

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 8 Mai 1945 Guelma



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de génie des procédés

THÈSE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT EN SCIENCE

Filière : Génie des procédés

Présentée par
M^{me} BOUFAS Samira

Intitulée

Etude des Fluides à Rhéologie Complexe : Cas des Bio-polymères à base de Chitosane/ Cellulose/ Alginate

Soutenue le : 14/10/2021

Devant le Jury composé de :

Mr. NEMAMCHA Abderrafik	Prof.	Univ. 8 Mai 1945 Guelma	Président
Mr. BENHAMZA M ^{ed} El Hocine	Prof.	Univ. 8 Mai 1945 Guelma	Rapporteur
Mme. BECHIRI Ouahiba	Prof.	Univ. Annaba	Examineur
Mr. CHETTIBI Mohamed	Prof	Univ. Annaba	Examineur

Année Universitaire : 2020 - 2021



A mes chers parents,

A mes frères et soeurs

A mes ami(e)s,

Et à tous ceux qui me sont chers.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont d'abord à Allah, le tout puissant, pour m'avoir accordé autant de patience et de volonté pour mener à terme ce travail.

Les travaux de recherche présentés dans cette thèse ont été menés au laboratoire d'Analyses Industrielles et Génie des Matériaux de l'université de Guelma (LAIGM).

Mes remerciements vont à mon directeur de thèse le Professeur. Mohamed El Hocine BENHAMZA pour la confiance et la liberté qu'il m'a accordées en acceptant d'encadrer ce travail doctoral, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'il a consacrées à diriger cette recherche de manière perfectionnée et minutieuse.

Je tiens à remercier tous les membres du LAIGM qui ont contribué de près ou de loin à ma thèse.

Je remercie le professeur NEMAMCHA Abderrafik qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je suis reconnaissante au professeure BECHIRI Ouahiba, et le professeur CHETTIBI Mohamed d'avoir bien voulu se déplacer pour participer au jury de soutenance. Je leur exprime ma gratitude pour le temps consacré à lire et à juger mon travail

Je remercie le professeur BEZZAZI Abderrezak, le directeur du laboratoire de mécanique de l'Université de Guelma, et son équipe pour m'avoir permis l'accès à son laboratoire.

J'aimerais également remercier Madame MADI Fathiha, Professeure à l'Université de Guelma, pour son aide et ses conseils.

J'adresse également mes remerciements à mes amies et enseignantes de l'université de Guelma pour toutes les heures qu'elles ont consacrées à la relecture du document final.

Ma reconnaissance va à ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif de ce travail doctoral : ma famille.

J'oublie sûrement certaines personnes qui par un geste ou une discussion ont apporté bien plus que l'acte, qu'ils reçoivent encore une fois mes sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS -----	
LISTE DES FIGURES -----	I
LISTE DES TABLEAUX -----	III
LISTE DES ABBREVIATIONS -----	IV
INTRODUCTION GENERALE -----	1
CHAPITRE I -----	4
GENERALITE SUR LES POLYSACCHARIDES : CHITOSANE, HYDROXYDE ETHYLCELLULOSE ET CARRAGHENANE -----	4
I.1. Introduction -----	5
I.2. La chitine et le chitosane -----	5
I.2.1. La chitine-----	5
I.2.2. Aperçu historique -----	6
I.2.3. Le chitosane-----	7
I.3. Caractérisation de chitosane -----	8
I.3.1. Détermination du degré de désacétylation -----	8
I.3.2. Poids moléculaire du chitosane-----	9
I.3.3. La viscosité du chitosane-----	9
I.4. Le chitosane en solution -----	10
I.5. Propriétés et applications du chitosane -----	11
I.6. La production de chitine et ses dérivés -----	12
I.6.1. L'approche chimique -----	13
I.6.2. L'approche biologique -----	16
I.7. Hydroxyéthylcellulose -----	16
I.7.1. Les fonctions de l'hydroxyéthylcellulose -----	17
I.7.2. Caractéristiques du produit -----	17
I.7.3. Champ d'application-----	18
I.8. La carraghénane -----	18
I.9. Conclusion -----	20
I.10. Références du chapitre I -----	21
CHAPITRE II -----	25
STRUCTURE ET RHEOLOGIE -----	25
DES GELS -----	25

II.1. Introduction	26
II.2. Structure des polymères naturels et biologiques	27
II.3. Classification des gels	29
II.4. Propriétés rhéologiques	30
II.4.1. Concepts fondamentaux de rhéologie	30
II.4.2. Propriétés rhéologiques des polymères	36
II.5. Gélification des biopolymères	38
II.5.1. Gélification du chitosane	38
II.5.2. Influence des paramètres sur la gélification des biopolymères	41
II.6. Conclusion	43
II.7. Références du chapitre II	44
CHAPITRE III	47
TECHNIQUES DE MESURES ET CARACTERISATIONS	47
III.1.Introduction	48
III.2. Caractérisation structurale	48
III.2.1. Analyse granulométrique	48
III.2.2. Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF)	52
III.3. Caractérisation thermique	54
III.3.1. Analyse thermique différentielle (DSC)	54
III.3.2. Analyse Thermogravimétrique (ATG)	56
III.4. Caractérisation rhéologique	57
III.5. Méthodologie de plan d'expérience	59
III.6. Conclusion	60
III.7. Références du chapitre III	61
CHAPITRE IV	63
MATERIELS ET PROTOCOLES EXPERIMENTAUX	63
IV.1. Matériels	64
IV.2. Processus d'obtention du chitosane	65
IV.2.1. Extraction de la chitine	65
IV.2.2. Extraction de chitosane	68
IV.2.3. Solubilité du chitosane	69
IV.4. Méthodes expérimentales	70
IV.4.1. Synthèse des gels	70
IV.4.2. Méthodes et caractérisations	72
IV.5. Conclusion	75

IV.6. Références du chapitre IV	76
CHAPITRE V	77
RESULTATS ET DISCUSSIONS	77
V.1. Introduction	78
V.2. Modélisation	78
V.3. Caractérisation	79
V.3.1. Résultats de l'analyse granulométrique	79
V.3.2. Résultats de l'analyse IR-FT	80
V.3.3. Résultats des analyses thermiques	82
V.3.4. Résultats des mesures rhéologiques et propriétés viscoélastiques	83
V.4. Conclusion	88
V.5. Références du chapitre V	91
CONCLUSION GENERALE	93
ANNEXES	95
Annexe A 1 : Les plans de Méthode Surfaces de Réponse	96
A1.1. Les plans de Méthode Surfaces de Réponse (RSM)	96
A1.1.1. Les plans composites	96
A1.1.2. Les plans de Box-Behnken	97
A1.1.3. Les plans de Doehlert	97
A1.2. Références d'annexe A1	98
Annexe A2 : Certains types de crevettes marines	99
Annexe A 3 : Les valeurs des fréquences de vibrations de certaines fonctions	100
Annexe A 4	102
ملخص	105
Abstract	106
Résumé	107
Publication internationale	

LISTE DES FIGURES

Figure I.1. Structure de:(a) cellulose, (b) chitine et (c) chitosane [4].....	6
Figure I.2. Sources de chitine et de chitosane [12].....	7
Figure I.3. Structure de la chitine-désacétylase [39]	12
Figure I.4. Procédés d'obtention de chitine et de chitosane [40]	13
Figure I.5. La forme en poudre granuleuse blanc cassé de HEC.....	16
Figure I.6. Structure moléculaire de hydroxyéthylcellulose.....	17
Figure I.7. Structure chimique de kappa, lambda et iota carraghénanes [64]	19
Figure II.1. Schéma de formation d'un gel réversible [3]	26
Figure II.2. Schéma de formation de gels irréversibles [3]	27
Figure II.3. Schéma d'un gel irréversible [5].	27
Figure II.4. La structure chimique et le mécanisme de formation de réticulation de carraghénane de type K [8].....	28
Figure II.5. Polymorphisme thermique du collagène et formation de la gélatine [9].....	29
Figure II.6. Evolution de la viscoélasticité de polymère [16]	31
Figure II.7. Déformation et contrainte qui montrent la réponse d'un solide idéal et d'un liquide idéal [15].....	34
Figure II.8. Spectre rhéologiques des polysaccharides [17].....	35
Figure II.9. Les différentes régions du spectre viscoélastique des fluides non-Newtoniens [18]	37
Figure II.10. Variation de G' et G'' en fonction de la fréquence pendant la gélification d'une solution de chitosane [25].....	41
Figure II.11. Formation de gels fins et de gels agrégés [46].	43
Figure III.1. Description d'un appareil de mesure granulométrique	48
Figure III.2. Distribution granulométrique	49
Figure III.3. Représentation des résultats: statistique de distribution	49
Figure III.4. Présentation des résultats statistiques des particules ainsi que leur distribution..	51
Figure III.5. Principe de Spectromètre IR-TF [1].....	53
Figure III.6. Spectre IR du chitosane après le processus de désacétylation avec les lignes de base pour la Détermination de la transmittance [3, 4].....	53
Figure III.7. Analyses DSC d'un chitosane pur ; (a) premier balayage ; (b) deuxième balayage [10]	55

