater que l'ajout d'actifs ne produit pas un profil de texture instable est rassurant et encourageant. Pour une évaluation approfondie de la stabilité, il est préférable d'utiliser les résultats à partir de l'analyse rhéologique et turbidimétrique (Turbiscan.)

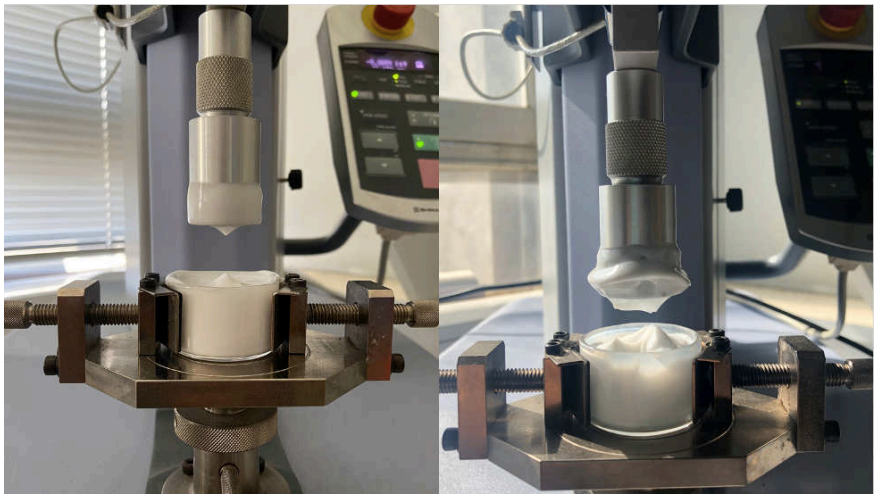


Figure 57 : *Images du profil de texture.*
La formule instable(gauche) et la formule de base (droite) sans actifs. Ces deux images servent de références visuelles pour comparer les autres formulations.

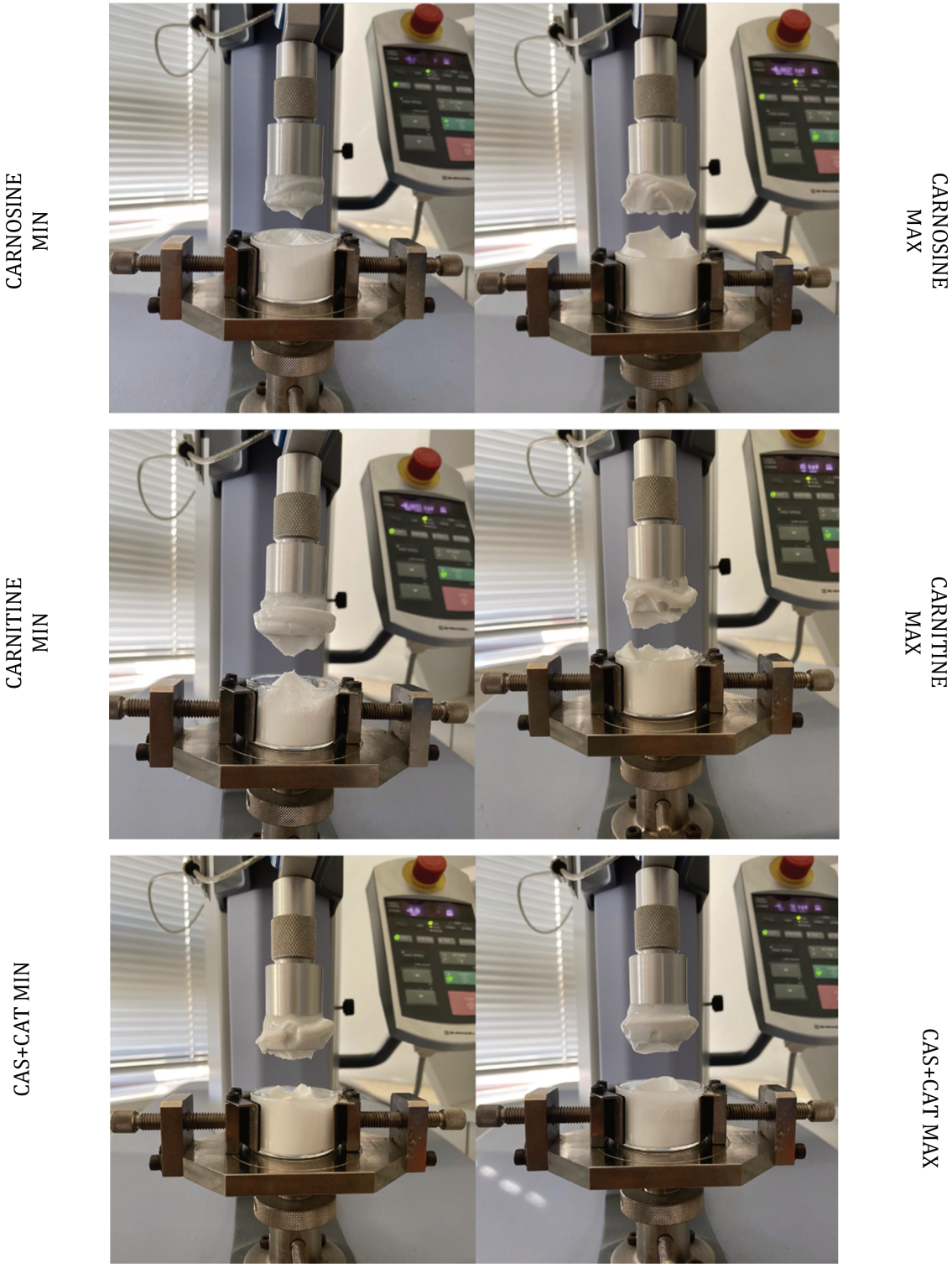


Figure 58 : *Images des formules pendant l'analyse de profil de texture. Comparaison des textures avec différents formules.*

4.3.4. Turbiscan

L'analyseur optique Turbiscan® est dédié aux analyses de stabilité des dispersions liquides, diluées ou concentrées, telles que les émulsions (simples ou doubles), les suspensions ou les mousses. Il est utilisé dans de nombreux domaines différents (alimentaire, cosmétique, encres,

peintures, pétrole…). Il permet de détecter et de discriminer différents types de phénomènes d'instabilité, même s'ils se produisent simultanément et avant qu'ils ne soient visibles à l'œil nu. Il est également possible d'accélérer la déstabilisation en augmentant la température via un système thermorégulé.

Dans cette dernière étude la stabilité a été évaluée au moyen de la rétrodiffusion et de la transmission lumineuse en effectuant un balayage de la hauteur du tube à intervalle de temps définis. À l'aide d'un appareil TurbiScan Lab. Cet appareil a mesuré la variation granulométrique (floculation ou coalescence) et la migration des particules (crémage ou sédimentation), conformément à la méthode de Mengual (Mengual *et al.*, 1999). Les émulsions eau dans huile (E/H) très concentrées, d'une contenance de 20 ml, fraîchement préparées à l'aide d'une poche à douille, ont été introduites dans une cellule d'échantillon cylindrique. Elles ont été soumises à une analyse toutes les heures sur une période d'un jour, ainsi que sur une durée de 30 jours et de 120 jours, à une température de 40°C (240 scans).

L'indice de stabilité Turbiscan (TSI), calculé directement à partir des signaux bruts de transmission et de rétrodiffusion enregistrés par l'instrument, a fourni une valeur unique permettant d'évaluer et de classer rapidement la stabilité de la formulation et a été calculé par la formule $[\Sigma(x_i - x_{BS})^2/n-1]^{1/2}$

A+(TSI <0,5): Aucune déstabilisation significative n'est détectée par le Turbiscan® et l'échantillon demeure visuellement stable. Le classement A+ représente la note de stabilité optimale.

A (TSI<1,0): Une déstabilisation est identifiée, mais elle est encore à un stade très précoce, caractérisé par une migration ou une variation de taille. Au classement A, aucune déstabilisation visuelle n'est observée à ce stade.

B (TSI<3): Les variations repérées par le Turbiscan® dépassent le stade « précoce » et signalent le début de la déstabilisation. Cependant, dans la plupart des cas (>90 %), la déstabilisation demeure non visible.

C (TSI<10,0): Déstabilisation significative de la stabilité, se manifestant par une sédimentation/crémage marquée, une variation granulométrique importante, ou une séparation de phase faible... La déstabilisation peut être visible ou non à ce stade, et l'échantillon classé C doit être étroitement surveillé.

D (TSI>10,0): Variation extrême et importante, avec une déstabilisation très probablement visible, incluant une sédimentation marquée ou un crémage, une séparation de phase, un changement significatif de la taille ou de la couleur des particules...

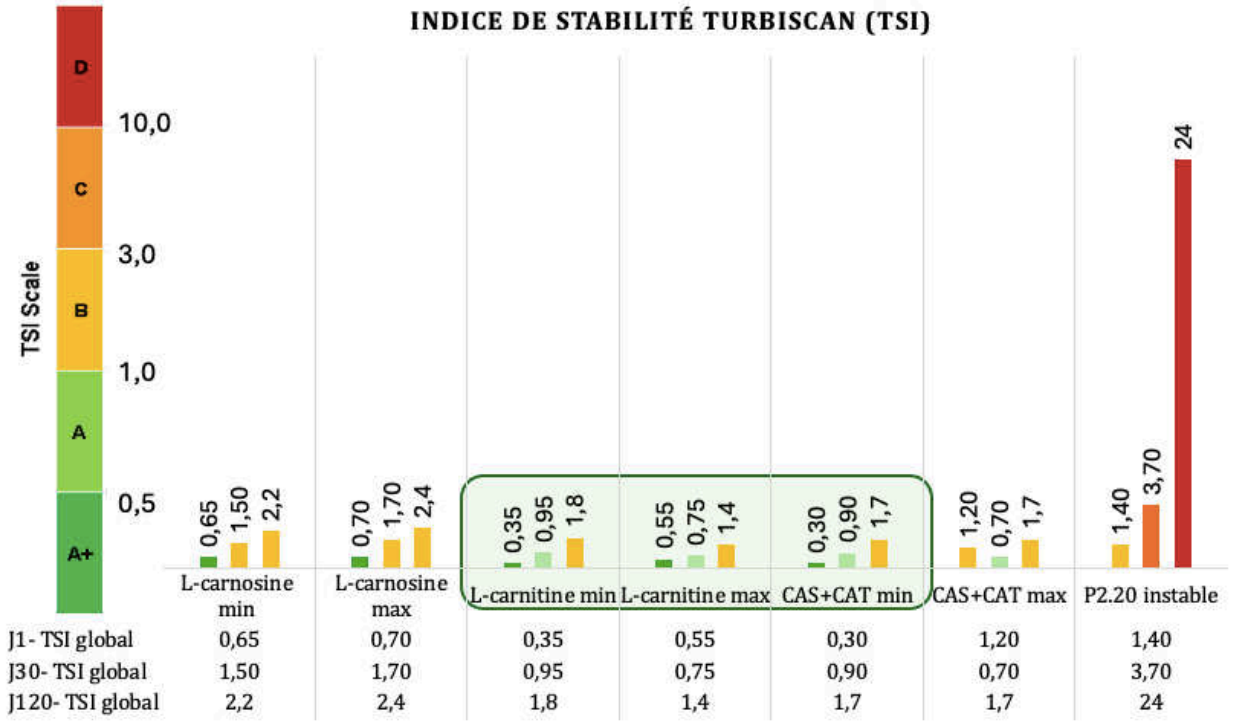


Figure 59 : *Comparatifs des résultats des TSI*

Les résultats illustrés, ***Figure 59*** indiquent de manière générale que les formulations sont stables. Même après 120 jours, l'indice de stabilité Turbiscan (TSI) est inférieur à 2,5. Cependant, trois formulations se distinguent particulièrement par des résultats très positifs. Il s'agit des formulations contenant de la carnitine dont la concentration est minimale (CAT min) et maximale (CAT max), ainsi que l'association des deux actifs à des concentrations minimales (CAS+CAT min). Pour des conditions de conservation de 30 jours à 40°C, ces formulations présentent un TSI de ne dépassant pas la valeur de 1,0.

4.3.5. Challenge Test

L'objectif du Challenge test est d'évaluer la protection du produit vis-à-vis des microorganismes pendant la période de conservation et l'utilisation du produit. La conformité aux critères A et B dépend du niveau de protection de la formule. Il était essentiel de vérifier l'influence de l'introduction des molécules actives sur la protection antimicrobienne de la formulation.

Les résultats du challenge test selon la norme NF EN ISO 11930 ont montré que la présence des actifs L-carnosine, L-carnitine, et de leurs associations, a présenté un comportement très similaire à celui de la formule de base sans actif. Les résultats ont même montré une légère amélioration, notamment en ce qui concerne l'activité sur Candida albicans à T14. On peut voir sur le ***Tableau 36*** .