Figure III.8. TGA du chitosane pour différentes vitesses de chauffe, ainsi que la dérivée du signal de 200 à 400°C [15]	57
Figure III.9. Principe de rhéomètre dynamique à cone	58
Figure IV.1. Crevettes blanches utilisées ce travail (<i>Parapenaeus Longirostris</i>).....	64
Figure IV.2. Les carapaces des crevettes après lavage.....	65
Figure IV.3. Les carapaces des crevettes après séchage.....	65
Figure IV.4. Les produits obtenus après broyage.....	66
Figure IV.5. Déminéralisation de la poudre	66
Figure IV.6. Déprotéinisation de la poudre	67
Figure IV.7. Décoloration de la poudre	68
Figure IV.8. Poudre de chitine	68
Figure IV.9. Poudre blanche du chitosane.....	68
Figure IV.10. (a) : Sol-gel du chitosane, (b) : Gel du chitosane.....	70
Figure IV.11. Gel du mélange Cs/HEC/AG	71
Figure IV.12. Appareil d'analyse granulométrique: Mastersizer 2000 Malvern	72
Figure IV.13. a) Spectromètre <i>Perkin Elmer Spectrum One</i> b) Spectromètre <i>Nicolet i S 10</i> ...	73
Figure IV.14. Appareil METTLER TOLEDO TGA/DSC 3+.....	74
Figure IV.16. Géométrie cône-plan du rhéomètre.....	75
Figure V. 1. Rampe de désirabilité pour l'optimisation (pour la solution sélectionnée)	78
Figure V.2. Analyse granulométrie du chitosane pur extrait des carapaces des crevettes	79
Figure V.3. Les spectres IR d'absorbance en fonction de la longueur d'onde.....	81
(a) :Cs, (b) :AG, (c) : HECet (d) : gel.....	81
Figure V.4. Courbes d'analyse TGA et DSC du gel mélangé	82
Figure V.5. Courbes de décomposition thermique du gel mélangé ternaire (courbes DTG) ...	83
Figure V.6. Déformation critique et balayage de déformation (région LVER)	84
Figure V.7. Balayage de fréquence du gel de mélange en dessous de la contrainte critique ...	85
(À une contrainte de cisaillement de 1Pa et T= 25 ° C)	85
Figure V.8. Influence de la température du gel sur les contraintes de cisaillement (<i>shear stress</i>) et de la vitesse de cisaillement (<i>shear rate</i>)	86
Figure V.9. Influence de la température du gel sur la viscosité en fonction taux de cisaillement (<i>shear rate</i>)	87
Figure V.10. Balayage de déformation.....	88
Modules de stockage (G') et de perte (G'') en fonction de la déformation	88
Figure A ₁ .1. Plan composite pour deux facteurs[2].....	96

Figure A1.2. Plan de Box- Behnken pour trois facteurs [2].....	97
Figure A1.3. Extension d'un plan de Doehlert à deux facteurs [5].....	98
Figure. A4. Desirability ramp for optimization (Selected solution).....	103

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1. Quelques propriétés et applications des gels de chitosane	11
Tableau II.1. Classification des gels [12]	30
Tableau IV.1. Caractéristiques des différents produits utilisés dans la partie expérimentale ..	64
Tableau IV.2. Compositions des gels Cs/HEC/AG produits.....	71
Tableau IV.3. Modules et gammes de mesures associées	72
Tableau A 3. Les valeurs des fréquences de vibrations de certaines fonctions	100
Tableau A.4. Test visuel.....	104

LISTE DES ABBREVIATIONS

AG	Carraghenane
ATG	Analyses thermogravimétriques
°C	Degré Celsius
Cs	Chitosane
DD	Degré de désacétylation
DP	Degré de protonation
E	Module élastique
G	Module de cisaillement
G'	Module de conservation
G''	Module de perte
GlcN	D-glucosamine
GlcNAc	N-acétyl-D-glucosamine
HEC	Hydroxyéthylcellulose
IR-TF	Spectroscopie Infrarouge
M	Molaire
min	Minute
mL	Millilitre
MW	Poids moléculaire (g mol^{-1})
RSM	Méthodes de surface de réponse
P_{gel}	Point de gel
pH	Potentiel d'hydrogène
pI	Point isoélectrique
pK_a	Constante d'acidité
T	Température (°C)
T_{eb}	Température d'ébullition (°C)
t	Temps (h)
σ	Contrainte (Pa)
ε	Déformation à contrainte normale
γ	Déformation par cisaillement
δ	Angle de phase (°)
η^*	Viscosité dynamique (Pa s)
ω	fréquence (rad/s)

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Face aux enjeux énergétiques et environnementaux, les polysaccharides suscitent beaucoup de perspectives.

Contrairement aux grosses molécules, les lipides ainsi que les autres biopolymères ont reçu une notoriété considérable. Les polysaccharides présentent une grande importance mais ils sont restés inexploités malgré leur capacité extraordinaire d'auto-assemblage. Ce sont des molécules fondamentales dans l'adhésion cellulaire aussi bien dans le cerveau par la formation des glycoprotéines que dans les plantes. Elles sont contenues dans la majorité des aliments que nous consommons, dans les céréales, les légumes et les fruits. Leurs origines peuvent être végétale (cas de l'amidon, la cellulose, les pectines et les gommes), microbienne (le dextrane, le xanthane, la chitine et le chitosane), marine à partir des algues (l'alginate, les carraghénanes, l'agar ou les fucanes) et animale (l'héparine et la chondroïtine).

Il se révèle en outre à travers l'intérêt académique, que le domaine des polysaccharides réside entre les mains des formulateurs industriels. Les performances des applications et la recherche sur ces supra-molécules sont encore des formes d'art inédites.

Les polysaccharides sont, en général, non toxiques, biodégradables et biocompatibles puisqu'ils sont issus des ressources renouvelables. Ils sont fréquemment utilisés dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques. Ils ont le pouvoir de former des films, de moduler la libération médicamenteuse, de régénérer les tissus et de piéger les molécules toxiques. Ce sont des épaississants et des gélifiants qui ont la capacité d'augmenter la viscosité des solutions.

En mélange, les interactions entre les polysaccharides jouent un rôle fondamental lors de la formation de structures gélifiées ou lors de la formation de complexes en solution. Ces mélanges peuvent avoir plusieurs applications dans les domaines médicaux, biotechnologiques, alimentaires ou pharmaceutiques.

A cet effet, il est important aujourd'hui de trouver un mode d'administration des médicaments qui soit moins contraignant pour les patients. C'est ainsi que les systèmes de libération des agents médicamenteux ont été développés ces dernières années. Le chitosane a été utilisé en association avec beaucoup de composés afin de concevoir des gels capables d'être utilisés pour l'administration prolongée de médicament anticancer par exemple.

Très peu de travaux ont été réalisés sur la préparation de gels contenant le chitosane et l'hydroxyéthyle cellulose ou le caraghenanne. Bien que des mélanges ternaires ou quaternaires

ont été testés dans le domaine des systèmes de libération des médicaments à base de chitosane, l'association du chitosane, d'hydroxyéthyle cellulose et de caraghenanne n'a jamais été entreprise.

L'objectif principal de cette étude est de développer des gels biodégradables à partir de chitosane (Cs), hydroxyéthyle cellulose(HEC) et de caraghenanne (AG) ; et ceci comme des biopolymères de base pour les systèmes de libération des médicaments. Les mélanges de ces gels biodégradables (Cs et HEC et AG) ont été préparés par la technique de synthèse en solution.

Cette thèse est structurée en cinq chapitres :

Le premier chapitre est divisé en deux parties. La première partie présente d'une part des généralités sur les biopolymères et d'autre part, une étude détaillée sur la structure, les propriétés et les applications du chitosane. La deuxième partie porte sur l'étude des nanocharges hydroxyéthyle cellulose et caraghenanne.

Le deuxième chapitre présente les gels, les méthodes de préparation, leurs différents types et structures.

Les principales techniques expérimentales utilisées dans ce travail sont présentées dans le troisième chapitre. Ces techniques servent à déterminer la composition ainsi que la structure des gels préparés dans cette étude.

Le quatrième chapitre est consacré aux méthodes expérimentales pour la préparation des gels à base de Cs/HEC/AG, ainsi que les différentes techniques de caractérisations employées.

Le cinquième chapitre illustre les résultats obtenus, leurs interprétations et discussions.

Enfin, une conclusion générale résume les principaux résultats obtenus lors de ce travail de thèse.

CHAPITRE I

GENERALITE SUR LES POLYSACCHARIDES : CHITOSANE, HYDROXYDE ETHYLCELLULOSE ET CARRAGHENANE

Ce chapitre rapporte les principales propriétés et applications des polysaccharides. Après un rappel sur leurs sources et modes de préparation, nous insisterons sur leurs nombreuses propriétés physico-chimiques et biologiques et nous décrirons leurs principaux domaines d'applications.

I.1. Introduction

Nos sociétés humaines ont pris conscience, il ya quelques années, des défis énergétiques et environnementaux qui se présentent à elles. Nos civilisations matérielles reposent sur la consommation massive de ressources fossiles, le pétrole et le gaz, qui non seulement ne sont pas inépuisables, mais entraînent également bien souvent des problèmes écologiques et de santé publique. Le monde de la recherche s'emploie donc activement à trouver de nouvelles sources de matières premières, susceptibles de remplacer ces combustibles fossiles. Il n'y aura certainement pas une solution simple à ce challenge majeur, mais plus probablement des solutions multiples, plus respectueuses de l'environnement, et adaptées aux échelles locales. Dans le domaine énergétique, des avancées significatives ont été faites avec le développement des énergies renouvelables, comme l'éolien, le solaire, la géothermie, la biomasse, etc. Parallèlement, il est également urgent de trouver de nouvelles sources de matériaux capables de remplacer le pétrole sur lequel se repose aujourd'hui une très grande majorité de l'industrie. Parmi ces nouvelles sources, les polysaccharides seront immanquablement les matériaux incontournables de demain. Ils constituent en effet une ressource renouvelable abondante, disponible partout sur la planète, puisqu'ils sont produits par les règnes végétaux, animaux et bactériens. Dotés de propriétés physico-chimiques et biologiques particulièrement attrayantes, les polysaccharides ont donc un grand rôle à jouer dans notre transition écologique.

Parmi ces polysaccharides, la chitine et son principal dérivé le chitosane, connaissent un engouement très important. En effet, le nombre de publications scientifiques ayant trait au chitosane connaît une progression exponentielle depuis maintenant une trentaine d'années. Ainsi, il convient de dresser un aperçu général sur l'état des connaissances actuelles sur ce polymère naturel, dont l'attrait s'explique par ses propriétés physico-chimiques et biologiques remarquables. En effet, comme cela sera exposé ci-après, le chitosane qui peut être utilisé sous différentes formes physiques, présente un potentiel d'applications considérable.

I.2. La chitine et le chitosane

I.2.1. La chitine

La chitine est principalement présente dans le règne animal, notamment chez les invertébrés (insectes, crustacés, céphalopodes), de façon plus subsidiaire dans le règne végétal (parois cellulaires de certaines algues) ainsi que dans certains champignons (levure, penicillium, champignons de Paris) [1,2]. Elle est définie comme un polymère d'unités saccharidiques N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) liées en $\beta(1 \rightarrow 4)$ [3]. Actuellement, la principale source

industrielle de chitine (et de chitosane) provient de la carapace de crustacés (crevettes) et de l'endosquelette de calmars. La structure de la chitine ressemble de très près à celle de la cellulose, toutes deux représentées en Figure I.1.

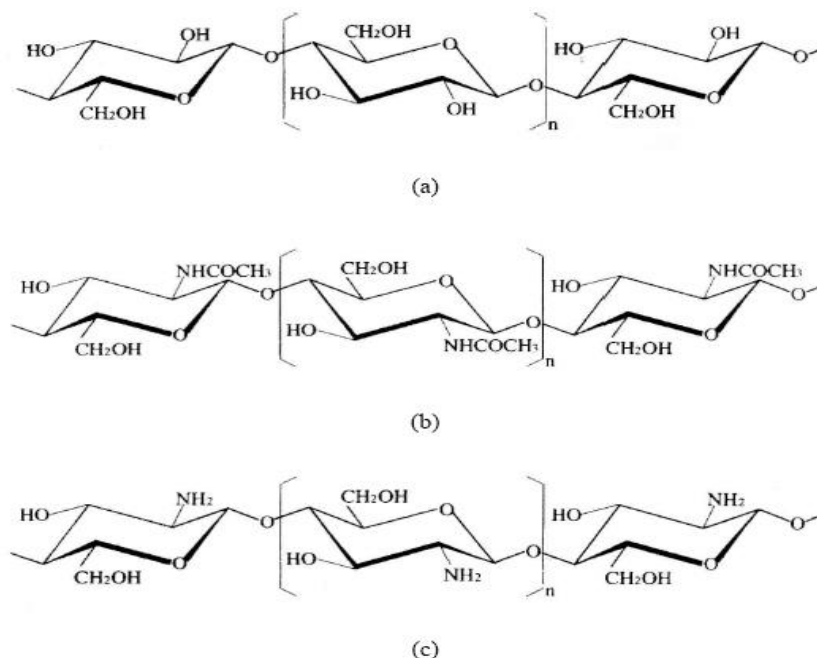


Figure I.1. Structure de:(a) cellulose, (b) chitine et (c) chitosane [4]

I.2.2. Aperçu historique

La Chitine a été découverte par un scientifique anglais A. Hachett [5], qui a rapporté en 1799 "un matériau particulièrement résistant aux produits chimiques habituels", mais comme il n'a pas poussé ses investigations plus loin, la découverte de la chitine est généralement attribuée à un naturaliste français de Nancy, Henri Braconnot [6], qui a identifié ce biopolymère en 1811 et lui a donné le nom de "fungine".

En 1823, en étudiant la cuticule de coléoptères, Odier isolait ce même polymère et le nomma « chitine » à partir du grec « χιτών » qui veut dire tunique (enveloppe). En 1843, Lassaigne a trouvé la présence d'azote dans la chitine, en travaillant avec l'exosquelette du papillon de vers à soie et des *bombix mori* (ver à soie). Ensuite, Ledderhose a identifié la glucosamine et l'acide acétique comme unités structurales de la chitine en 1879, puis Gilson a confirmé que la glucosamine était l'unité répétée de la chitine en 1894 [7,8].

La production de la chitine a débuté en 1920, mais la structure de ces biopolymères (chitine et chitosane) n'a été identifiée que 50 ans plus tard à travers la cristallographie et la spectroscopie infrarouge [9].

I.2.3. Le chitosane

Le chitosane est un polysaccharide dérivé de la chitine, polymère naturel parmi les plus abondants sur la planète avec la cellulose [10, 11].

Le chitosane est un copolymère linéaire flexible de 2-acétamido-2-déoxy- β -D-glucopyranose et 2-amino-2-déoxy- β -D-glucopyranose liés en β (1-4). C'est un polysaccharide telle la cellulose. Cette macromolécule est obtenue par N-déacétylation d'un des polymères naturels les plus abondants, la chitine, extraite des carapaces de crustacés tels que les crabes et les crevettes (Figure I.1), [12]. Leurs structures diffèrent uniquement au niveau des groupements en position C2; hydroxyle pour la cellulose, acétamide pour la chitine et amine pour le chitosane.

I.2.3.1. Source de chitosane

Le chitosane ne se trouve que rarement dans la nature. Il n'est présent que dans la paroi d'une classe particulière de champignons les Zygomycètes, et chez quelques insectes au niveau de la paroi abdominale des reines termites par exemple. Il n'y a donc pas vraiment de sources primaires de chitosane exploitable, et la source majeure provient de la désacétylation de la chitine obtenue à partir des carapaces de crustacés (Figure I.2).

Cependant, d'autres sources de chitine (et donc de chitosane) sont apparues au niveau des autres règnes biologiques, elle est signalée dans les parois cellulaires des champignons et de certaines algues chlorophycées, au niveau de l'endosquelette des céphalopodes, ainsi que dans la paroi de certaines levures et bactéries (Figure I.2).

Le meilleur rendement d'extraction de la chitine est actuellement observé chez les crustacés qui en constituent la principale source au niveau industriel.

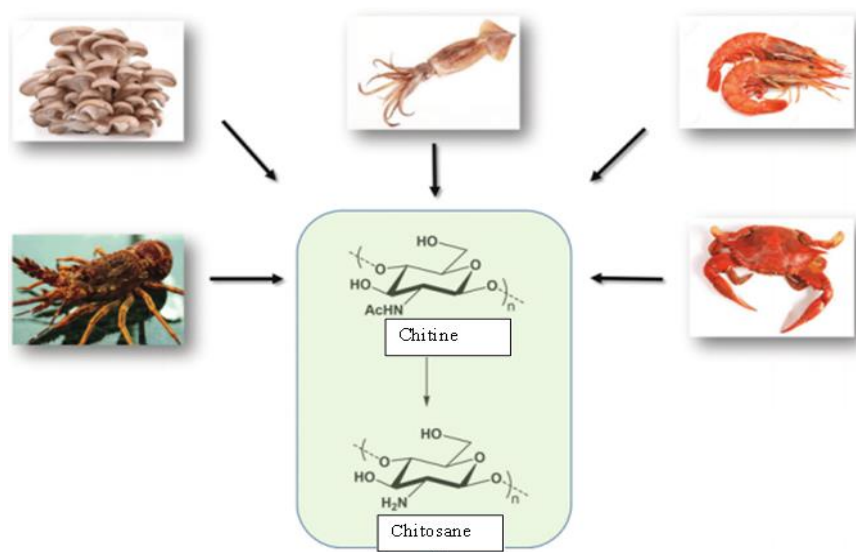


Figure I.2. Sources de chitine et de chitosane [12]

I.2.3.2. Structure du chitosane

La plus grande importance de la chitine par rapport au chitosane dans la nature signifie que beaucoup moins de recherches ont été effectuées sur la structure du chitosane, mais l'utilisation croissante du chitosane en tant que polymère de spécialité a suscité un intérêt accru dans ce domaine [13].