Nature analyse	Paramètre analysés	Base	L-carnosine min	L-carnitine min	CAS+CAT min	Unités
Propreté microbiologique initiale	Dénombrement de la flore mésophile aérobie	<10 ISO 21149	<10 ISO 21149	<10 ISO 21149	<10 ISO 21149	UFC/g
	Dénombrement des levures et moisissures	<10 ISO 16212	<10 ISO 16212	<10 ISO 16212	<10 ISO 16212	
Challenge test	Staphylococcus aureus T0	5,25	5,22	5,22	5,22	log UFC/g (ml)
	Staphylococcus aureus T7	<1	<1	2,11	1,98	
	Staphylococcus aureus T14	<1	<1	<1	<1	
	Staphylococcus aureus T28	<1	<1	<1	<1	
Challenge test	Escherichia coli T0	5,31	5,27	5,27	5,27	log UFC/g (ml)
	Escherichia coli T7	<1	<1	<1	<1	
	Escherichia coli T14	<1	<1	<1	<1	
	Escherichia coli T 28	<1	<1	<1	<1	
Challenge test	Pseudomonas aeruginosa T0	5,39	5,27	5,27	5,27	log UFC/g (ml)
	Pseudomonas aeruginosa T7	<1	<1	<1	<1	
	Pseudomonas aeruginosa T14	<1	<1	<1	<1	
	Pseudomonas aeruginosa T28	<1	<1	<1	<1	
Challenge test	Candida albicans T0	4,72	5,62	5,62	5,62	log UFC/g (ml)
	Candida albicans T7	3,26	2,82	3,02	3,57	
	Candida albicans T14	2,52	<1	<1	<1	
	Candida albicans T28	2,06	<1	<1	<1	
Challenge test	Aspergillus brasiliensis T0	4,19	4,00	4,00	4,00	log UFC/g (ml)
	Aspergillus brasiliensis T7	3,14	3,44	4,00	3,37	
	Aspergillus brasiliensis T14	2,47	2,55	2,32	2,44	
	Aspergillus brasiliensis T28	2,16	2,39	1,85	2,1	
Conclusion (Critères A et B)		**Positive**	**Positive**	**Positive**	**Positive**	

Tableau 36 : *Challenge test NF EN ISO 11930.*
Comparatif entre la formule de base et les formules en présence d'actifs

4.4. Conclusion

Après une analyse de l'ensemble des résultats présentés, il est possible de conclure que l'incorporation des actifs- sélectionnés tels que la L-carnosine, la L-carnitine, ainsi que leurs associations, sur une base d'émulsion très concentrée, est réalisable pour produire de façon industrielle des produits cosmétiques.

En ce qui concerne **la texture**, il a été observé que la présence de ces actifs peut changer légèrement la texture, en augmentant la fermeté et l'adhésion de ces émulsions très concentrées, et, dans certains cas, favoriser l'augmentation de la thixotropie. La structure est donc susceptible d'être affectée, et des ajustements au niveau de la formulation ou du procédé sera nécessaire pour obtenir une analyse sensorielle identique.

Pour ce qui est de la **stabilité physique**, les données de l'analyse rhéologique et de la turbidimétrie (Turbiscan) indiquent que l'utilisation de la L-carnitine à des pourcentages min ou max (CAS min) (CAS max) est possible, tout comme le mélange de L-carnosine et de L-carnitine en quantités min (CAS+CAT min). En rhéologie, les résultats de balayage contrainte montrent un long DVEL signe de robustesse, tandis que les analyses de balayage en fréquence mettent en évidence un plateau avec module élastique constant, même avec l'augmentation de la fréquence, sans la présence de croisement (cross over) entre le module visqueux et le module élastique. Ces éléments permettent d'envisager une bonne stabilité des formules.

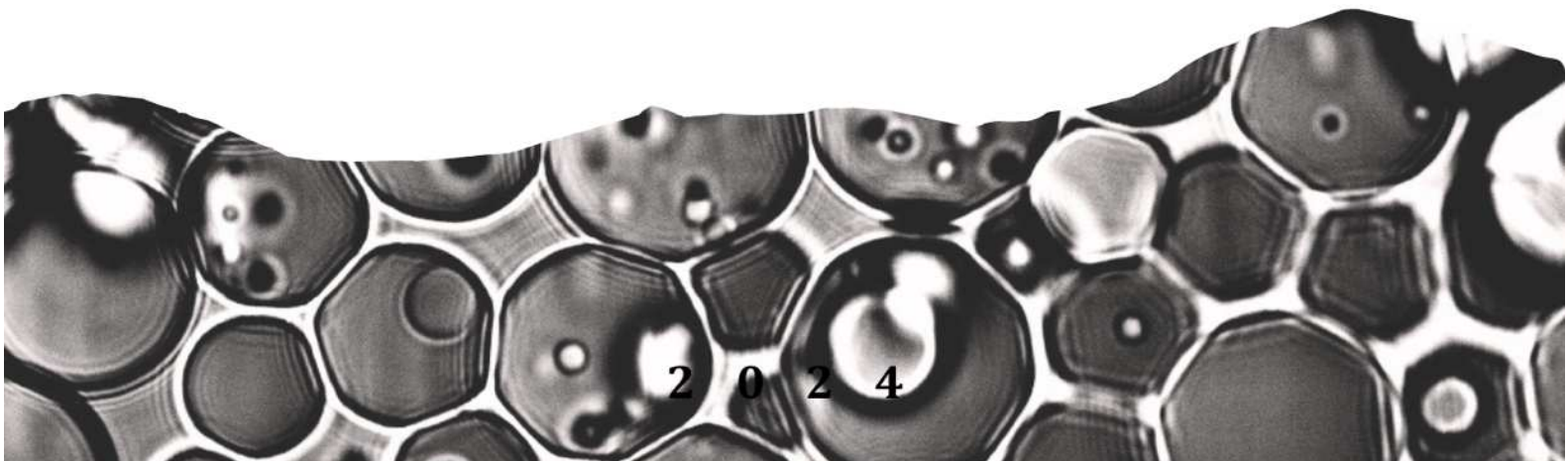
Après une conservation de trois mois à 40°C dans une étuve, aucune altération visuelle n'a été observée, et le TSI (Turbiscan Stability Index) reste inférieur à 1,8 après trois mois de test au Turbiscan, ce qui indique une certaine stabilité physique. Ces résultats sont prometteurs pour une future commercialisation. De plus, les formules ont été soumises à un "challenge test" pour évaluer leur **stabilité microbiologique**, les résultats confirment leur capacité à rester protégées, même après l'incorporation des actifs, sans l'utilisation de conservateurs. Cet élément sera intéressant non pas pour éviter totalement la présence de systèmes de conservation des formules, mais pour les réduire, les produits présentant toujours un risque à l'application.

En conclusion, l'application industrielle de ce projet est envisageable, garantissant une stabilité physique robuste et une innovation en matière de structure physicochimique de la formule cosmétique et de la stabilité microbiologique.

MÉTHODOLOGIE D'OPTIMISATION DE LA FORMULATION DES SYSTÈMES "ÉMULSIONS TRÈS CONCENTRÉES" EAU DANS HUILE POUR DES APPLICATIONS INDUSTRIELLES

PARTIE III

CONCLUSION ET PERSPECTIVES



2024

1. CONCLUSION

En conclusion, cette étude a permis l'optimisation et l'application industrielle des ETCs eau dans huile, en appliquant une méthodologie de recherche expérimentale. Les résultats obtenus démontrent que les ingrédients et les procédés de fabrication peuvent influencer la qualité de la formulation, montrant ainsi des résultats surprenants et prometteurs. En exploitant le potentiel du domaine expérimental, il est désormais possible de créer aisément des « châssis formulaire » des émulsions très concentrées avec des procédés de fabrication « à froid », en utilisant des ingrédients majoritairement d'origine naturelle et en créant une large variété de textures, en limitant l'ajout de conservateurs.

Ces avancées ouvrent de nouvelles perspectives passionnantes, notamment dans le domaine des produits cosmétiques innovants et des crèmes vaginales, en tant que véhicules potentiels pour de nouvelles molécules actives .

Différentes perspectives se présentent en conclusion de ce travail.

2. PERSPECTIVES DANS LA COSMÉTIQUE

La création d'un « châssis formulaire » d'émulsion très concentrée en eau dans l'huile, stable et permettant l'incorporation d'une grande quantité d'actifs hydrosolubles sans nécessiter de conservateurs ou en limitant leur concentration, ouvre de vastes horizons dans le domaine de la cosmétique et potentiellement dans le domaine pharmaceutique. Les résultats des travaux exposés permettent de proposer des textures innovantes dans le domaine cosmétique. Cette expérience nous permet de proposer en place des conseils pour les formulateurs explorant ce domaine particulier des « émulsions très concentrées »

Vérification de l'activité des actifs individuellement :

Il est impératif de mener des tests approfondis sur les molécules sélectionnées, notamment des tests d'objectivation. Cela nécessite une analyse détaillée des molécules individuelles ainsi que de leurs combinaisons pour évaluer leur efficacité isolée et la possibilité de synergie. En effet, les associations d'actifs peuvent amplifier leurs actions ou au contraire limiter les activités.

Vérification de l'efficacité des actifs dans une formulation finale :

Des tests spécifiques d'efficacité anti-âge, tels que l'effet anti-glycation, les effets anti-oxydants et l'évaluation de l'hydratation, doivent être réalisés sur la formulation finale, comme une crème. Cela permettra de déterminer si les actifs restent efficaces lorsqu'ils sont intégrés dans une émulsion, et de comparer leur efficacité dans différents véhicules tels que les émulsions classiques ou les gels.

Compréhension de l'efficacité microbiologique :

Bien que des tests d'efficacité des conservateurs (Challenge test) aient montré des résultats très positifs concernant leur conservation potentielle vis-à-vis des contaminations microbiennes, il est essentiel de comprendre le mécanisme de protection développé lors de la formulation de ces systèmes complexes. Il est ainsi nécessaire d'évaluer le potentiel d'inhibition

des ingrédients vis-à-vis des microorganismes, en ciblant plus particulièrement les émulsionnants. De plus, l'analyse microscopique des gouttelettes formées au niveau de cette structure pourrait fournir des indications sur leur capacité à inhiber le développement microbien, nécessitant ainsi un travail supplémentaire concernant l'aspect microbiologique.

Approfondissement de l'efficacité microbiologique :

En plus des « challenge test » proposés, des tests d'usage sont aussi conseillés pour évaluer la sécurité du produit pour le consommateur dans des conditions réelles d'utilisation. Ces tests permettent de simuler les conditions d'utilisation quotidienne du produit, offrant ainsi une vision plus complète de son efficacité microbiologique et de sa sécurité.

Bien que les formules montrent des résultats en accord avec les critères du challenge test, l'emballage joue également un rôle fondamental. Dans ce contexte, les emballages airless sont fortement recommandés. Un autre aspect important est de réaliser un nouveau challenge test à l'échelle industrielle, car la transposition d'échelle de fabrication nécessite un ajustement du système conservateur.

En conclusion, pour exploiter pleinement le potentiel des émulsions très concentrées eau dans huile, il est nécessaire de poursuivre les recherches sur l'efficacité des actifs, la formulation finale et la sécurité microbiologique, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles avancées dans les domaines de la cosmétique et de la pharmacie.

3. PERSPECTIVES POUR UN DISPOSITIVE MÉDICAL

Les microstructures mises en évidences, les caractéristiques physicochimiques et les qualités de ces systèmes exploitées dans le domaine cosmétique, peuvent ouvrir des perspectives dans le domaine des dispositifs médicaux. Nous avons en effet proposé ces formulations dans le domaine gynécologique.

Actuellement les crèmes gynécologiques font partie du bien-être et de la santé de millions de femmes. La survenue d'inconforts ou de problèmes vont altérer la qualité de vie au quotidien chez la femme (sècheresse vaginale, infections, irritations, cicatrisation post-partum). La qualité et les propriétés de ce type de crème doivent être adaptés à la muqueuse vaginale : Ils doivent être caractérisés par un comportement rhéologique spécifique, une viscosité apparente élevée, des propriétés de bioadhésion, permettant une rémanence du produit, une composition la plus naturelle possible et un confort du patient. Les caractéristiques rhéologiques d'une crème vaginale et sa viscosité est essentielle pour assurer une application facile et uniforme dans la région vaginale. Une consistance trop liquide peut entraîner un écoulement excessif du produit (Francois *et al.*, 2003). La crème doit être stable dans son emballage et conserver ses propriétés physiques, chimiques et microbiologiques pendant toute sa durée de conservation. Une autre question est le respect par le pH vaginal varie généralement entre 3,5 et 4,5, et il est important que la crème soit formulée pour être compatible avec ce pH afin de ne pas perturber l'équilibre naturel de la flore vaginale et pour finir les ingrédients utilisés dans la formulation doivent être doux et non irritants pour la peau délicate de la région vaginale.

Actuellement les crèmes ou ovules se décomposent rapidement après leur insertion dans la cavité vaginale ou la formulation ne persiste pas au niveau du site pour pouvoir avoir une efficacité maximum (Chang *et al.*, 2002B) En effet, des études mettent en évidence l'efficacité limité de ces molécules thérapeutiques (Chang *et al.*, 2002A). En assurant des caractéristiques physiques en adéquation avec les propriétés de mucoadhésion, le développement des crèmes vaginales permettent de garantir une efficacité optimale tout en assurant la sécurité et le confort des utilisatrices (Vermani, Garg and Zaneveld, 2002).

Pour ces raisons les émulsions très concentrée eau dans huile peuvent être proposées comme un support de formulation pour des actifs agissant au niveau des muqueuses.

Pour une raison structurelle ou physique : Les propriétés bioadhésives mises en évidence, permettent une activité au niveau du site de délivrance des molécules actives, une distribution ciblée et uniforme.

Pour une délivrance prolongée : Les caractéristiques sous la forme d'un réseau de gouttelettes polyédriques et d'un film lipidique au contact, favorisent la libération modifiée ou prolongée d'un actif pour une meilleure efficacité et sécurité.

Pour une importante phase dispersée hydrophile : Elle permet ainsi l'intégration d'une concentration importante de molécules à visée antibactérienne ou antiinflammatoire hydrosoluble ou solubilisées par des adjuvants adaptés.