Quatre conformations majeures du chitosane ont été trouvées ; le polymorphe le plus abondant est celui d'un cristal hydraté [14]. Dans ce polymorphe, le chitosane est conditionné de manière antiparallèle : les chaînes forment des liaisons hydrogène intermoléculaires entre les groupes hydroxyle en C6 et carbonyle des chaînes adjacentes pour former des feuilles. Comme dans la chitine, il existe également des liaisons intramoléculaires entre C3 et C5. Cette structure est stabilisée par la présence de molécules d'eau entre ces feuilles empilées, qui forment des liaisons hydrogènes avec les chaînes de chitine.

En réalité, la chitine et le chitosane existent sous forme d'hétéropolymères d'unités monomères acétylées et désacétylées. Le schéma de désacétylation, qui n'est généralement pas uniforme [13], régira la structure et les propriétés du matériau, par conséquent, la détermination du degré de désacétylation (DD) du matériau est essentielle pour déterminer ses propriétés physiochimiques.

I.3. Caractérisation de chitosane

Le chitosane est caractérisé par son degré de désacétylation, sa viscosité et son poids moléculaire.

I.3.1. Détermination du degré de désacétylation

Le degré de désacétylation (DD) est l'un des principaux paramètres caractérisant le chitosane. Le chitosane est typiquement obtenu par désacétylation partielle de la chitine. Le produit est un copolymère d'unités N-acétylglucosamine et d'unités D-glucosamine. Plusieurs méthodes de détermination du degré de désacétylation ont été élaborées comme la titration pH-métrique, la spectroscopie UV-Vis et la spectroscopie infrarouge. La détermination potentiométrique du degré d'acétylation est réalisée selon la méthode de Broussignac et Muzzarelli dans lequel le chitosane est dissous dans un excès connu d'acide. Le processus de désacétylation implique l'élimination des groupes acétyle de la chaîne moléculaire de la chitine, laissant derrière un composant (chitosane) avec un groupe amino réactif chimique de haut degré (-NH₂). Cela fait du degré de désacétylation une propriété importante dans la production de chitosane car il affecte les propriétés physico-chimiques et détermine donc ses applications

appropriées. La désacétylation affecte également la biodégradabilité et l'activité immunologique [15, 16]. Il existe une différence considérable entre la chitine et le chitosane en fonction du degré de N-désacétylation [17]. Ce dernier a fait le point sur des preuves suggérant qu'environ un résidu sur six à sept dans la chaîne portant des groupes amino libres manifeste certaines propriétés histochimiques. Dans tous les cas, le degré de désacétylation peut être utilisé pour différencier la chitine et le chitosane car il détermine les groupes amino libres dans les polysaccharides. Il existe deux avantages du chitosane par rapport à la chitine [18, 19]. Le premier est que le chitosane se dissout dans des acides dilués, tandis que pour pouvoir dissoudre la chitine il faut utiliser des solvants très toxiques tels le chlorure de lithium. Le deuxième avantage est que le chitosane possède des groupements amine libres qui sont des sites actifs dans les réactions chimiques.

I.3.2. Poids moléculaire du chitosane

Le poids moléculaire (MW) est l'un des paramètres les plus fondamentaux dans la caractérisation d'un polymère. Le poids moléculaire du chitosane peut être déterminé par des méthodes telles que la chromatographie [20], la diffusion de la lumière et la viscosimétrie [21-24]. Le chitosane est un biopolymère de haut poids moléculaire. Ce dernier varie selon les sources de matières premières et la méthode de préparation. Le poids moléculaire de la chitine native est généralement supérieur à un million de Daltons, alors que le chitosane commercial a un poids moléculaire de 100 à 1 200 kDa, selon le procédé et les qualités du produit. En général, une température élevée, de l'oxygène dissous ou une contrainte de cisaillement élevée peuvent provoquer la dégradation du chitosane. Par exemple, à une température supérieure à 280 °C, une dégradation thermique du chitosane se produit et les chaînes polymères se décomposent rapidement, ce qui réduit le poids moléculaire. En outre, la dépolymérisation maximale provoquée par une haute température ou l'utilisation d'acides concentrés, tels que l'acide chlorhydrique (HCl) entraîne des changements de poids moléculaire avec une dégradation minimale pour l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) [17, 22, 25].

I.3.3. La viscosité du chitosane

Les chitosanes à masse moléculaire élevée donnent généralement des solutions très visqueuses, souvent non souhaitables pour la manipulation industrielle. Certains facteurs au cours du traitement, tels que le degré de désacétylation, le poids moléculaire, la concentration de la solution, la force ionique, le pH et la température affectent la viscosité du chitosane. Cette dernière diminue avec une durée accrue de déminéralisation [26]. Pour du chitosane dans l'acide

acétique, la viscosité a tendance à augmenter avec la diminution du pH, alors qu'elle diminue avec la diminution du pH dans le HCl [27-30].

I.4. Le chitosane en solution

Les propriétés du chitosane sont dépendantes principalement de la masse molaire (qui est souvent très élevée comme pour tous les polysaccharides) et du degré de désacétylation (DD) défini comme le pourcentage d'unités 2-acétamido-2-déoxy-glucofuranose de la chitine de départ qui sont, après désacétylation, des unités 2-amino-2-déoxy-glucofuranose. Le DD varie considérablement selon le procédé de fabrication et sa valeur influence fortement la solubilité du chitosane.

En effet, le chitosane se dissout uniquement en milieu acide par protonation des groupes amines présents sur la macromolécule. L'équilibre suivant décrit l'état d'ionisation du polyélectrolyte en solution :



La constante d'acidité pKa du chitosane est approximativement 6,3. Ainsi, lorsque le DD est peu élevé c'est-à-dire lorsque les groupements amine sont en petite quantité, le chitosane est peu soluble. En général, on utilise du chitosane avec un DD supérieur à 70 % pour avoir une grande partie soluble.

De même, la conformation des chaînes du polymère en solution et donc la viscosité de ces solutions dépend du pH et du DD. En effet, ces deux paramètres déterminent la densité de charge sur la chaîne de polymère. Lorsque celle-ci est élevée, les chaînes de polymères sont très étendues et la viscosité importante. En revanche, lorsque le polymère est peu chargé, les chaînes sont sous forme de pelotes statistiques caractérisées par une faible viscosité. Un certain nombre d'auteurs ont étudié l'effet du pH et du DD sur la viscosité du chitosane en solution [31 - 33].

D'après Pa *et al.* [32], les chaînes de chitosane, dont le DD vaut 85%, sont flexibles pour des pHs supérieurs à 3. Dans le cadre de notre travail (pH > 4), les chaînes de chitosane peuvent être considérées comme flexibles.

I.5. Propriétés et applications du chitosane

Les applications du chitosane sont variées et les nouvelles études pour en développer ne cessent de se multiplier grâce à de ses propriétés physico-chimiques et biologiques [34]. Il est entre autres non fermentable, biocompatible, biodégradable et non toxique. De plus, son coût de fabrication est peu élevé.

A titre d'exemple, quelques propriétés utilisées dans les différents champs d'application du chitosane sont données dans le Tableau I.1. Une description plus complète des applications du chitosane pourra être trouvée dans la référence [35].

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

Tableau I.1. Quelques propriétés et applications des gels de chitosane

Champ d'application	Applications	Propriétés
Pharmacie	Encapsulation de Médicaments	Matériel absorbable avec possibilité de contrôle de libération de principes actifs (enzyme, médicament)
Clinique	Membrane de dialyse, pansements	Rétention d'eau, d'ions, stimulation de la régénération des tissus
Cosmétiques	Crème, shampooing, Démélangant	Rétention de l'humidité, antiélectrostatique, surfactant
Industrie agro-alimentaire	Restructuration des purées de fruits, de légumes ou de viande	Formation de film, épaississant
Traitement des eaux	Agent flocculant de cations	Polyélectrolytes ; chélation de métaux

Dans de nombreuses applications, le chitosane est utilisé sous forme d'hydrogels et plus précisément d'hydrogels chargés, le chitosane étant un polyélectrolyte en milieu acide. Les gels de chitosane se sont avérés très intéressants pour immobiliser des médicaments [36] ou des enzymes [37] et permettre une libération contrôlée de ces molécules selon le pH du milieu environnant. Récemment, Ramanathan *et al.* [38] ont montré que le chitosane est aussi intéressant pour produire des matrices à libération contrôlée sous l'effet d'un champ électrique. Ces dernières pourraient être utilisées pour des libérations transdermales de médicaments.

I.6. La production de chitine et ses dérivés

Après la cellulose, la chitine est le deuxième polysaccharide naturel le plus abondant et peut être dégradée par la chitinase. La production de chitine à partir de crustacés comporte plusieurs étapes : déminéralisation (séparation du carbonate de calcium et du phosphate de calcium), déprotéinisation (séparation des protéines), décoloration (élimination des pigments) et désacétylation (élimination des groupes acétyles).

C'est un matériau hautement insoluble avec une faible immunogénicité en présence d'azote. D'autre part, elle peut être considérée comme une cellulose avec l'hydroxyle à la position C-2 remplacé par un groupe acétamido. Elle fonctionne naturellement comme un polysaccharide structural ressemblant à la cellulose. La chitine est connue principalement comme étant un polysaccharide acétylé composé de liaisons β (1 \rightarrow 4) reliées par une liaison N-acétylglucosamine (Figure I.3), [39-40].

Le chitosane (Cs) présente des propriétés antifongiques significatives et des activités antimicrobiennes contre divers groupes de micro-organismes. Il est bien connu que le (Cs) a été utilisé dans la production de ressources renouvelables sous forme de film pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires. Cependant, sa haute sensibilité à l'humidité est fortement étudiée et reconnue comme un inconvénient majeur.

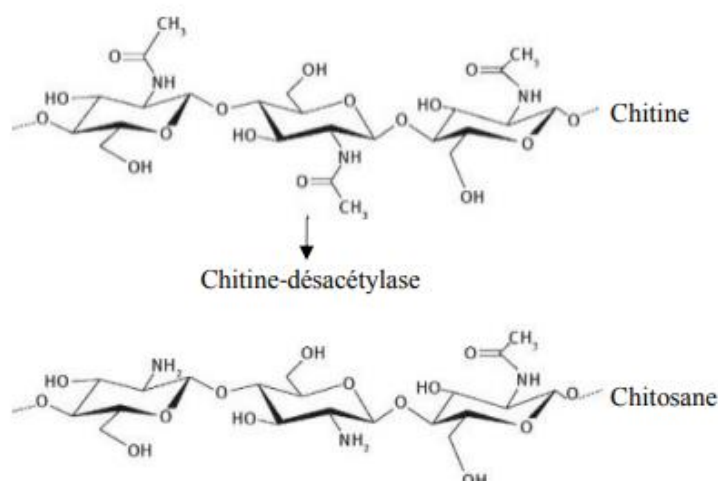


Figure I.3. Structure de la chitine-désacétylase [39]

L'extraction et la purification du chitosane sont non seulement importantes pour la récupération du produit désiré, mais aussi pour déterminer la teneur en chitosane dans différentes sources.

Jusqu'à présent, uniquement deux approches principales pour l'extraction de chitosane ont été étudiées : l'approche chimique et biologique.

I.6.1. L'approche chimique

Son extraction chimique consiste en un traitement acide pour la déminéralisation et un traitement alcalin pour la déprotéinisation (Figure I.4), [40].

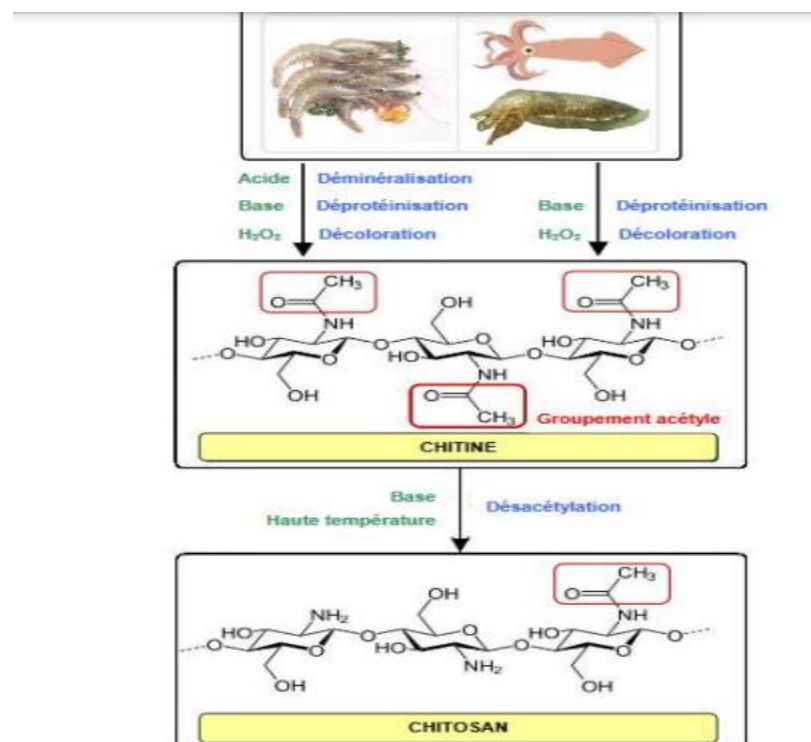


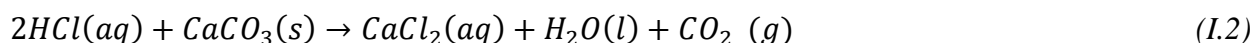
Figure I.4. Procédés d'obtention de chitine et de chitosane [40]

I.6.1.1. La déminéralisation

Le traitement acide élimine les minéraux, qui passent en solution sous forme de sels. Les acides les plus utilisés à l'échelle industrielle pour la déminéralisation sont l'acide chlorhydrique, l'acide acétique, l'acide sulfurique ou encore l'acide éthylène-diaminetétra-acétique (EDTA), [41 et 42]. Pour des raisons économiques, l'acide chlorhydrique (HCl) est privilégié.

La concentration minimale, pour mener cette étape, est déterminée par l'équation chimique (I.2) de la réaction entre l'élément minéral majoritaire; le carbonate de calcium et le HCl. En

principe, la déminéralisation est complète dès lors où les proportions sont stoechiométriques. Cependant, des solutions en excès sont généralement préconisées.



Les concentrations en HCl rencontrées sont comprises entre 0,5 et 11 N et le ratio substrat/solvant entre 1:10 et 1:40. La déminéralisation dure entre 15 min et 48 h, pour des températures variants de la température ambiante à 50 °C [43-44]. La réaction avec le carbonate de sodium est achevée lorsque le dégagement de CO₂ cesse. La prolongation de la durée du traitement, une température et une solution acide trop élevée conduisent à l'hydrolyse des liaisons glycosidiques et par conséquent à la dépolymérisation de la chaîne carbonée de la chitine [45].

I.6.1.2. La déprotéinisation

La structure des cuticules des crustacés, présente une forte interaction entre les protéines et la chitine. Ceci implique des conditions contraignantes pour les séparer. Un traitement basique permet d'éliminer les protéines par solubilisation. Les réactifs employés pour cette étape sont des bases fortes comme l'hydroxyde de potassium (KOH).

L'hydroxyde de sodium (NaOH) est le plus couramment utilisé, pour des raisons économiques. Les concentrations utilisées sont comprises entre 0,3 et 2,5 M; selon un ratio compris entre 1:10 et 1:40. La température est comprise entre 50 et 110 °C et la durée peut varier de 1 h à plus de 24 h [43-44]. Ces deux paramètres sont liés, ainsi la durée doit être augmentée si la température est baissée et réciproquement.

L'augmentation de la concentration de la durée et de la température de réaction, améliorent la déprotéinisation [46]. Cependant, tout comme la déminéralisation, les conditions drastiques de la déprotéinisation modifient la structure native de la chitine. Ainsi la déprotéinisation peut s'effectuer par un traitement alcalin par la soude à 1 N à 80-85 °C [42,47].

I.6.1.3. L'étape de blanchiment

A la fin de la phase précédente, la chitine produite provenant de seiche de forme β est blanche, alors que celle provenant de crustacés (forme α) est légèrement rose. Ces couleurs sont dues aux traces de pigments qui peuvent, à leur tour, être éliminées par une légère oxydation en présence d'un mélange H₂O₂/HCl. Afin d'éviter la formation des composés N-chlorés, il est préconisé d'utiliser des concentrations modérées de chlore [48].

Cette étape est optionnelle, cependant, il est très difficile d'obtenir un produit pur à cause des fortes interactions entre la chitine, les pigments et les protéines.

Une autre cause de coloration des produits peut être la réaction de Maillard qui implique les groupes azotés et les aldéhydes [49].