Actuellement, la plupart des actifs utilisés dans les crèmes vaginales sont caractérisées par des propriétés plutôt lipophiles. C'est le cas des antifongiques tels que le clotrimazole, le miconazole et le tioconazole qui sont fréquemment utilisés pour traiter les infections fongiques vaginales, des hormones telles que les estrogènes utilisés pour le traitement de la sécheresse, associée à la ménopause, des analgésiques et anti-inflammatoires comme la lidocaïne, la pramoxine et l'hydrocortisone, utilisés pour le traitement de la douleur et de l'inflammation. Cette structure innovante des ETCs pourrait permettre la formulation de potentiels actifs hydrophiles l'acide borique , le PHMB, un antiseptique qui perturbe la membrane cellulaire des bactéries, la nitrofurantoïne, un antibiotique qui inhibe la synthèse des protéines dans les cellules bactériennes, et le povidone-iode, un antiseptique iodé qui endommage les membranes cellulaires des micro-organismes. Cette forme est réellement adaptée au développement de produits cosmétiques riches en actifs hydratants comme l'acide hyaluronique, glycérine, l'Aloe Vera et le panthénol.

En résumé, une des voie de recherche et développement qui semble prometteuse, se focalise dans le domaine de l'optimisation des propriétés de mucoadhésion des polymères utilisés dans les crèmes vaginales, témoignant ainsi d'une préoccupation constante pour l'amélioration de l'efficacité et de la qualité des traitements dans le domaine de la santé (Albalawi, Almohammadi and Albalawi, 2023). De plus, les caractéristiques physiques des ETCs offrent un potentiel prometteur pour développer des formes pharmaceutiques innovantes.

BIBLIOGRAPHIE

Abdi, H. and Williams, L.J. (2010) 'Principal component analysis', *WIREs Computational Statistics*, 2(4), pp. 433–459. Available at: https://doi.org/10.1002/wics.101.

Addelman, S. (1962) 'Orthogonal Main-Effect Plans for Asymmetrical Factorial Experiments', *Technometrics*, 4(1), pp. 21–46. Available at: https://doi.org/10.2307/1266170.

AFSSAPS (2007) *ANSM , ANNEXE II PRODUITS DE PROTECTION SOLAIRE : STABILITÉ Proposition de conditions d'études*.

Albalawi, N.S., Almohammadi, M.A. and Albalawi, A.R. (2023) 'Comparison of the Efficacy of Vaginal Hyaluronic Acid to Estrogen for the Treatment of Vaginal Atrophy in Postmenopausal Women: A Systematic Review', *Cureus*, 15(8), p. e44191. Available at: https://doi.org/10.7759/cureus.44191.

Alicia (2020) 'Use of antioxidants for the preparation of pharmaceutical or cosmetic compositions for protecting the skin from damages by infrared-radiations'. Available at: https://patents.google.com/patent/EP1591105B1/en (Accessed: 15 February 2024).

Alvarez, O.A. *et al.* (2010) 'Influence of semibatch emulsification process conditions on the physical characteristics of highly concentrated water-in-oil emulsions', *Industrial and engineering chemistry research*, 49(13), pp. 6042–6046. Available at: https://doi.org/10.1021/ie9020073.

Alvarez Solano, O.A. (2006) *Émulsions inverses trés concentrées : influence du procédé et de la formulation sur leurs propriétés rhéologiques*. These de doctorat. Vandoeuvre-les-Nancy, INPL. Available at: https://www.theses.fr/2006INPL016N (Accessed: 27 February 2024).

Antoine, T., Cahuc, M. and CAPODANNO, L. (2017) *L'importance de la glycation et des antiglycants : applications comme anti-âges en cosmétologie et pistes de développement de molécules de nouvelle génération*. Marseille.

ANVISA (2005) 'Cosmetic Products Stability Guide'. Available at: https://www.gov.br/anvisa/pt-br.

Araiza-Calahorra, A., Akhtar, M. and Sarkar, A. (2018) 'Recent advances in emulsion-based delivery approaches for curcumin: From encapsulation to bioaccessibility', *Trends in Food Science and Technology*, 71, pp. 155–169.

Arditty, S. (2004) *Fabrication, stabilité et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales*. These de doctorat. Bordeaux 1. Available at: https://www.theses.fr/2004BOR12852 (Accessed: 27 February 2024).

Aronson, M.P. (1989) 'The role of free surfactant in destabilizing oil-in-water emulsions', *Langmuir*, 5(2), pp. 494–501. Available at: https://doi.org/10.1021/la00086a036.

Aronson, M.P. and Petko, M.F. (1993a) 'Highly Concentrated Water-in-Oil Emulsions: Influence of Electrolyte on Their Properties and Stability', *Journal of colloid and interface science*, 159(1), pp. 134–149. Available at: https://doi.org/10.1006/jcis.1993.1305.

Aronson, M.P. and Petko, M.F. (1993b) 'Highly Concentrated Water-in-Oil Emulsions: Influence of Electrolyte on Their Properties and Stability', *Journal of Colloid and Interface Science*, 159(1), pp. 134–149. Available at: https://doi.org/10.1006/jcis.1993.1305.

Aronson, M.P. and Petko, M.F. (1993c) 'Highly Concentrated Water-in-Oil Emulsions: Influence of Electrolyte on Their Properties and Stability', *Journal of Colloid and Interface Science*, 159(1), pp. 134–149. Available at: https://doi.org/10.1006/jcis.1993.1305.

Aruoma, O.I., Laughton, M.J. and Halliwell, B. (1989) 'Carnosine, homocarnosine and anserine: could they act as antioxidants in vivo?', *Biochemical Journal*, 264(3), pp. 863–869.

Azurad (2024) *Azurad.fr - Logiciel de plans d'expériences*. Available at: http://www.azurad.fr/logiciel-plans-experiences.php (Accessed: 14 March 2024).

Babak, V.G. *et al.* (2001) 'Rheological properties of highly concentrated fluorinated water-in-oil emulsions', in P.G. Koutsoukos (ed.) *Trends in Colloid and Interface Science XV*. Berlin, Heidelberg: Springer (Progress in Colloid and Polymer Science), pp. 216–220. Available at: https://doi.org/10.1007/3-540-45725-9_47.

Babak, V.G. and Stébé, M.-J. (2002) 'Highly Concentrated Emulsions: Physicochemical Principles of Formulation', *Journal of Dispersion Science and Technology*, 23(1–3), pp. 1–22. Available at: https://doi.org/10.1080/01932690208984184.

Babizhayev, M.A. (2006) 'Biological activities of the natural imidazole-containing peptidomimetics n-acetylcarnosine, carcinine and L-carnosine in ophthalmic and skin care products', *Life Sciences*, 78(20), pp. 2343–2357. Available at: https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.054.

Bancroft, W.D. (1913) 'The Theory of Emulsification, V', *The Journal of Physical Chemistry*, 17(6), pp. 501–519. Available at: https://doi.org/10.1021/j150141a002.

Barel, Paye and Maibach (2009) *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. Available at: https://www.academia.edu/28676594/Barel_Paye_Maibach_Handbook_of_Cosmetic_Science_and_Technology (Accessed: 27 February 2024).

Barnes, H.A. (1999) 'The yield stress—a review or "παντα ρει"—everything flows?', *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 81(1), pp. 133–178. Available at: https://doi.org/10.1016/S0377-0257(98)00094-9.

Barnes, H.A. and Walters, K. (1985) 'The yield stress myth?', *Rheologica Acta*, 24(4), pp. 323–326. Available at: https://doi.org/10.1007/BF01333960.

Barry, B.W. (1975) 'Viscoelastic properties of concentrated emulsions', *Advances in Colloid and Interface Science*, 5(1), pp. 37–75. Available at: https://doi.org/10.1016/0001-8686(75)85002-0.

Bécu, L., Manneville, S. and Colin, A. (2006) 'Yielding and Flow in Adhesive and Nonadhesive Concentrated Emulsions', *Physical review letters*, 96, p. 138302. Available at: https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.96.138302.

Bedoux, G. (2016) 'Chapitre 3- Développer un produit stable: conditions d'étude et tests de stabilité.', in *Conception des poduits cosmétiques- La formulation*. Lavoisier TEC&DOC, pp. 26–64.

Bekto, H. and Huang, L. (2022) 'Cosmetic Composition with Enhanced Color Stability'. Available at: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20221229&DB=EPODOC&locale=&CC=WO&NR=2022268415A1&KC=A1&ND=1 (Accessed: 29 February 2024).

BeMiller, J. and Whistler, R.L. (1963) 'Methods in Carbohydrate Chemistry. Vol. II. Reactions of carbohydrates. Herausgeg. unter Assistenz v. James N. BeMiller. Academic Press, New York und London, 1963. 572 Seiten, Gr.-8 °, Ganzleinen', *Starch - Stärke*, 15(11), pp. 423–423. Available at: https://doi.org/10.1002/star.19630151111.

Benchabane, A. (2006) *Etude du comportement rhéologique de mélanges argiles-polymères: Effets de l'ajout de polymères*. Available at: https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4669.4486.

Benzi, R. *et al.* (2013) 'Rheological properties of soft-glassy flows from hydro-kinetic simulations', *Europhysics Letters*, 104(4), p. 48006. Available at: https://doi.org/10.1209/0295-5075/104/48006.

Berthele, H. *et al.* (2014) 'Determination of the influence of factors (ethanol, pH and aw) on the preservation of cosmetics using experimental design', *International Journal of Cosmetic Science*, 36(1), pp. 54–61. Available at: https://doi.org/10.1111/ics.12094.

Berthod, D.P.M. and Ferret, S. (1982) 'Water in oil emulsions'. Available at: https://patents.google.com/patent/EP0048153A1/en (Accessed: 27 February 2024).

Bibette, J. *et al.* (1992) 'Stability-Criteria for Emulsions', *Physical review letters*, 69, pp. 2439–2442. Available at:

https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.69.2439.

Blass, J.P., Pratt, L. and Cosentino, S. (2013) 'Cream for stimulating mitochondrial activity in the skin'.

Blatt, T. *et al.* (2004) 'CoQ10, a topical energizer for aging skin', *Journal of the American Academy of Dermatology*, 50(3), p. P76. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jaad.2003.10.628.

Bleckmann, A., Schneider, Guenther Dr, *et al.* (2000) 'Composition of W/O emulsion type with high water content containing medium-polarity lipids and silicone emulsifiers and optionally cationic polymers'. Available at: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20001129&DB=&locale=en_EP&CC=EP&NR=1055424A2&KC=A2&ND=4 (Accessed: 26 March 2024).

Bleckmann, A., Schneider, Günther Dr, *et al.* (2000) 'Zubereitung vom Emulsionstyp W/O mit erhötem Wassergehalt mit einem Gehalt an mittelpolaren Lipiden und Siliconemulgatoren und gegebenenfalls kationischen Polymeren'. Available at: https://patents.google.com/patent/EP1055424A2/fr?oq=EP+1055424+A2 (Accessed: 27 March 2024).

Bouhout, S. *et al.* (2023) 'Physiological benefits associated with facial skincare: Well-being from emotional perception to neuromodulation', *International Journal of Cosmetic Science*, 45(4), pp. 458–469. Available at: https://doi.org/10.1111/ics.12855.

Bregni, C. (2009) 'The Studies on Hydrophilic-Lipophilic Balance (HLB): Sixty Years after William C. Griffin's Pioneer Work (1949-2009)', *Lat. Am. J. Pharm* [Preprint]. Available at: https://www.academia.edu/79259249/The_Studies_on_Hydrophilic_Lipophilic_Balance_HLB_Sixty_Years_after_William_C_Griffins_Pioneer_Work_1949_2009_ (Accessed: 27 February 2024).

Byrne, D. (2021) 'Personal cleansing composition'. Available at: https://patents.google.com/patent/GB2572173B/en (Accessed: 15 February 2024).

Cameron, N.R. and Sherrington, D.C. (2005) 'High internal phase emulsions (HIPEs) — Structure, properties and use in polymer preparation | SpringerLink', in *Biopolymers Liquid Crystalline Polymers Phase Emulsion*, pp. 163–214. Available at: https://link.springer.com/chapter/10.1007/3-540-60484-7_4 (Accessed: 22 February 2024).

Cao, L. (2017) 'Data Science: A Comprehensive Overview', *ACM Computing Surveys*, 50, pp. 1–42. Available at: https://doi.org/10.1145/3076253.

CARNITINE - Ingrédient INCI Beauty (2023). Available at: https://incibeauty.com/ingredients/5921-carnitine (Accessed: 18 February 2024).

Caubet, S. (2010) *Procédés basse énergie pour la production d'émulsions très concentrées huile dans eau : caractérisation, intensification et applications*. phdthesis. Université de Pau et des Pays de l'Adour. Available at: https://theses.hal.science/tel-00609838 (Accessed: 28 February 2024).

Chang, J.Y. *et al.* (2002B) 'Prolonged antifungal effects of clotrimazole-containing mucoadhesive thermosensitive gels on vaginitis', *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 82(1), pp. 39–50. Available at: https://doi.org/10.1016/s0168-3659(02)00086-x.

Chang, J.Y. *et al.* (2002A) 'Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gels in physiological conditions', *International Journal of Pharmaceutics*, 241(1), pp. 155–163. Available at: https://doi.org/10.1016/s0378-5173(02)00232-6.

Chen, H.H. and Ruckenstein, E. (1991) 'Effect of the nature of the hydrophobic oil phase and surfactant in the formation of concentrated emulsions', *Journal of Colloid and Interface Science*, 145(1), pp. 260–269. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(91)90117-Q.

Cheng, D. *et al.* (2018) 'Particle Coagulation of Emulsion Polymers: A Review of Experimental and Modelling Studies', *Polymer Reviews*, 58(4), pp. 717–759. Available at: https://doi.org/10.1080/15583724.2017.1405979.

Chevalier, Y. and Bolzinger, M.A. (2020) 'Chapitre 6: Contribuitions sensorielles des tensioactifs', in *Matières*

prmières cosmétiques- Ingrédients sensoriels. Lavoisier TEC&DOC, pp. 114–147.

Chevalier, Y., Bolzinger, M.A. and Puel, F. (2015a) 'Chapitre 7- Émulsions', in *Conception des produits cosmétiques-la formulation*. Lavoisier Tec&Doc, p. 139.

Chevalier, Y., Bolzinger, M.A. and Puel, F. (2015b) 'Chapitre 7- Émulsions', in *Conception des produits cosmétiques-la formulation*. Lavoisier Tec&Doc, p. 155.

Choejaehwan *et al.* (2018) 'Compositions for activating NGF and anti-aging cosmetic composition containing the same'. Available at: https://patents.google.com/patent/KR101851559B1/en (Accessed: 15 February 2024).

Civille, G.V. and Dus, C.A. (1991) 'Evaluating tactile properties of skincare products : a descriptive analysis technique', *Evaluating tactile properties of skincare products : a descriptive analysis technique*, 106(5), p. [5 p.

Claeys-Bruno, M. *et al.* (2009) 'Development of a skin care formulation using experimental designs', *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 96(2), pp. 101–107. Available at: https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2008.03.010.

COLIPA GUIDELINES and Efficacy Evaluation of Cosmetic (2008) 'COSMETICS EUROPE: GUIDELINES FOR THE EVALUATION OF THE EFFICACY OF COSMETICS PRODUCTS'.

Connors, K., Amidon, G. and Kennon, L. (1979) *Chemical stability of pharmaceuticals*. John Wiley&Sons. New York.

Couarraze, G., Grossiord, J.-L. and Huang, N. (2014) 'Chapitre5- Corrélation entre rhéologie et structure de la matière.', in *Initiation à la rhéologie- Bases théoriques et applications expérimentales*. 4th edn. Lavoisier TEC&DOC, pp. 220–223.

Cyriac, F., Xin Yi, T. and Chow, P.S. (2022) 'Influence of wall slip, thixotropy and lubrication regime on the instrumental sensory evaluation of topical formulations', *International Journal of Cosmetic Science*, 44(3), pp. 271–288. Available at: https://doi.org/10.1111/ics.12773.

Daniel, S. *et al.* (2002) 'Collagen glycation and skin aging', in. Available at: https://www.semanticscholar.org/paper/Collagen-glycation-and-skin-aging-Daniel-Reto/c3bcfbeffaa7a7e719d9c5b12fe92dfa69d3ff00 (Accessed: 14 February 2024).

Das, A.K. and Ghosh, P.K. (1990) 'Concentrated emulsions. Investigation of polydispersity and droplet distortion and their effect on volume fraction and interfacial area', *Langmuir*, 6(11), pp. 1668–1675. Available at: https://doi.org/10.1021/la00101a008.

Davis, M. (2002) 'Ordered Porous Materials for Emerging Applications', *Nature*, 417, pp. 813–21. Available at: https://doi.org/10.1038/nature00785.

Delistavrou, A. and Tilikidou, I. (2022) 'Consumers' Intentions to Buy Cosmetics and Detergents with Ingredients Made from Recycled CO_2', *Sustainability*, 14(23), p. 16069. Available at: https://doi.org/10.3390/su142316069.

Deminiere, B. *et al.* (1998) 'Lifetime and Destruction of Concentrated Emulsions Undergoing Coalescence'. Available at: https://doi.org/10.1039/9781847551474-00261.

Derjaguin, B. and Landau, L. (1941) 'Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes', *Progress in Surface Science*, 43(1), pp. 30–59. Available at: https://doi.org/10.1016/0079-6816(93)90013-L.

Derkach, S. *et al.* (2011) 'The role of the cationic surfactants in concentrated emulsions stabilized with globular protein', *Colloids and Surfaces A-physicochemical and Engineering Aspects - COLLOID SURFACE A*, 391. Available at: https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.09.010.

Derkach, S.R. (2015) 'Interfacial layers of complex-forming ionic surfactants with gelatin', *Advances in Colloid and Interface Science*, 222, pp. 172–198. Available at: https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.05.001.

Desmarais, T.A., Dick, S.T. and Shiveley, T.M. (1995) 'Processo contínuo para a preparação de uma emulsão de alta fase interna'.

Desplan, D. (2018) *Caractérisation rhéologique multi-échelle des émulsions cosmétiques pour leur stabilité et leur conservation*. phdthesis. Université de Cergy Pontoise. Available at: https://theses.hal.science/tel-02284431 (Accessed: 19 February 2024).

Detudom, P. *et al.* (2023) 'Efficacy of anti-sebum moisturizing cream containing 2% l-carnitine and 5% epigallocatechin gallate in seborrhea: A randomized clinical trial', *Journal of Cosmetic Dermatology*, 22(11), pp. 3058–3064. Available at: https://doi.org/10.1111/jocd.15816.

Dicharry, C. (1994) *Contribution à la modélisation de l'influence de paramètres physico-chimiques dans la fabrication d'émulsions en milieu turbulent et cisaillé*. These de doctorat. Pau. Available at: https://theses.fr/1994PAUU3014 (Accessed: 28 February 2024).

Dimitrova, T.D. and Leal-Calderon, F. (2001) 'Bulk Elasticity of Concentrated Protein-Stabilized Emulsions', *Langmuir*, 17(11), pp. 3235–3244. Available at: https://doi.org/10.1021/la001805n.

Dimuzio, A., Abrutyn, E. and Cantwell, M. (2005) 'Correlating sensory perception to the rheological parameters of emulsions: A predictive model for future product development?', in, pp. 356–358.

Ding, W. (2019) 'Polypeptide freeze-drying composition with skin activity and preparation method thereof'.

Dissette, V. *et al.* (2018) 'Evaluation of the Transepidermal Penetration of a Carnosine Complex in Gel Formulation by 3D Skin Models', *Cosmetics*, 5(4), p. 67. Available at: https://doi.org/10.3390/cosmetics5040067.

Doucet, O. *et al.* (2013) 'Use of cosmetics against infrared radiation'. Available at: https://patents.google.com/patent/EP2545898A1/en (Accessed: 15 February 2024).

Drake, M. a. *et al.* (1999) 'Relationship Between Instrumental and Sensory Measurements of Cheese Texture', *Journal of Texture Studies*, 30(4), pp. 451–476. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1999.tb00230.x.

Dubuisson, P. and GUILLIER, N. (2022) 'Emulsion eau dans huile à haute teneur en phase interne aqueuse'. Available at: https://patents.google.com/patent/WO2022008691A1/fr?oq=WO2022008691+A1+ (Accessed: 27 March 2024).

Ebert, G., Platz, G. and Rehage, H. (1988) 'Elastic and Rheological Properties of Hydrocarbon Gels', *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, 92(10), pp. 1158–1164. Available at: https://doi.org/10.1002/bbpc.198800290.

Ehrman, M.C. and VELEZ, D.J.C. (2014) 'Modular Emulsion-Based Product Differentiation'. Available at: https://patents.google.com/patent/US20140335030A1/en?oq=US+2014%2f0335030 (Accessed: 27 March 2024).

Emanuele, E., Spencer, J.M. and Braun, M. (2014) 'An experimental double-blind irradiation study of a novel topical product (TPF 50) compared to other topical products with DNA repair enzymes, antioxidants, and growth factors with sunscreens: implications for preventing skin aging and cancer', *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 13(3), pp. 309–314.

Estanqueiro, M., Amaral, M.H. and Sousa Lobo, J.M. (2016) 'Comparison between sensory and instrumental characterization of topical formulations: impact of thickening agents', *International journal of cosmetic science*, 38(4), pp. 389–398. Available at: https://doi.org/10.1111/ics.12302.

Falke, S. and Betzel, C. (2019) 'Dynamic Light Scattering (DLS): Principles, Perspectives, Applications to Biological Samples', *Radiation in Bioanalysis*, 8, p. 173. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-030-28247-9_6.

Feuilloley, M. and Orange, N. (2019) 'Chapitre 2 Le dossier produit et la partie sécurité', in *Évaluation des produits cosmétiques. La sécurité*. Cosmetic Valley, pp. 29–45.

Foudazi, R. *et al.* (2015) 'Physical chemistry of highly concentrated emulsions', *Advances in Colloid and Interface Science*, 220, pp. 78–91. Available at: https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.03.002.

Foudazi, R. and Masalova, I. (2010) 'The Role of Interdroplet Interaction in the Physics of Highly Concentrated Emulsions', *Colloid Journal*, 72, pp. 74–92. Available at: https://doi.org/10.1134/S1061933X10010102.

Fournial, A.-G. (2008) *Contributions des techniques de RMN avancées à la déformulation de systèmes fluides complexes*. These de doctorat. Lille 2. Available at: https://www.theses.fr/2008LIL2S031 (Accessed: 29 February 2024).

Fox, L. *et al.* (2011) 'Topical and transdermal delivery of L-carnitine', 24, pp. 330–336. Available at: https://doi.org/10.1159/000330385.

Fradette, L., Brocart, B. and Tanguy, P.A. (2007) 'Comparison of Mixing Technologies for the Production of Concentrated Emulsions', *Chemical Engineering Research and Design*, 85(11), pp. 1553–1560. Available at: https://doi.org/10.1205/cherd06015.

Francois, M. *et al.* (2003) 'A mucoadhesive, cyclodextrin-based vaginal cream formulation of itraconazole', *AAPS PharmSci*, 5(1), pp. 50–54. Available at: https://doi.org/10.1208/ps050105.

Fu, Z. *et al.* (2010) 'Stabilization of water-in-octane nano-emulsion. Part I: Stabilized by mixed surfactant systems', *Fuel*, 89(10), pp. 2838–2843. Available at: https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.05.031.

Furuse, K. (1987) 'Vitamin E: biological and clinical aspects of topical treatment', *Cosmetics and toiletries* [Preprint]. Available at: https://www.semanticscholar.org/paper/Vitamin-E%3A-biological-and-clinical-aspects-of-Furuse/8c13c890c9a657b069691d8a5b0a659f65525534 (Accessed: 14 February 2024).

Gans, L. and Kligman, E. (2000) 'Re-emergence of topical retinol in dermatology', *Journal of Dermatological Treatment*, 11(1), pp. 47–52. Available at: https://doi.org/10.1080/09546630050517685.

Gao, H. *et al.* (2021) 'Review of recent advances in the preparation, properties, and applications of high internal phase emulsions', *Trends in Food Science & Technology*, 112. Available at: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.041.

Gebrauchsmusterschrift (2013) 'Microparticles with slimming, skin tightening and skin smoothing effects'.

Gennero, L. *et al.* (2011) 'A novel composition for in vitro and in vivo regeneration of skin and connective tissues', *Cell Biochemistry and Function*, 29(4), pp. 311–333. Available at: https://doi.org/10.1002/cbf.1751.

de Gennes, P.G. (1987) 'Polymers at an interface; a simplified view', *Advances in Colloid and Interface Science*, 27(3), pp. 189–209. Available at: https://doi.org/10.1016/0001-8686(87)85003-0.

Giesen, M. and Fuhrmann, G. (2012) 'Cosmetic, non-therapeutic use of extract of Fucus vesiculosus and carnitine and/or carnitine derivative, for increasing expression or activity of gene or protein from group of mitochondrial enzyme complexes'.

Gilbert, L. (2012) *Caractérisation physico-chimique et sensorielle d'ingrédients cosmétiques : Une approche méthodologique*. Available at: https://univ-amu.summon.serialssolutions.com/2.0.0/link/0/eLvHCXMwdV1NSwMxEA3Sg4gXRaV-kpun1WST7oc3qS0reBEreCvJJEOLdBf2w6P_p7-jf8xJW6EIHsPk9Ejey0tmJoyp-E5EfzjBoSclBGG0USg9aEW6muWYkUQYIUL581sRF0Xy-hH_tt1utlmWdBBqyDRiTUZdxi-j4jFQ672roAsXaKGEOtVhQX8_T4hYjfXNjkSMj9jh087T9jHbw_qEfQ7X7ZBXy3qbNcM3NwlVBLP5IrRO5b7lDVnJiiwrWXjubklL6tUyJGK1DYeqWayWbZjZ8Af-Xnq-7gJOUPMQmJGrDOxF8VM2GY8mwyLafm8QmUykkcZQEOw8ORYNgwS1SZwzYGOgfWW1FC5DiTmANW6Q5BnprCSzklobp9KjUWesV1al7zMuNFgAVMrbRGMKFgUoq9A4LTObDs5ZP6Ay3SA53YXx4v_QJTsIw5C7IcUV67V156_ZflfOvyKz6G7WgP8AvHCRBg.

Gilbert, L. and Savary, G. (2020) 'Chapitre 5- Polymères texturants', in *Matières prmières cosmétiques- Ingrédients sensoriels*. Lavoisier TEC&DOC, pp. 114–147.

Goebel, A.S.B. *et al.* (2012) 'Dermal Peptide Delivery Using Enhancer Molecules and Colloidal Carrier Systems – Part I: Carnosine', *Skin Pharmacology and Physiology*, 25(6), pp. 281–287. Available at: https://doi.org/10.1159/000341085.

Grace and Harold (1982) 'Dispersion Phenomena in High Viscosity Immiscible Fluid Systems and Application of Static Mixers as Dispersion Devices in Such Systems', *Chemical Engineering Communications*, 14(3–6), pp. 225–277. Available at: https://doi.org/10.1080/00986448208911047.