En effet, tout comme les deux précédentes étapes, les conditions de décoloration induisent une altération de la structure de la chitine, qui se traduit par une réduction du poids moléculaire. Les autres agents de blanchiment sont l'hypochlorite de sodium (NaClO), le permanganate de potassium (KMnO₄), l'acétone (C₃H₆O), l'éthyle-acétate et l'acide oxalique (C₂H₂O₄), certains auteurs utilisent le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) pour hydrolyser le chitosane, afin d'augmenter sa solubilité, et privilégient l'éthanol pour le blanchiment [50-54].

I.6.1.4. Préparation du chitosane

Le chitosane est produit par une désacétylation de la chitine (modification chimique, réaction de dégradation) conduisant à un produit final soluble en milieu acide acétique à 5 %. Deux processus peuvent être suivis. Le premier est décrit par Broussignac [55] et consiste à utiliser un mélange de KOH (50 %), d'éthanol (25 %) et de monoéthylèneglycol (25 %). La chitine est ajoutée progressivement tout en assurant une augmentation progressive de la température. Après la filtration, le chitosane obtenu est neutralisé par un rinçage à l'eau. Le second processus est celui décrit par Kurita *et al.* [56]. Il s'agit de chauffer une suspension de chitine (500 mg dans 30 mL de NaOH à 50 %) soumis à un flux d'azote et à une agitation. Le produit solide obtenu est filtré et rincé respectivement par de l'eau distillée (jusqu'à pH neutre), du méthanol et de l'acétone, puis séché pendant 12 heures à 50 °C. Rhazi *et al.*, [57] ont montré que la source de chitine a un effet sur l'évolution et le pourcentage de N-désacétylation du chitosane produit. Selon la méthode de Broussignac [55], le temps minimal nécessaire pour obtenir un produit soluble dans 5 % d'acide acétique dépend de la source de chitine.

Dans le cas de la β -chitine obtenue à partir de seiches ou de calamars, un temps de réaction d'une heure est suffisant. Alors que dans le cas d' α -chitine obtenue à partir de calamars gris ou de cigales de mer, le temps nécessaire est approximativement de 2 à 3 heures. Cette durée est également nécessaire pour la chitine obtenue à partir des crevettes et des écrevisses. Le produit soluble dans l'acide acétique à 5 % extrait de la chitine provenant du homard, du crabe rouge ou d'araignée de mer est obtenu au bout de 6 ou 7 heures de traitement.

Le principal inconvénient de l'utilisation de l'extraction chimique reste cependant son impact énergétique et environnemental dû à l'utilisation extensive de solutions acides et basiques nécessitant davantage de neutralisation et d'élimination [58].

I.6.2. L'approche biologique

Les méthodes biologiques d'extraction de la chitine ont été développées récemment [59]. Ils peuvent utiliser des enzymes purifiées [60,61] ou des microorganismes entiers [62]. Bien que plus respectueuses de l'environnement, ces méthodes restent moins efficaces. Les principales raisons étant que : la protéine résiduelle dans la chitine produite reste souvent relativement élevée et le temps de réaction est plus long par rapport à la déprotéinisation chimique. Ces inconvénients rendent la méthode enzymatique peu susceptible d'être appliquée à l'échelle industrielle à moins que des progrès ne soient faits pour rendre le procédé plus efficace [63].

Comme les méthodes chimiques et biologiques ne sont pas totalement satisfaisantes pour l'instant, plusieurs équipes académiques et industrielles travaillent toujours à leurs améliorations. Cette étape d'extraction est, en effet, essentielle pour que la chitine et le chitosane remplissent l'énorme potentiel que ces molécules peuvent présenter.

I.7. Hydroxyéthylcellulose

L'Hydroxyéthylcellulose, équivalent de la gomme de cellulose, agent épaississant issu d'un composé organique et d'une réaction entre un alcali et la cellulose. L'hydroxyéthylcellulose, aussi connue sous le nom de HEC sous forme abrégée, est un polymère polysaccharidique non ionique. Il se présente sous la forme d'une poudre granuleuse de couleur blanc cassé (Figure I.5).



Figure I.5. La forme en poudre granuleuse blanc cassé de HEC.

L'hydroxyéthylcellulose est un polymère obtenu par l'action d'oxyde d'éthylène sur de la cellulose. La Figure I.6 présente sa structure moléculaire

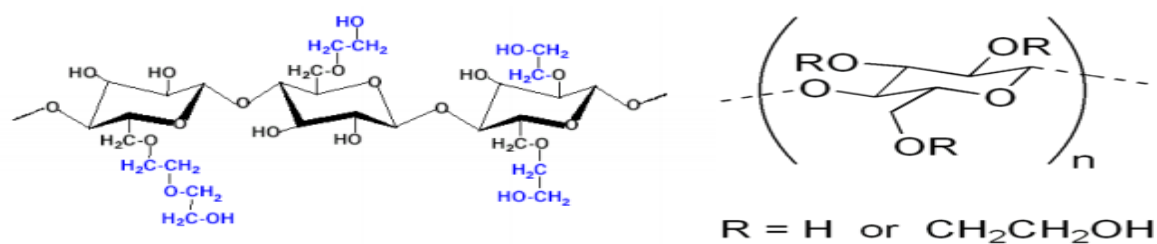


Figure I.6. Structure moléculaire de l'hydroxyéthylcellulose

I.7.1. Les fonctions de l'hydroxyéthylcellulose

Parmi les fonctions de l'hydroxyéthylcellulose selon la nomenclature internationale des ingrédients cosmétiques INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients), on a :

- *Agent fixant* : Permet la cohésion de différents ingrédients cosmétiques
- *Stabilisateur d'émulsion* : Favorise le processus d'émulsification et améliore la stabilité et la durée de conservation de l'émulsion
- *Agent filmogène* : Produit un film continu sur la peau, les cheveux ou les ongles
- *Agent stabilisant* : Améliore les ingrédients ou la stabilité de la formulation et la durée de conservation
- *Agent de contrôle de la viscosité* : Augmente ou diminue la viscosité des cosmétiques

I.7.2. Caractéristiques du produit

La viscosité est stable lorsque le pH de la solution aqueuse d'hydroxyéthylcellulose est entre 2 et 12. Si elle dépasse cette plage, ils'agira d'une dégradation oxydative acide ou alcaline et la viscosité diminuera.

La viscosité de la solution aqueuse d'hydroxyéthylcellulose diminue lorsque la température augmente et la viscosité peut être récupérée si la température chute à la température d'origine. En l'absence d'une concentration élevée de sel, lorsque la solution est chauffée à ébullition, il n'y a pas de gel ni de précipité, de sorte que l'hydroxyéthylcellulose est très stable à la température.

La solution aqueuse d'hydroxyéthylcellulose est un système non ionique qui peut coexister avec d'autres polymères hydrosolubles, des surfactants, des sels et autres. Il peut donc être largement utilisé dans l'industrie chimique quotidienne.

I.7.3. Champ d'application

▪ Épaississant de revêtement

Dans la composition de la peinture au latex, l'hydroxyéthylcellulose empêche la gélification du pigment, contribue à la dispersion du pigment, stabilise la peinture au latex et augmente la viscosité du composant. L'hydroxyéthylcellulose a une bonne compatibilité avec d'autres matériaux présents dans les composants tels que les pigments, les auxiliaires, les charges et les sels. Les revêtements épaissis à l'hydroxyéthylcellulose ont une bonne rhéologie à différents taux de cisaillement et une pseudoplasticité. L'hydroxyéthylcellulose a une bonne maniabilité et une bonne propriété de nivellement, pas facile à égoutter, à affaisser ou à éclabousser qui peut être appliqué au pinceau, au rouleau, au pistolet et par d'autres méthodes de construction.

▪ Forage pétrolier

Dans le forage pétrolier, l'hydroxyéthylcellulose à haute viscosité est principalement utilisée comme un agent poisseux pour les fluides de complétion et de finition. L'hydroxyéthylcellulose à faible viscosité est utilisée comme un additif de perte de fluide. Parmi les différentes solutions requises pour les opérations de forage, de complétion, de cimentation et de fracturation, l'hydroxyéthylcellulose apporte une bonne fluidité et stabilité à la boue.

▪ Produits chimiques et détergents quotidiens

L'hydroxyéthylcellulose a un rôle de liant, d'épaississant, de stabilisant et de dispersant dans les dentifrices, les détergents et les cosmétiques.

I.8. La carraghénane

Les carraghénanes sont des polysaccharides linéaires sulfatés qui composent la paroi cellulaire des algues rouges et qui sont utilisés comme agents texturants dans l'industrie alimentaire. Leur squelette est composé de D-galactopyranoses reliés alternativement par des liaisons $\alpha(1-3)$ et $\beta(1-4)$. Les carraghénanes, sous l'appellation de carragénine, sont utilisés comme inducteurs de la réponse inflammatoire en pharmacologie expérimentale animale.