Griffin, P.F. (1949) 'Reader Comprehension of News Stories: A Preliminary Study', *Journalism Quarterly*, 26(4), pp. 389–396. Available at: https://doi.org/10.1177/107769904902600402.

Gülçin, I. (2006) 'Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine', *Life Sciences*, 78(8), pp. 803–811. Available at: https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.05.103.

Gülçin, İ. (2012) 'Antioxidant activity of food constituents: an overview', *Archives of Toxicology*, 86(3), pp. 345–391. Available at: https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2.

Guth, J., Czuczak, M. and Lentner, V. (2005) 'Topical L-carnitine compositions'. Available at: https://patents.google.com/patent/US20050100519A1/en (Accessed: 17 February 2024).

Halla, N. *et al.* (2018) 'Cosmetics Preservation: A Review on Present Strategies', *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 23(7), p. 1571. Available at: https://doi.org/10.3390/molecules23071571.

Harnby, N., Edwards, M.F. and Nienow, A.W. (1993) 'Mixing in the process industries', *AIChE Journal*, 39(6), pp. 1098–1099. Available at: https://doi.org/10.1002/aic.690390622.

Hathroubi, S. (2014) 'Bacterial biofilms: their importance in animal health and public health/ Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique'. Available at: https://www.academia.edu/19484501/Bacterial_biofilms_their_importance_in_animal_health_and_public_health_Les_biofilms_bact%C3%A9riens_leur_importance_en_sant%C3%A9_animale_et_en_sant%C3%A9_publique (Accessed: 24 March 2024).

He, L., Shao, J. and Li, H. (2018) 'Method for solving facial relaxation, sag and droop through DMS facial rejuvenation data management'.

Hébraud, P. *et al.* (1997) 'Yielding and Rearrangements in Disordered Emulsions', *Physical Review Letters*, 78(24), pp. 4657–4660. Available at: https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.78.4657.

Hinze, J.O. (1955) 'Fundamentals of the hydrodynamic mechanism of splitting in dispersion processes', *AIChE Journal*, 1(3), pp. 289–295. Available at: https://doi.org/10.1002/aic.690010303.

Hobiger, V., Paljevac, M. and Krajnc, P. (2022) 'Emulsion Templated Porous Poly(thiol-enes): Influence of Photopolymerisation, Emulsion Composition, and Phase Behaviour on the Porous Structure and Morphology', *Polymers*, 14, p. 1338. Available at: https://doi.org/10.3390/polym14071338.

Hoffmann, M. and Grit, M. (2010) 'Conditioning Composition for Hair'. Available at: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2010124817 (Accessed: 15 February 2024).

Holland, L.A. *et al.* (2016) 'Article Absorbant Comprenant Une Composition De Parfum'.

Honda, E. *et al.* (2011) 'Beauty Set for Improving Flabbiness and Beauty Method Using the Same'.

Hornebeck, W. (2003) 'Down-regulation of tissue inhibitor of matrix metalloprotease-1 (TIMP-1) in aged human skin contributes to matrix degradation and impaired cell growth and survival', *Pathologie-Biologie*, 51(10), pp. 569–573. Available at: https://doi.org/10.1016/j.patbio.2003.09.003.

Hu, Y.-Q. *et al.* (2016) 'Fabrication and characterization of novel Pickering emulsions and Pickering high internal emulsions stabilized by gliadin colloidal particles', *Food Hydrocolloids*, 61, pp. 300–310. Available at:

https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.028.

Huynh-Ba, K. and Beumer Sassi, A. (2018) 'ANVISA: an introduction to a new regulatory agency with many challenges', *AAPS Open*, 4(1), p. 9. Available at: https://doi.org/10.1186/s41120-018-0029-x.

Hyun, K. *et al.* (2011) 'A Review of Nonlinear Oscillatory Shear Tests: Analysis and Application of Large Amplitude Oscillatory Shear (LAOS)', *Progress in Polymer Science - PROG POLYM SCI*, 36, pp. 1697–1753. Available at: https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.002.

ICH Q1C Guideline (2019) *Stability testing: requirements for new dosage forms - Scientific guideline | European Medicines Agency*. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q1c-stability-testing-requirements-new-dosage-forms-scientific-guideline (Accessed: 29 February 2024).

Irina, M. and Ya, M.A. (2007) 'Rheology of Highly Concentrated Emulsions – Concentration and Droplet Size Dependencies', *Applied Rheology*, 17(4), pp. 42250–9. Available at: https://doi.org/10.1515/arh-2007-0011.

ISO 11930:2019 (no date) *Cosmetics — Microbiology — Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product*. Available at: https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:11930:ed-2:v1:en (Accessed: 29 February 2024).

ISO 17516:2014 (no date) *Norme*, *ISO*. Available at: https://www.iso.org/fr/standard/59938.html (Accessed: 29 February 2024).

Jager-Lezer, N. *et al.* (1998) 'Rheological analysis of highly concentrated w/o emulsions', *Rheologica acta*, 37(2), pp. 129–138. Available at: https://doi.org/10.1007/s003970050099.

Jeongdaejun and Byeonyunseon (2020) 'Manufacturing Method of a Treating Component for Wrinkle-Care and Lipolysis'.

Jiao, B. *et al.* (2018) 'High-Internal-Phase Pickering Emulsions Stabilized Solely by Peanut-Protein-Isolate Microgel Particles with Multiple Potential Applications', *Angewandte Chemie International Edition*, 57(30), pp. 9274–9278. Available at: https://doi.org/10.1002/anie.201801350.

Jobeili, L. (2018) *Évolution de modèles tridimensionnels de peau reconstruite pour approfondir la connaissance des mécanismes du vieillissement cutané et validation de l'efficacité « anti-âge » du sélénium*. phdthesis. Université de Lyon. Available at: https://theses.hal.science/tel-02076186 (Accessed: 14 February 2024).

Jones, D.S., Woolfson, A.D. and Djokic, J. (1996) 'Texture profile analysis of bioadhesive polymeric semisolids: Mechanical characterization and investigation of interactions between formulation components', *Journal of Applied Polymer Science*, 61(12), pp. 2229–2234. Available at: https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19960919)61:12<2229::AID-APP24>3.0.CO;2-0.

Jost, F., Leiter, H. and Schwuger, M.J. (1988) 'Synergisms in binary surfactant mixtures', *Colloid and Polymer Science*, 266(6), pp. 554–561. Available at: https://doi.org/10.1007/BF01420767.

Kabalnov, A.S., Pertzov, A.V. and Shchukin, E.D. (1987) 'Ostwald ripening in two-component disperse phase systems: Application to emulsion stability', *Colloids and Surfaces*, 24(1), pp. 19–32. Available at: https://doi.org/10.1016/0166-6622(87)80258-5.

Kabalnov, A.S. and Shchukin, E.D. (1992) 'Ostwald ripening theory: applications to fluorocarbon emulsion stability', *Advances in Colloid and Interface Science*, 38, pp. 69–97. Available at: https://doi.org/10.1016/0001-8686(92)80043-W.

Kaczvinsky, J.R. *et al.* (2009) 'Efficacy of anti-aging products for periorbital wrinkles as measured by 3-D imaging', *Journal of Cosmetic Dermatology*, 8(3), pp. 228–233. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1473-2165.2009.00444.x.

Kamimura, M. and Matsuzawa, T. (1968) 'Percutaneous absorption of alpha-tocopheryl acetate', *The Journal of Vitaminology*, 14(2), pp. 150–159. Available at: https://doi.org/10.5925/jnsv1954.14.150.

Kealy, T. (2006) 'Application of liquid and solid rheological technologies to the textural characterisation of semi-solid foods', *Food Research International*, 39(3), pp. 265–276. Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.016.

Keen, M.A. and Hassan, I. (2016) 'Vitamin E in dermatology', *Indian Dermatology Online Journal*, 7(4), pp. 311–315. Available at: https://doi.org/10.4103/2229-5178.185494.

Knowlton, E.D., Pine, D.J. and Cipelletti, L. (2014) 'A microscopic view of the yielding transition in concentrated emulsions', *Soft Matter*, 10(36), pp. 6931–6940. Available at: https://doi.org/10.1039/C4SM00531G.

Kralchevsky, P.A. and Denkov, N.D. (1995) 'Analytical expression for the oscillatory structural surface force', *Chemical Physics Letters*, 240(4), pp. 385–392. Available at: https://doi.org/10.1016/0009-2614(95)00539-G.

Kreimer, S. *et al.* (2015) 'Mass-Spectrometry-Based Molecular Characterization of Extracellular Vesicles: Lipidomics and Proteomics', *Journal of proteome research*, 14(6), pp. 2367–2384. Available at: https://doi.org/10.1021/pr501279t.

Krutmann, J. *et al.* (2017) 'The skin aging exposome', *Journal of Dermatological Science*, 85(3), pp. 152–161. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2016.09.015.

Kunieda, H. *et al.* (1987a) 'The formation of gel-emulsions in a water/nonionic surfactant/oil system', *Colloids and Surfaces*, 24(2), pp. 225–237. Available at: https://doi.org/10.1016/0166-6622(87)80352-9.

Kunieda, H. *et al.* (1987b) 'The formation of gel-emulsions in a water/nonionic surfactant/oil system', *Colloids and Surfaces*, 24(2), pp. 225–237. Available at: https://doi.org/10.1016/0166-6622(87)80352-9.

Lafforgue, C. (2006a) 'Chapitre 27: Actifs anti-vieillissement', in *Actifs et additifs en cosmétologie*. 3rd edn. Lavoisier TEC&DOC, pp. 591–592.

Lafforgue, C. (2006b) 'Chapitre 27: Actifs anti-vieillissement', in *Actifs et additifs en cosmétologie*. 3rd edn. Lavoisier TEC&DOC, pp. 592–593.

Lafforgue, C. (2006c) 'Chapitre 27: Actifs anti-vieillissement', in *Actifs et additifs en cosmétologie*. 3rd edn. Lavoisier TEC&DOC, p. 593.

Langenfeld, A. (1999) *Emulsions concentrées inverses : relation entre le comportement rhéologique et les propriétés physico-chimiques : application au processus d'émulsification*. These de doctorat. Nancy 1. Available at: https://www.theses.fr/1999NAN10255 (Accessed: 27 February 2024).

Lee, M. *et al.* (2019) 'Ultra-Stable Water-in-Oil High Internal Phase Emulsions Featuring Interfacial and Biphasic Network Stabilization', *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11. Available at: https://doi.org/10.1021/acsami.9b05089.

Leverett, J.C., Missler, S.R. and Fast, D.J. (2008) 'Liposome containing cardiolipin for improvement of mitochondrial function'.

Lin, W.-H. *et al.* (2007) 'Different probiotic properties for Lactobacillus fermentum strains isolated from swine and poultry', *Anaerobe*, 13(3–4), pp. 107–113. Available at: https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.04.006.

Lintner, K. and Peschard, O. (2000) 'Biologically active peptides: from a laboratory bench curiosity to a functional skin care product', *International Journal of Cosmetic Science*, 22(3), pp. 207–218. Available at: https://doi.org/10.1046/j.1467-2494.2000.00010.x.

Lissant, K.J. (1966) 'The geometry of high-internal-phase-ratio emulsions', *Journal of Colloid and Interface Science*, 22(5), pp. 462–468. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(66)90091-9.

Liu, A.J. *et al.* (1996) 'Anomalous Viscous Loss in Emulsions', *Physical Review Letters*, 76(16), pp. 3017–3020. Available at: https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.76.3017.

Liu, M. *et al.* (2022) 'Anti-ageing peptides and proteins for topical applications: a review', *Pharmaceutical Development and Technology*, 27(1), pp. 108–125. Available at: https://doi.org/10.1080/10837450.2021.2023569.

L'Oréal Rapport Annuel | Marché de la beauté (2023) *L'Oréal Rapport Annuel | Marché de la beauté*, *L'Oréal Finance*. Available at: https://www.loreal-finance.com/fr/rapport-annuel-2022/marche-de-la-beaute/ (Accessed: 14 February 2024).

Ludot, C. (2013) *Développement de méthodologies de synthèse de tensioactifs glycosidiques à partir de biomasse lignocellulosique*. These de doctorat. Reims. Available at: https://www.theses.fr/2013REIMS045 (Accessed: 27 February 2024).

Lukic, M. *et al.* (2012) 'A combined approach in characterization of an effective w/o hand cream: the influence of emollient on textural, sensorial and in vivo skin performance', *International Journal of Cosmetic Science*, 34(2), pp. 140–149. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2011.00693.x.

Ma, Z. *et al.* (2001) 'Compositions De Soins D'hygiene Personnelle Et Procedes D'utilisation Systemes Eau Dans Huile De Silicone Volatile En Phase Interne Elevee'.

Maestro, A. *et al.* (2013) 'Liquid dispersions under gravity: volume fraction profile and osmotic pressure', *Soft matter*, 9(8), pp. 2531–254. Available at: https://doi.org/10.1039/c2sm27668b.

Malkin, A.Y. *et al.* (2004) 'Effect of droplet size on the rheological properties of highly-concentrated w/o emulsions', *Rheologica Acta*, 43(6), pp. 584–591. Available at: https://doi.org/10.1007/s00397-003-0347-2.

Malkin, A.Ya. and Masalova, I. (2007) 'Shear and normal stresses in flow of highly concentrated emulsions', *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 147(1), pp. 65–68. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jnnfm.2007.07.003.

Mannheimer, R.J. (1972) 'Anomalous rheological characteristics of a high-internal-phase-ratio emulsion', *Journal of Colloid and Interface Science*, 40(3), pp. 370–382. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(72)90346-3.

Martin, R.M. (2014) 'Composition'.

Martini, M.-C. (2006) 'Chapitre 22: Agents hydratans', in *Actifs et additifs en cosmétologie*. 3rd edn. Lavoisier TEC&DOC, pp. 435–452.

Masaki, H., Okano, Y. and Sakurai, H. (1999) 'Generation of active oxygen species from advanced glycation end-products (AGEs) during ultraviolet light A (UVA) irradiation and a possible mechanism for cell damaging', *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1428(1), pp. 45–56. Available at: https://doi.org/10.1016/s0304-4165(99)00056-2.

Masalova, I. *et al.* (2006) 'Evolution of rheological properties of highly concentrated emulsions with aging — Emulsion-to-suspension transition', *Journal of Rheology*, 50(4), pp. 435–451. Available at: https://doi.org/10.1122/1.2206712.

Masalova, I. (2007) 'Rheology of Highly Concentrated Emulsions – Concentration and Droplet Size Dependencies', *Applied Rheology*, 17, pp. 42250–1. Available at: https://doi.org/10.1515/arh-2007-0011.

Masalova, I., Malkin, A.Ya. and Foudazi, R. (2008) 'Yield Stress of Emulsions and Suspensions as Measured in Steady Shearing and in Oscillations', *Applied Rheology*, 18(4), pp. 44790–8. Available at: https://doi.org/10.1515/arh-2008-0013.

Masalova, I., Slatter, P. and Wilson, K. (2004) 'Effect of droplet size on the rheological properties of highly-concentrated w/o emulsions', *Rheologica Acta*, 43, pp. 584–591. Available at: https://doi.org/10.1007/s00397-003-0347-2.

Mason, T.G. *et al.* (1997) 'Osmotic pressure and viscoelastic shear moduli of concentrated emulsions', *Physical Review E*, 56(3), pp. 3150–3166. Available at: https://doi.org/10.1103/PhysRevE.56.3150.

Mason, T.G. (1999) 'New fundamental concepts in emulsion rheology', *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 4(3), pp. 231–238. Available at: https://doi.org/10.1016/S1359-0294(99)00035-7.

Mason, T.G. and Bibette, J. (1997) *Shear Rupturing of Droplets in Complex Fluids | Langmuir*. Available at: https://pubs-acs-org.lama.univ-amu.fr/doi/10.1021/la9700580 (Accessed: 19 February 2024).

Mason, T.G., Bibette, J. and Weitz, D.A. (1996) 'Yielding and Flow of Monodisperse Emulsions', *Journal of Colloid and Interface Science*, 179(2), pp. 439–448. Available at: https://doi.org/10.1006/jcis.1996.0235.

Maurício, E. *et al.* (2017) 'Efficiency of Nisin as Preservative in Cosmetics and Topical Products', *Cosmetics*. Available at: https://www.researchgate.net/publication/320478257_Efficiency_of_Nisin_as_Preservative_in_Cosmetics_and_Topical_Products (Accessed: 29 February 2024).

Meeker, S.P., Bonnecaze, R.T. and Cloitre, M. (2004) 'Slip and Flow in Soft Particle Pastes', *Physical Review Letters*, 92(19), p. 198302. Available at: https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.92.198302.

Mengual, O. *et al.* (1999) 'TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis', *Talanta*, 50(2), pp. 445–456. Available at: https://doi.org/10.1016/s0039-9140(99)00129-0.

Meullenet, J.-F. c. *et al.* (1997) 'Bi-Cyclical Instrument for Assessing Texture Profile Parameters and Its Relationship to Sensory Evaluation of Texture', *Journal of Texture Studies*, 28(1), pp. 101–118. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1997.tb00104.x.

Mishchuk, N.A., Sanfeld, A. and Steinchen, A. (2004) 'Interparticle interactions in concentrate water–oil emulsions', *Advances in Colloid and Interface Science*, 112(1), pp. 129–157. Available at: https://doi.org/10.1016/j.cis.2004.09.006.

Miyamoto, M., Oda, Y. and Goto, M. (2019) 'Method for producing nonaqueous composition for external use on skin'. Available at: https://patents.google.com/patent/WO2019068847A1/en (Accessed: 15 March 2022).

Møller, P., Mewis, J. and Bonn, D. (2006) 'Yield Stress and Thixotropy: On the Difficulty of Measuring Yield Stresses in Practice', *Soft Matter*, 2, pp. 274–283. Available at: https://doi.org/10.1039/b517840a.

Montagnat-Rentier, C. (2014) 'Vieillissement de la peau et les produits cosmétiques anti-âge actuels en pharmacie : la réglementation, leur composition, leur efficacité et l'attente des clients', p. 157.

Moon, H.-I. *et al.* (2005) 'The effect of flavonol glycoside on the expressions of matrix metalloproteinase-1 in ultraviolet-irradiated cultured human skin fibroblasts', *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1–3), pp. 176–179. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.032.

Mooney, M. (1951) 'The viscosity of a concentrated suspension of spherical particles', *Journal of Colloid Science*, 6(2), pp. 162–170. Available at: https://doi.org/10.1016/0095-8522(51)90036-0.

Mora Huertas, A.C. *et al.* (2016) 'Molecular-level insights into aging processes of skin elastin', *Biochimie*, 128–129, pp. 163–173. Available at: https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.08.010.

Morariu, M. (2006) 'Topical formulations and methods of use'. Available at: https://patents.google.com/patent/US20060216251A1/en (Accessed: 8 March 2022).

Morávková, T. and Petr, S. (2011) 'Rheological and Textural Properties of Cosmetic Emulsions', *Applied Rheology*, 21(3). Available at: https://doi.org/10.3933/applrheol-21-35200.

Morávková, T. and Stern, P. (2019) 'Rheological and Textural Properties of Cosmetic Emulsions', *Applied Rheology*, 21. Available at: https://doi.org/10.3933/ApplRheol-21-35200.

Muguet, V. (2017) 'Chapitre- 42 Agents de texture hydrophiles', in *Actifs et additifs en cométologie*. 3 édition. Lavoisier TEC&DOC, pp. 956–1011.

Nakanishi, H. (2021) 'Skin External Liquid Agents, Fat-Reducing Agents, and Slimming Agents'.

Narda, M. *et al.* (2018) 'Novel Facial Cream Containing Carnosine Inhibits Formation of Advanced Glycation End-Products in Human Skin', *Skin Pharmacology and Physiology*, 31, pp. 324–331. Available at: https://doi.org/10.1159/000492276.

Naylor, E.C., Watson, R.E.B. and Sherratt, M.J. (2011) 'Molecular aspects of skin ageing', *Maturitas*, 69(3), pp. 249–256. Available at: https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2011.04.011.

Nino, M. (2011) 'Carnosine and N-Acetylcarnosine Induce Inhibition of UVB Erythema in Human Skin', *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 01, pp. 177–179. Available at: https://doi.org/10.4236/jcdsa.2011.14027.

Noel, J.R. *et al.* (2002) 'Procede De Fabrication De Mousses Absorbantes a Structure Tridimensionnelle'.

Norme ISO 5492 (2008) *ISO 5492:2008*, *ISO*. Available at: https://www.iso.org/fr/standard/38051.html (Accessed: 1 March 2024).

Okano, Y., Masaki, H. and Sakurai, H. (2002) 'Dysfunction of dermal fibroblasts induced by advanced glycation end-products (AGEs) and the contribution of a nonspecific interaction with cell membrane and AGEs', *Journal of Dermatological Science*, 29(3), pp. 171–180. Available at: https://doi.org/10.1016/s0923-1811(02)00021-x.

Oliveira, N. *et al.* (2022) 'Development and Optimization of a Topical Formulation with Castanea sativa Shells Extract Based on the Concept "Quality by Design"', *Sustainability*, 14(1), p. 129. Available at: https://doi.org/10.3390/su14010129.

Pal, R. (1999) 'Yield stress and viscoelastic properties of high internal phase ratio emulsions', *Colloid and Polymer Science*, 277(6), pp. 583–588. Available at: https://doi.org/10.1007/s003960050429.

Park, C.I., Cho, W. and Lee, S. (2003) 'Emulsion stability of cosmetic creams based on water-in-oil high internal phase emulsions', *Korea-australia Rheology Journal* [Preprint]. Available at: https://www.semanticscholar.org/paper/Emulsion-stability-of-cosmetic-creams-based-on-high-Park-Cho/49997aca90082b6b1b1362f67e11b4f0f6e82a2d (Accessed: 28 February 2024).

Park, C.I., Cho, Wan-gu and Lee, S.J. (2003) 'Emulsion stability of cosmetic creams based on water-in-oil high internal phase emulsions', in. 3, pp. 125–130.

Paruta Tuarez, E.A. (2010) *Émulsions inverses très concentrées : formulation, comportement rhéologique et modélisation*. These de doctorat. Vandoeuvre-les-Nancy, INPL. Available at: https://www.theses.fr/2010INPL008N (Accessed: 19 February 2024).

Paruta-Tuarez, E. *et al.* (2011) 'Title: Making Use of the Formulation-Composition Map To Prepare Highly Concentrated Emulsions with Particular Rheological Properties', *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50. Available at: https://doi.org/10.1021/ie101467h.

Pate, J.E. *et al.* (2003A) 'Process for preparing a cosmetic formulation'. Available at: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20030911&DB=&locale=en_EP&CC=US&NR=2003170193A1&KC=A1&ND=4 (Accessed: 26 March 2024).

Pate, J.E. *et al.* (2003B) 'Process for preparing a cosmetic formulation and a composition therefor'. Available at: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20030918&DB=&locale=en_EP&CC=US&NR=2003175316A1&KC=A1&ND=4 (Accessed: 26 March 2024).

Pei, Z. and Shi, Y. (2018) 'Preparation method of face-thinning mask liquid'.

Peker, S., Bora, K. and Över, Y. (2001) 'Effect of interfacial properties on the drop size distribution of high internal phase ratio emulsions', *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 182(1), pp. 43–56. Available at: https://doi.org/10.1016/S0927-7757(00)00839-6.

Philippe, M. and Bordier, T. (1998) 'Nouveaux Derives D'histidine Et Leur Utilisation En Cosmetique Ou En Pharmacie'.

Picard, C. and Bonnefille, M. (2020) 'Chapitre 12- Conclusion: évaluation instrumentale des ingrédients sensoriels.', in *Matières prmières cosmétiques- Ingrédients sensoriels*. Lavoisier TEC&DOC, pp. 267–296.

Pietta, P.G. (2000) 'Flavonoids as antioxidants', *Journal of Natural Products*, 63(7), pp. 1035–1042. Available at: https://doi.org/10.1021/np9904509.

Pons, R. *et al.* (1993) 'Viscoelastic properties of gel-emulsions: their relationship with structure and equilibrium properties', *Journal of physical chemistry (1952)*, 97(47), pp. 12320–12324. Available at: https://doi.org/10.1021/j100149a036.

Pons, R., Solans, C. and Tadros, T.F. (1995) 'Rheological Behavior of Highly Concentrated Oil-in-Water (o/w) Emulsions'. Available at: https://doi.org/10.1021/la00006a023.

Premium Beauty News (2023) *Les produits anti-âge toujours très populaires chez les Américaines*, *Premium Beauty News*. Available at: https://www.premiumbeautynews.com/fr/les-produits-anti-age-toujours,22073 (Accessed: 14 February 2024).

Princen, H.M. (1979) 'Highly concentrated emulsions. I. Cylindrical systems', *Journal of Colloid and Interface Science*, 71(1), pp. 55–66. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(79)90221-2.

Princen, H.M. (1983) 'Rheology of foams and highly concentrated emulsions: I. Elastic properties and yield stress of a cylindrical model system', *Journal of Colloid and Interface Science*, 91(1), pp. 160–175. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(83)90323-5.

Princen, H.M. (1985) 'Rheology of foams and highly concentrated emulsions. II. experimental study of the yield stress and wall effects for concentrated oil-in-water emulsions', *Journal of Colloid and Interface Science*, 105(1), pp. 150–171. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(85)90358-3.

Princen, H.M. and Kiss, A.D. (1989) 'Rheology of foams and highly concentrated emulsions: IV. An experimental study of the shear viscosity and yield stress of concentrated emulsions', *Journal of Colloid and Interface Science*, 128(1), pp. 176–187. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(89)90396-2.

PROSPECTOR (2023a) *Trouvez Carnitine pour applications en Produits cosmétiques & de soins | Recherchez fiches techniques, fiches de données de sécurité et commandez des échantillons.* Available at: https://www.ulprospector.com/fr/eu/PersonalCare/search?k=Carnitine&st=1 (Accessed: 13 March 2024).

PROSPECTOR (2023b) *Trouvez carnosine pour applications en Produits cosmétiques & de soins | Recherchez fiches techniques, fiches de données de sécurité et commandez des échantillons.* Available at: https://www.ulprospector.com/fr/eu/PersonalCare/search?k=carnosine&st=1 (Accessed: 13 March 2024).

Prüfer, J. and Prüfer, P. (2020) 'Data science for entrepreneurship research: studying demand dynamics for entrepreneurial skills in the Netherlands', *Small Business Economics*, 55, pp. 651–672.

Quan, T. *et al.* (2010) 'Reduced expression of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) mediates collagen loss in chronologically aged human skin', *The Journal of Investigative Dermatology*, 130(2), pp. 415–424. Available at: https://doi.org/10.1038/jid.2009.224.

Quan, Y.-S., Hara, C. and Kamiyama, F. (2022) 'Préparation Externe Pour Produit Cosmétique Et Produit Cosmétique'.