Il existe trois principales familles de carraghénanes (Figure I.7):

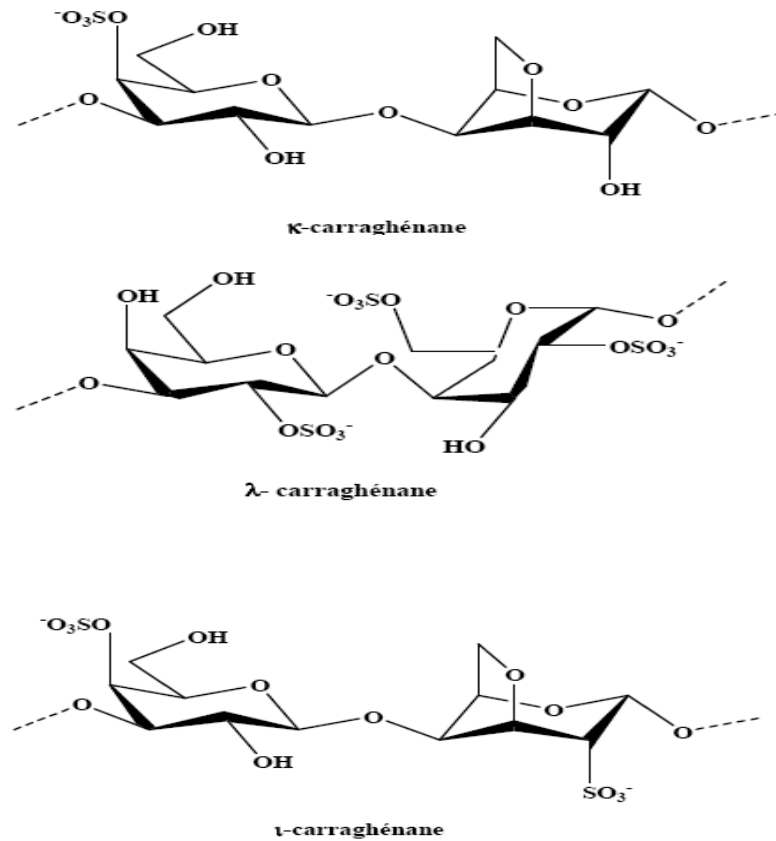


Figure I.7. Structure chimique de kappa, lambda et iota carraghénanes [64]

- **La famille des Kappa**

Elles forment des gels forts et rigides en présence d'ions potassium.

- **La famille des Lambda**

Elles ne forment pas de gels, mais servent d'épaississants. Ces carraghénanes perdent leur viscosité pendant le processus de fabrication.

- **La famille des Iota**

Elles forment des gels plus souples en présence d'ions calcium.

C'est le pourcentage de groupements sulfate qui détermine la famille à laquelle appartient la carraghénane : Ce serait mieux dans un tableau

- Kappa κ : 24 à 25 % ;
- Iota ι : 30 à 32 % ;
- Lambda λ : 35 %.

La structure des motifs disaccharidiques de répétition des carraghénanes varie par la position et le nombre des groupements sulfates. Les carraghénanes ont des structures qui changent suivant les espèces d'algues dont ils sont extraits [65].

I.9. Conclusion

Il est bien connu que le chitosane a une grande biocompatibilité et biodégradabilité, et en raison de son activité antifongique, son activité biologique et ses propriétés inhabituelles physico-chimiques, il a été appliqué aux produits pharmaceutiques, à la nourriture, etc.

En outre, des groupes polysaccharides tels que (Cs, HEC et AG) ont montré une meilleure activité physiologique qui peut être applicable dans le domaine antibactérien, anti-inflammatoire ainsi que dans les domaines antiviraux.

Par conséquent, le mélange de ces trois polysaccharides et leurs liaisons en gélification, nous permet d'avoir de nouvelles propriétés et de nouveaux horizons d'application.

I.10. Références du chapitre I

- [1] Neyrinck A.M., Bindels L.B., De Backer F., Pachikian B.D., P.D., Cani N.M. (2009), Delzenne, Dietary Supplementation with Chitosan Derived from Mushrooms Changes Adipocytokine Profile in Diet-induced Obese Mice, a Phenomenon Linked to Its Lipidlowering Action, *Int. Immunopharmacol.* 9 767–773.
- [2] Braconnot H. (1811), *Sur La Nature Des Champignons*, *Annales de Chimie et de Physique.* 79 265.
- [3] Domard A., Domard M.(2002), Chitosan: structure-properties relationship and biomedical applications, in: *Polymeric Biomaterials (2nd Ed.)*, Marcel Dekker, Inc: pp 187–212.
- [4] Okuyama K., Noguchi K., Kanenari M., Egawa T., Osawa K., Ogawa K. (2000), "Structural diversity of chitosan and its complexes", *Carbohydrate Polymers*, 41, 237-247.
- [5] Roberts G. A. F., "Chitin chemistry". MacMillan Press Ltd. London. (1992): 94-95.
- [6] Muzzarelli R. A, C. Jeuniaux, and Gooday G. W. eds. (1986), "Chitin in nature and technology». Plenum Press. New York 385.
- [7] Rouget Ch.(1859), "Des substances amyliacées dans les tissus des animaux, spécialement des Articulés (chitine)." *Comp. Rend* 48 : 792-795.
- [8] Teng D. (2012), "From chitin to chitosan." CRC Press—Taylor and Francis Group: 1-37.
- [9] Winterowd J. G., and Sandford P. A. "Chitin and chitosan." *Food Science and*
- [10] Rinaudo M. (2006), "Chitin and Chitosan: Properties and Applications", *Prog. Polym. Sci.* 31 603–632.
- [11] Kurita K. (2006), "Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans", *Mar. Biotechnol.* 8 203–226.
- [12] Muzzarelli A., Riccardo A. (1977), "Chitin, Pergamon Press", Oxford, chap 2.
- [13] Paul, W., and Sharma, C. P. (2000) "Chitosan, a drug carrier for the 21st century: a review." *S.T.P pharma sciences* 10.1: 5-22.
- [14] Ogawa, K., Yui, T., and Okuyama, K. (2004) "Three D structures of chitosan." *International Journal of Biological Macromolecules* 34.1-2: 1-8.
- [15] Khan T. A., Peh K. K., and Ch'ng H. S. (2002), "Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods, " *J Pharm Pharm. Sci*, vol. 5, no. 3, pp. 205–212.
- [16] No H. K., Kim S. H., Lee S. H., Park N. Y., and Prinyawiwatkul W. (2006), "Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time, " *Carbohydr. Polym.*, vol. 65, no. 2, pp. 174–178.
- [17] Rout S. K. (2001), "Physicochemical, Functional and Spectroscopic Analysis of Crawfish Chitin and Chitosan as Affected by Process Modification. *LSU Historical Dissertations and Theses*".
- [18] Tolaimate A., Desbrieres J., Rhazi M., Alagui A., Vincendon M., and Vottero P. (2000), "On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin, " *Polymer (Guildf.)*, vol. 41, no. 7, pp. 2463–2469.

- [19] Weska R. F., de Moura J. M., de M. Batista L., Rizzi J., and de A. Pinto L. A. (2007), "Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology, " *J. Food Eng.*, vol. 80, no. 3, pp. 749–753.
- [20] Bough W. A., Salter W. L., Wu A. C. M., and Perkins B. E. (1978), "Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. I. Chemical composition, viscosity, and molecular-weight distribution of chitosan products," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 20, no. 12, pp. 1931–1943.
- [21] Muzzarelli R. A. A. (2011), "Potential of chitin/chitosan-bearing materials for uranium recovery: An interdisciplinary review, " *Carbohydr. Polym.*, vol. 84, no. 1, pp. 54–63.
- [22] Yacob N., Talip N., Mahmud M., Sani N., Akma N., and Samsuddin N. A. F. (2013), "Determination of viscosity-average molecular weight of chitosan using intrinsic viscosity measurement, " *J. Nucl. Relat. Technol.*, vol. 10, no. 1, pp. 39–44.
- [23] Honary S., Maleki M., and Karami M. (2009), "The effect of chitosan molecular weight on the properties of alginate/chitosan microparticles containing prednisolone, " *Trop. J. Pharm. Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 53–61.
- [24] Hasegawa M., Isogai A., and Onabe F. (1993), "Preparation of low-molecular-weight chitosan using phosphoric acid, " *Carbohydr. Polym.*, vol. 20, no. 4, pp. 279–283.
- [25] Park S. Y., Marsh K. S., and Rhim J. W. (2002), "Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents, " *J. Food Sci.*, vol. 67, no. 1, pp. 194–197.
- [26] Moorjani M. N., Achyuta V., and Khasim T. (1975), "Parameters affecting the viscosity of chitosan from prawn waste., " *J. Food Sci. Technol.*, vol. 12, pp. 187–189.
- [27] Gamzazade A. I., Sklyar A. M., Pavlova S.-S., and Rogozhin S. V. (1981), "On the viscosity properties of chitosan solutions," " *Polym. Sci. USSR*, vol. 23, no. 3, pp. 665–669.
- [28] Desbrières J. (2002), "Viscosity of semiflexible chitosan solutions: influence of concentration, temperature, and role of intermolecular interactions, " *Biomacromolecules*, vol. 3, no. 2, pp. 342–349.
- [29] Kasaai M. R., Arul J., and Charlet G. (2000), "Intrinsic viscosity--molecular weight relationship for chitosan, " *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 38, no. 19, pp. 2591–2598.
- [30] Hirano S. (1989), "Production and application of chitin and chitosan in Japan, " *Chitin chitosan*, (Skjak-Braek G, Anthonsen, T., Sandford P pp 51-69, Elsevier Appl. Sci. London, UK. ISBN 1851663959, 9781851663958.
- [31] Anthonsen M. W., Varum K. M., Smidsrod O. (1993), "Solution properties of chitosans: conformation and chain stiffness of chitosans with different degrees of N-acetylation», *Carbohydrate Polymers*, 22, 193-201.
- [32] Pa J-H, Yu T. L. (2001), "Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solutions", *Macromolecular Chemistry and Physics*, 202, 985-991.
- [33] Rinaudo M., Pavlov G., Desbrières J. (1999), "Influence of acetic concentration on the solubilization of chitosan", *Polymer*, 40, 7029-7032.
- [34] Muzzarelli R., Baldassarre V., Conti F., Ferrara P., Biagini G., Gazzanelli G., Vasi V. (1988), "Biological activity of chitosan: ultrastructural study", *Biomaterials*, 9, 247-252
- [35] Kumar M. N. V. R. (2000), "A review of chitin and chitosan applications", *Reactive and functional polymers*, 46, 1-27