Quintana, J.M. *et al.* (2002) 'Effect of Salt on the Rheological Properties of Low-in-Fat O/W Emulsions Stabilised with Polysaccharides', *Food Science and Technology International*, 8(4), pp. 213–221. Available at: https://doi.org/10.1106/108201302028554.

Rahi, S. and Rana, A. (2019) 'Role of ICH guidelines in registration of Pharmaceutical Products', *International Journal of Drug Regulatory Affairs*, 7, pp. 14–27. Available at: https://doi.org/10.22270/ijdra.v7i4.365.

Rampado, R. and Peer, D. (2023) 'Design of experiments in the optimization of nanoparticle-based drug delivery systems', *Journal of Controlled Release*, 358, pp. 398–419. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.05.001.

Rangarajan, M. and Zatz, J.L. (2001) 'Effect of formulation on the delivery and metabolism of alpha-tocopheryl acetate', *Journal of Cosmetic Science*, 52(4), pp. 225–236.

Raper, P. (2022) 'Skin Care Formulation for Treatment of Cellulite'.

Ratschow, Cecile *et al.* (2014) 'Émulsion à effet "quick break"'. Available at: https://patents.google.com/patent/WO2014090615A2/fr (Accessed: 27 March 2024).

Ratschow, Cécile *et al.* (2014) 'Quick Breaking Emulsion'. Available at: https://patents.google.com/patent/DE102012222797A1/en (Accessed: 27 February 2024).

Ravey, J.C. and Stébé, M.J. (1990) 'Structure of inverse micelles and emulsion-gels with fluorinated nonionic surfactants. A small-angle neutron scattering study', in B. Lindman, J.B. Rosenholm, and P. Stenius (eds) *Surfactants and Macromolecules: Self-Assembly at Interfaces and in Bulk*. Darmstadt: Steinkopff (Progress in Colloid & Polymer Science), pp. 218–228. Available at: https://doi.org/10.1007/BFb0118261.

Ravey, J.C., Stébé, M.J. and Sauvage, S. (1994) 'Water in fluorocarbon gel emulsions: Structures and rheology', *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 91, pp. 237–257. Available at: https://doi.org/10.1016/0927-7757(94)02942-3.

Rawat, D., Christo, A.F. and Wimalasena, N.S. (2020) 'Feminine hygiene pad with hydrophilic nonwoven topsheet having enhanced skin feel and obscuring prformance'. Available at: https://patents.google.com/patent/US20200253795A1/en (Accessed: 22 February 2024).

Reeve, P. and Amigoni, S. (2008) *La rhéologie : un outil précieux pour la formulation cosmétique - p89 - N°323-324 - L'Actualité Chimique, le journal de la SCF*, *Société Chimique de France (SCF)*. Available at: https://new.societechimiquedefrance.fr/numero/la-rheologie-un-outil-precieux-pour-la-formulation-cosmetique-p89-n323-324/ (Accessed: 22 February 2024).

RÈGLEMENT (CE) No 1223/2009 (no date) *Règlementation des produits cosmétiques*, *ANSM*. Available at: https://ansm.sante.fr/documents/reference/reglementation-des-produits-cosmetiques (Accessed: 29 February 2024).

Reinelt, D.A. and Kraynik, A.M. (1996) 'Simple shearing flow of a dry Kelvin soap foam', *Journal of fluid mechanics*, 311(1), pp. 327–343. Available at: https://doi.org/10.1017/S0022112096002613.

Rice, C.L. and Whitehead, R. (1967) 'The theory of the coagulation of emulsions', *Journal of Colloid and Interface Science*, 23(2), pp. 174–181. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(67)90100-2.

Risso, F. (2000) 'THE MECHANISMS OF DEFORMATION AND BREAKUP OF DROPS AND BUBBLES', *Multiphase Science and Technology*, 12(1). Available at: https://doi.org/10.1615/MultScienTechn.v12.i1.10.

Roso, A. *et al.* (2023) 'Contribution of Cosmetic Ingredients and Skin Care Textures to Emotions', *International Journal of Cosmetic Science* [Preprint]. Available at: https://doi.org/10.1111/ics.12928.

Roso, A. and Brinet, R. (2004) 'Rheology and texture analysis used together to improve raw material choices', *Cosmetics and toiletries*, 119(6), pp. 53–60.

Rosso, J.D. *et al.* (2016) 'Understanding the Epidermal Barrier in Healthy and Compromised Skin: Clinically Relevant Information for the Dermatology Practitioner', *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 9(4 Suppl 1), pp. S2–S8.

Rostan, E.F. *et al.* (2002) 'Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin', *International Journal of Dermatology*, 41(9), pp. 606–611. Available at: https://doi.org/10.1046/j.1365-4362.2002.01567.x.

Russell, J.A. (2003) 'Core affect and the psychological construction of emotion', *Psychological Review*, 110(1), pp. 145–172. Available at: https://doi.org/10.1037/0033-295x.110.1.145.

Ruste, J. (2003) *Microscopie électronique à balayage - Principe et équipement : Dossier complet | Techniques de l'Ingénieur*. Available at: https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/archives-th12/archives-techniques-d-analyse-tiata/archive-2/microscopie-electronique-a-balayage-p865/ (Accessed: 29 February 2024).

Ryan, L. and Symington, A.M. (2015) 'Algal-oil supplements are a viable alternative to fish-oil supplements in terms of docosahexaenoic acid (22:6n-3; DHA)', *Journal of Functional Foods*, 19, pp. 852–858. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.06.023.

Ryota, N., Risa, I. and Yuko, S. (2015) 'Development and physiological functions of a carnitine derivative', *Fragrance Journal*, 43(4), pp. 54–57.

Salager, J.-L. *et al.* (2007) 'Emulsion formulation engineering for the practitioner', *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*, pp. 1–16.

Salager, J.-L. and Antón, R.E. (1999) 'Ionic microemulsions', *Handbook of Microemulsion Science and Technology*, pp. 247–280.

Sanatkaran, N., Masalova, I. and Malkin, A.Ya. (2014) 'Effect of surfactant on interfacial film and stability of highly concentrated emulsions stabilized by various binary surfactant mixtures', *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 461, pp. 85–91. Available at: https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.07.031.

Sasaki, K. *et al.* (2022) 'Microalgae extract induces antidepressant-like activity via neuroinflammation regulation and enhances the neurotransmitter system', *Food and Chemical Toxicology*, 170, p. 113508. Available at: https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113508.

Sato, C. (2020) 'Changes in emotions and attitude when using cosmetics', pp. 351–357.

Scherer, K.R. (1984) 'Emotion as a multicomponent process: A model and some cross-cultural data', *Review of Personality & Social Psychology*, 5, pp. 37–63.

Schulman, J.H., Stoeckenius, W. and Prince, L.M. (1959) 'Mechanism of Formation and Structure of Micro Emulsions by Electron Microscopy', *The Journal of Physical Chemistry*, 63(10), pp. 1677–1680. Available at: https://doi.org/10.1021/j150580a027.

Schwartz, N.O. (1975) 'ADAPTATION OF THE SENSORY TEXTURE PROFILE METHOD TO SKIN CARE PRODUCTS', *Journal of texture studies*, 6(1), pp. 33–42. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1975.tb01116.x.

Sebba, F. (1972) 'Biliquid foams—a preliminary report', *Journal of Colloid and Interface Science*, 40(3), pp. 468–474. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(72)90356-6.

Seth, J.R. *et al.* (2012) 'How do soft particle glasses yield and flow near solid surfaces?', *Soft Matter*, 8(1), p. 140.

Shekhawat, P.S. *et al.* (2013) 'Enzymes involved in L-carnitine biosynthesis are expressed by small intestinal enterocytes in mice: Implications for gut health', *Journal of Crohn's & colitis*, 7(6), pp. e197–e205. Available at: https://doi.org/10.1016/j.crohns.2012.08.011.

Sherman, P. (1970) *Industrial Rheology: With Particular Reference to Foods, Pharmaceuticals, and Cosmetics*. Academic Press.

Shyam, K.G. (no date) 'TOPICALDELIVERYSYSTEMFOR COSMETIC AND PHARMACEUTICAL AGENTS'.

Siegert, W. (2012) 'ISO 11930 – A Comparison to other Methods to Evaluate the Efficacy of Antimicrobial Preservation', *SOFW* [Preprint].

Smewing, J. (2007) 'Texture analysis to select packaging and formulate hair care products', *Cosmetics and toiletries*,

122, pp. 107–112.

Smith, R.M. and Dolan, J.W. (2017) *Introduction to modern liquid chromatography.* Wiley.

Solano, O.A.A. (2018) *Emulsions inverses trés concentrées: influence du procédé et de la formulation sur leurs propriétés rhéologiques*. L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE.

Solé, I. *et al.* (2017) 'DHA and l -carnitine loaded chitosan hydrogels as delivery systems for topical applications', *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 525, pp. 85–92. Available at: https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.04.056.

Springinsfeld, F. (2009) *Mécanismes de gélification et comportement rhéologique d'émulsions d'alcanes partiellement cristallisés.* phdthesis. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI. Available at: https://theses.hal.science/tel-00441897 (Accessed: 27 February 2024).

Stahl, W. and Sies, H. (2003) 'Antioxidant activity of carotenoids', *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6), pp. 345–351. Available at: https://doi.org/10.1016/s0098-2997(03)00030-x.

Stern, P., Valentova, H. and Pokorny, J. (2002) 'Rheological and textural characteristics of skin lotions', *Rheological and textural characteristics of skin lotions*, 128(4), pp. 34–37.

Stone, H. *et al.* (2004) 'Sensory Evaluation by Quantitative Descriptive Analysis', in *Descriptive Sensory Analysis in Practice*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 23–34. Available at: https://doi.org/10.1002/9780470385036.ch1c.

Su, J. *et al.* (2018a) 'Enhancing the Viability of Lactobacillus plantarum as Probiotics through Encapsulation with the High Internal Phase Emulsions Stabilized with Whey Protein Isolate Microgels', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66. Available at: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03807.

Su, J. *et al.* (2018b) 'Enhancing the Viability of Lactobacillus plantarum as Probiotics through Encapsulation with the High Internal Phase Emulsions Stabilized with Whey Protein Isolate Microgels', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66. Available at: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03807.

Suzuki, K. and Watanabe, T. (1971) 'RELATIONSHIP BETWEEN SENSORY ASSESSMENT AND RHEOLOGICAL PROPERTIES OF COSMETIC CREAMS', *Journal of Texture Studies*, 2(4), pp. 431–440. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1971.tb00591.x.

Szczesniak, A.S. (1963) 'Classification of Textural Characteristics', *Journal of food science*, 28(4), pp. 385–389. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1963.tb00215.x.

Tadros, T. (2004) 'Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions', *Advances in Colloid and Interface Science*, 108–109, pp. 227–258. Available at: https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.025.

Takakura, Y., Suzuki, K. and Omura, T. (2010) 'Produit Antisolaire De Type Émulsion Huile Dans Eau'.

Takaya, M. (2009) 'Skin Agent'.

Tang, X.-Y. *et al.* (2022) 'Fabrication of ultrastable water-in-oil high internal phase emulsion as versatile delivery vehicle through synergetic stabilization', *Food Hydrocolloids*, 126, p. 107455. Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107455.

Tansirikongkol, A., Visscher, M. and Wickett, R. (2007) 'Water-handling properties of vernix caseosa and a synthetic analogue', *Journal of cosmetic science*, 58, pp. 651–62.

Teichmueller, D. (2011) 'Cosmetic formulation, useful for reducing external appearance of cellulite or dimpled skin, comprises caffeine, L-carnitine, Centella asiatica extract, an extract of plants from Coleus or Plectranthus that contain forskolin and a carrier'.

Tharwat, A. (2016) 'Principal component analysis - a tutorial', *International Journal of Applied Pattern Recognition*,

3, p. 197. Available at: https://doi.org/10.1504/IJAPR.2016.079733.

Thiam, A.R., Bremond, N. and Bibette, J. (2011) 'Adhesive Emulsion Bilayers under an Electric Field: From Unzipping to Fusion', *Physical Review Letters*, 107(6), p. 068301. Available at: https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.107.068301.

Thibodeau, A. (2000) 'Inhibiteurs de métalloprotéinases : les actifs du futur', in. Available at: https://www.semanticscholar.org/paper/Inhibiteurs-de-m%C3%A9talloprot%C3%A9inases-%3A-les-actifs-du-Thibodeau/a4c686e3304c2336b91619b060da1d9ab4ada8d9 (Accessed: 14 February 2024).

Tokgoz, N.S. (1996) *Optimisation d'une émulsion multiple H/L/H renfermant de l'acide ascorbique, étude de libération et évaluation cosmétique*. These de doctorat. Paris 11. Available at: https://www.theses.fr/1996PA114826 (Accessed: 14 February 2024).

Tomashevskaia, M. and Pehratovic, H. (2019) 'Malodor Reduction of Cosmetic Compositions'.

Trappe, V. *et al.* (2001) 'Jamming phase diagram for attractive particles', *Nature*, 411(6839), pp. 772–775. Available at: https://doi.org/10.1038/35081021.

Tripathi, S. *et al.* (2017a) 'Rheological behavior of high internal phase water-in-oil emulsions: Effects of droplet size, phase mass fractions, salt concentration and aging', *Chemical Engineering Science*, 174, pp. 290–301. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ces.2017.09.016.

Tripathi, S. *et al.* (2017b) 'Rheological behavior of high internal phase water-in-oil emulsions: Effects of droplet size, phase mass fractions, salt concentration and aging', *Chemical Engineering Science*, 174, pp. 290–301. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ces.2017.09.016.

Trokhymchuk, A. *et al.* (2001) 'A Simple Calculation of Structural and Depletion Forces for Fluids/Suspensions Confined in a Film', *Langmuir*, 17. Available at: https://doi.org/10.1021/la010047d.

Trookman, N. *et al.* (2009) 'A formulation containing L-carnitine and other nutrients improves skin energy reserves and oxygen consumption in skin cells and improves the appearance of aging skin', *Journal of the American Academy of Dermatology*, 60(3, Supplement 1), p. AB29. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jaad.2008.11.149.

Vardar-Ünlü, G. *et al.* (2007) 'Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of Origanum minutiflorum O Schwarz & PH Davis', *Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of Origanum minutiflorum O Schwarz & PH Davis*, 87(2), pp. 255–259.

Vergilio, M.M., de Freitas, A.C.P. and da Rocha-Filho, P.A. (2022) 'Comparative sensory and instrumental analyses and principal components of commercial sunscreens', *Journal of Cosmetic Dermatology*, 21(2), pp. 729–739. Available at: https://doi.org/10.1111/jocd.14113.

Vermani, K., Garg, S. and Zaneveld, L.J.D. (2002) 'Assemblies for in vitro measurement of bioadhesive strength and retention characteristics in simulated vaginal environment', *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28(9), pp. 1133–1146. Available at: https://doi.org/10.1081/ddc-120014580.

Verwey, E.J.W. (1947) 'Theory of the Stability of Lyophobic Colloids', *Journal of physical & colloid chemistry*, 51(3), pp. 631–636. Available at: https://doi.org/10.1021/j150453a001.

Vielhaber, G. (2018) 'Preparations Comprising Carnosines'.

Vielhaber, G. and Maire, M.L. (2014) 'L'inhibition du vieillissement de peau induit par le rayonnement IR'. Available at: https://patents.google.com/patent/EP2769708A1/fr (Accessed: 15 February 2024).

Visscher, M. *et al.* (2001) 'Effect of semipermeable membranes on skin barrier repair following tape stripping', *Archives of Dermatological Research*, 293(10), pp. 491–499. Available at: https://doi.org/10.1007/pl00007463.

Vyhnalikova, J., Huilier, D. and Burnage, H. (1998) 'Étude numérique de la dispersion des particules lourdes dans une couche limite turbulente', *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series IIB - Mechanics-Physics-Chemistry-*

Astronomy, 326(2), pp. 103–110. Available at: https://doi.org/10.1016/S1251-8069(99)80071-2.

Wang, S., Kislalioglu, M.S. and Breuer, M. (1999) 'The effect of rheological properties of experimental moisturizing creams/lotions on their efficacy and perceptual attributes', *International Journal of Cosmetic Science*, 21(3), pp. 167–188. Available at: https://doi.org/10.1046/j.1467-2494.1999.203162.x.

Woods, M.E. and Krieger, I.M. (1970) 'Rheological studies on dispersions of uniform colloidal spheres I. Aqueous dispersions in steady shear flow', *Journal of Colloid and Interface Science*, 34(1), pp. 91–99. Available at: https://doi.org/10.1016/0021-9797(70)90262-6.

Wortel, L. (2005) *Linking Sensory and Rheology Characteristics*, *Cosmetics & Toiletries (120)4. P.57-66*. Available at: https://www.cosmeticsandtoiletries.com/research/methods-tools/article/21833669/linking-sensory-and-rheology-characteristics (Accessed: 5 March 2024).

Yang, T. *et al.* (2018) 'High internal phase emulsions stabilized by starch nanocrystals', *Food Hydrocolloids*, 82, pp. 230–238. Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.006.

Yates, D.E. and Dack, S.W. (1987) 'Emulsion explosive composition'. Available at: https://patents.google.com/patent/US4710248A/en (Accessed: 22 February 2024).

Young, T.J. and Mcginley, E.J. (1995) 'High Internal Phase Water/Oil Emulsions and Water/Oil/Water Emulsions'. Available at: https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=19950706&DB=&locale=en_EP&CC=WO&NR=9517953A1&KC=A1&ND=4 (Accessed: 26 March 2024).

Zapf, D. (2002) 'Emotion work and psychological well-being: A review of the literature and some conceptual considerations', *Human Resource Management Review*, 12(2), pp. 237–268. Available at: https://doi.org/10.1016/S1053-4822(02)00048-7.

Zeng, T. *et al.* (2017) 'Development of antioxidant Pickering high internal phase emulsions (HIPEs) stabilized by protein/polysaccharide hybrid particles as potential alternative for PHOs', *Food Chemistry*, 231, pp. 122–130. Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.116.

Zhang, F., Zong, C. and Liu, M. (2018) 'Sensitive and fast determination of glycyrrhizic acid in traditional Chinese medicines and health foods by 1 H NMR spectrometry.', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, pp. 1–7.

Zhang, H.Z., Dai, J.Y. and Wong, P. (2008) 'Moving ahead with W/O quick-breaking emulsions', p. 5.

Zhang, K. *et al.* (2018) 'Peculiarities of rheological behavior of highly concentrated water-in-oil emulsion: The role of droplet size, surfactant, oil and ammonium nitrate content', *Journal of Molecular Liquids*, 272, pp. 539–547. Available at: https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.09.091.

Zhang, Q. (2019) 'Technology for facial fat degradation and compaction and application thereof'.

Zhang, S. and Duan, E. (2018) 'Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside', *Cell Transplantation*, 27(5), pp. 729–738. Available at: https://doi.org/10.1177/0963689717725755.

Zhou, F.Z. *et al.* (2018) 'Development of antioxidant gliadin particle stabilized Pickering high internal phase emulsions (HIPEs) as oral delivery systems and the in vitro digestion fate', *Food & Function*, 9(2), pp. 959–970. Available at: https://doi.org/10.1039/c7fo01400g.

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1: *Récapitulatifs des familles des actifs ERO avec ses ingrédients, concentrations et recommandations.* 24

Tableau 2 *: Récapitulatif des actifs hydratants et ses recommandations.* 26

Tableau 3: *Les principaux antiglycans et leurs caractéristiques.* 29

Tableau 4: *Informations pratiques sur la L-Carnosine et la L-Carnitine.* 31

Tableau 5 : *Information chimique de la L-Carnosine* 32

Tableau 6 : *Informations chimiques de la L-Carnitine (PubChem, carnitine)* 39

Tableau 7: *Liste des principaux produits cosmétiques.* 47

Tableau 8: *Liste de principaux fournisseurs.* 49

Tableau 9: *Liste des principaux produits cosmétiques contenant de la carnitine.* 50

Tableau 10: *Liste de principaux fournisseur proposant la L-Carnitine.* 52

Tableau 11 : *Les groupements de nature chimique et leurs valeurs HLB.* 86

Tableau 12: *Résumé des types d'écoulements : simple et hyperbolique* 101

Tableau 13 : *Les trois conditions d'analyse et ses périodes de fréquence, conforme CIH.* 112

Tableau 14: *Les classifications organoleptiques d'apparence, couleur et odeur.* 114

Tableau 15 : *Exemples d'analyses de stabilité possibles pour chaque type de galénique (Bedoux, 2016).* 117

Tableau 16 : *Corrélations établies entre propriétés sensorielles et paramètres instrumentaux* 129

Tableau 17 : *Types de tests possibles avec le texturomètre et ses applications et réponses.* 131

Tableau 18 : *Définitions sensorielles des caractéristiques d'un analyse de profil de texture.* 133

Tableau 19 *: Liste des émulsionnants pour des émulsions très concentrée, eau dans huile.* 153

Tableau 20 : *Descriptif des huiles sélectionnés pour le plan d'expérience* 153

Tableau 21: *Descriptifs des agitateurs utilisés dans cette étude avec leur type d'écoulement.* 156

Tableau 22 : *Les bornes du domaine d'expérimentation.* 157

Tableau 23 : *Facteurs et domaine d'intérêt d'étude.* 162

Tableau 24 : *Variables et réponses du Plan d'Expérience.* 164

Tableau 25 : *Résultats synthétisés de l'influence de chaque variable et de ses niveaux.* 167

Tableau 26 : *Facteurs et domaine d'intérêt d'étude.* 225

Tableau 27 : *Variables et réponses de texture* 225

Tableau 28 : *Variables et réponses du « Challenge Test »* 226

Tableau 29 *: Résultats balayage contrainte à J+1 et à J+90.* 227

Tableau 31 : *Les 6 formules avec concentrations différents des actifs (L-carnosine et L-carnitine).* 285

Tableau 32 : *Résultats comparatifs de la balayage contraint à des contraintes entre 0,1Pa et 100Pa.* 289

Tableau 33 : *Résultats de la balayage fréquence.* 290

Tableau 34 : *Différents viscosités conforme les formules et cisaillements différents.* 292

Tableau 35 : *Résultats de l'écoulement.* 294

Tableau 36 : *Les résultats APT.* 296

Tableau 37 : *Challenge test NF EN ISO 11930.* 302

TABLE DES FIGURES

Figure 1: *Structure de la peau* *13*

Figure 2 *: Les effets des facteurs externes sur la peau* *16*

Figure 3 : *Les conséquences du vieillissement sur l'épiderme et le derme de la peau.* *19*

Figure 4 : *Recherche bibliographique L-Carnosine.* *33*

Figure 5 : *Nombre des articles et brevets pour le mot clés "L-carnosine+Skin+Cosmetic"* *34*

Figure 6 : *Recherche bibliographique L-Carnitine.* *40*

Figure 7 : *Recherche bibliographique.* *41*

Figure 8: *Recherche bibliographique L-Carnosine + L-Carnitine.* *45*

Figure 9: *Graphique sur le Domaine de dispersion.* *56*

Figure 10: *Comportement schématique structurel.* *59*

Figure 11: *Photo d'ETC au microscope confocal.* *61*

Figure 12 : *Graphique d'un comportement adhésif et répulsif.* *66*

Figure 13 : *Diverses études examinant l'impact des fractions volumiques sur la pression osmotique.* *69*

Figure 14 : *Balayage Contrainte.* *72*

Figure 15 : *Balayage Contrainte.* *73*

Figure 16 : *Comparaison des graphiques des balayages contrainte-déformation.* *74*

Figure 17 : *Graphiques de Balayage contrainte.* *75*

Figure 18 : *Analyse en balayage fréquence des ETCs.* *77*

Figure 19 : *Graphiques d'écoulements des ETCs.* *80*

Figure 20 : *Recherche bibliographique des émulsions très concentrée.* *82*

Figure 21 : *Les principales entreprises et groupes qui détiennent des brevets relatifs aux ETCs.* *83*

Figure 22 : *Exemples des tensioactifs pour leurs applications dans les domaines de HLB.* *87*

Figure 23 : *Les trois étapes du processus de coalescence.* *92*

Figure 24 : *Classement des mélangeurs.* *104*

Figure 25 : *Graphiques des ETCs et ses capacité de récupération.* *106*

Figure 26 : *Images de microscopie optique.* *106*

Figure 27 : *Protocole de stabilité d'un référentiel pharmaceutique.* *111*

Figure 28 : *Causes, conséquences et actions préventives de la contamination des cosmétiques.* *118*

Figure 29 : *Étapes de l'analyse sensorielle.* *124*

Figure 30 : *Graphique avec les gammes de cisaillements.* *126*

Figure 31 : *Courbe issue d'un test TPA présentant les différents paramètres de texture pouvant être obtenus.* *132*

Figure 32 : *Graphique avec les différents produits cosmétiques et ses sensations.* *135*

Figure 33 : *Analyse de prosodie.* *136*

Figure 34 *: Comparatif sensoriel d'une émulsion huile dans eau et d'une ETC eau dans l'huile.* *137*

Figure 35 : *Schéma de la Data Science avec ses domaines interdisciplinaires.* *139*

Figure 36 : *Recherche avancée de Web of Science Core Collection sur les travaux impliquant le DoE.* *140*

Figure 37 : *Les publications et citations concernant le Design of Experiments (DoE).* *141*
Figure 38 : *Tableau ACP* *142*
Figure 39 : *Exemple d'un graphique ACP.* *144*
Figure 40 : *Les 4 étapes.* *147*
Figure 41 *:Étapes de la formulation ETC (E/H).* *158*
Figure 42 : *Résultats de l'article 1.* *165*
Figure 43 : *Analyse de composant principal avec les 30 formules.* *166*
Figure 44 : *Résumé de l'article 1* *168*
Figure 45 : *Corrélations entre la thixotropie, les facteurs d'influence et la composition des formules.* *221*
Figure 46 : *Résultats de l'ACP et les textures correspondants.* *228*
Figure 47 : *Diagrammes des effets.* *229*
Figure 48 *: Diagrammes des effets des tests du challenge test.* *230*
Figure 49 : *Résumé de l'article 2* *231*
Figure 50 : *Résumé de l'application industrielle.* *284*
Figure 51 : *Illustration de la formulation.* *287*
Figure 52 : *Comportement des formulations lors du balayage contraint comparées à la formule de base.* *289*
Figure 53 : *Graphiques des balayages de fréquence.* *291*
Figure 54 : *Graphiques des écoulements.* *293*
Figure 55 : *Graphiques de l'écoulement.* *295*
Figure 56 : *Résultats d'analyse de profil de texture par l'analyse de composant principal.* *297*
Figure 57 : *Images du profil de texture.* *297*
Figure 58 : *Images des formules pendant l'analyse de profil de texture.* *298*
Figure 59 : *Comparatifs des résultats des TSI* *300*
Figure 60 : *Résumés de toutes les étapes de cette études* ..... ***Erreur ! Signet non défini.***