- [36] Chandy T., Mooradian D. L., Rao G. H. R. (1998), "Chitosan/Polyethylene glycol-alginate microcapsules for oral delivery of hirudin", *Journal of Applied Polymer Science*, 70, 2143-2153.
- [37] Airoidi C., Monteiro O. A. C. (2000), "Chitosan-organosilane hybrids-syntheses, characterization, copper adsorption, and enzyme immobilization", *Journal of Applied Polymer Science*, 77, 797-804
- [38] Ramanathan S., L. Block H. (2001), "The use of chitosan gels as matrices for electrically-modulated drug delivery. " *Journal of Controlled Release*, 70, 109-23
- [39] Cutter C. N. (2006), "Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods." *Meat Sci.*, vol. 74, no. 1, pp. 131–142.
- [40] Croisier F. and Jérôme C. (2013)"Chitosan-based biomaterials for tissue engineering." *Eur. Polym. J.*, vol. 49, no. 4, pp. 780–792.
- [41] Shimahara K., and Takiguchi Y. (1988),"Preparation of crustacean chitin." *Methods in enzymology*. Vol. 161. Academic Press, 417-423.
- [42] Brine C. J., and Austin P. R. (1981), "Chitin isolates: species variation in residual amino acids." *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 70.2: 173-178.
- [43] Tolaimate A., et al. (2003), "Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties." *Polymer* 44.26: 7939-7952.
- [44] Shrinivas Rao M. et al. (2007), "Optimum parameters for production of chitin and chitosan from squilla (*S. empusa*)." *Journal of applied polymer science* 103.6: 3694-3700.
- [45] Lavall R. L., Assis O. B. (2007), and Campana-Filho S. P. " β -Chitin from the pens of *Loligo* sp.: Extraction and characterization." *Bioresource Technology* 98.13: 2465-2472.
- [46] De Holanda H. D., and Netto F. M. (2006), "Recovery of components from shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) processing waste by enzymatic hydrolysis." *Journal of Food Science* 71.5.
- [47] Hackman R. (1954), "Studies on chitin I. Enzymic degradation of chitin and chitin esters." *Australian journal of biological sciences* 7.2: 168-178.
- [48] Teli M. D., and Sheikh J. (2012), "Extraction of chitosan from shrimp shells waste and application in antibacterial finishing of bamboo rayon." *International journal of biological macromolecules* 50.5: 1195-1200.
- [49] Einbu A. 2007(a), "Characterisation of chitin and a study of its acid-catalysed hydrolysis." *Trondheim, Norwegian University of Science and Technology*.
- [50] No H. K., and Meyers S. P. (1989),"Crawfish chitosan as a coagulant in recovery of organic compounds from seafood processing streams." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37.3: 580-583.
- [51] Synowiecki J., and Al-Khateeb N.A.A.Q. (2003), "Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43(2): 145-171.
- [52] Mirzadeh H., et al. (2002), "Preparation of chitosan derived from shrimp." *Iranian Polymer Journal* 11(1): 63-68.

- [53] Xu Y., Gallert C., and Winter J. (2008), "Chitin purification from shrimp wastes by microbial deproteination and decalcification." *Applied Microbiology and Biotechnology* 79.4:687-697.
- [54] Du Y., et al. (2009), "Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its antibacterial activity." *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10.1: 103-107.
- [55] Broussignac P. (1968), "Chitosan, a natural polymer not well known by the industry." *Chim. Ind. Genie Chim* 99.9: 1241-1247.
- [56] Kurita K., et al. "Squid chitin as a potential alternative chitin source: deacetylation behavior and characteristic properties." *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 31.2 (1993): 485-491.
- [57] Galed G., et al. (2005), "N-Deacetylation and depolymerization reactions of chitin/chitosan: Influence of the source of chitin." *Carbohydrate polymers* 62.4: 316-320.
- [58] Wang S. L., and Chio S. H. (1998), "Deproteinization of shrimp and crab shell with the protease of *Pseudomonas aeruginosa* K-187." *Enzyme and Microbial Technology* 22.7: 629-633.
- [59] Vázquez José Antonio, et al. (2013), "Chondroitin sulfate, hyaluronic acid and chitin/chitosan production using marine waste sources: A review." *Marine drugs* 11.3: 747-774.
- [60] De Holanda H. D., and Netto F. M. (2006), "Recovery of components from shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) processing waste by enzymatic hydrolysis." *Journal of Food Science* 71.5: 298-303.
- [61] Synowiecki J., and Al-Khateeb N.A.A.Q. (2000), "The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp Crangon crangon processing discards." *Food chemistry* 68.2: 147-152.
- [62] Xu Y., Gallert, C., and Winter J. (2008) "Chitin purification from shrimp wastes by microbial deproteination and decalcification." *Applied microbiology and biotechnology* 79.4:687-697.
- [63] Gartner C., Peláez C. A., and López B. L. (2010), "Characterization of chitin and chitosan extracted from shrimp shells by two methods." *e-Polymers* 10.1:1-16
- [64] Guibet M. (2007), "Analyse structurale des carraghénanes par hydrolyse enzymatique", Thèse de Doctorat. Université de Bretagne Occidentale. France.
- [65] Pensé-Lhéritier A. M. (2014), "Conception des produits cosmétiques : la formulation". Lavoisier. Paris, pp. 129.

CHAPITRE II

STRUCTURE ET RHEOLOGIE

DES GELS

Pour comprendre les processus de gélification, il faut étudier l'évolution des paramètres sensibles à la transformation des propriétés du système (grandeur viscoélastique, etc.). Nous rappelons dans ce chapitre l'intérêt de l'étude de la gélification à partir des propriétés viscoélastiques du matériau et en particulier déterminer la transition sol-gel ainsi les différentes méthodes qui permettent de déterminer cette transition. En général, les mesures de rhéologie sont privilégiées pour l'étude des systèmes concentrés à cause de leur opacité, et le choix est porté sur la méthode de mesure des modules viscoélastiques en fonction de la fréquence. Afin de déterminer les paramètres viscoélastiques qui caractérisent la structure du matériau au cours de la gélification. Nous décrivons dans ce chapitre en premier lieu les différents types de gels, ensuite les propriétés rhéologiques des polymères, puis nous présenterons le procédé de gélification à base de chitosane.

II.1. Introduction

Les gels sont des réseaux tridimensionnels constitués par une faible quantité (0,1 à 10 %) d'une substance dans lesquels l'eau ou un autre solvant est retenu. Ils peuvent ainsi être obtenus à l'aide de tensioactifs, d'émulsions, de suspensions ou de polymères. Les gels dont il est question dans cette étude sont des gels produits par réticulation à partir de chaînes de polymères.

Selon les interactions qui existent au sein du milieu, on classe les réseaux de macromolécules en deux principales catégories: les gels non-permanents ou réversibles et les gels permanents ou irréversibles [1-3].

Pour les gels non-permanents, les noeuds de réticulation sont des associations intermoléculaires dues à des liaisons faibles réversibles (énergie de liaisons comprise entre 1 et 40 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$): ponts d'hydrogène (ex : $\text{H-O}\cdots\text{H}$) ; interactions électrostatiques de type Van der Waals, ponts ioniques (ex : $\text{COO}\cdots\text{Na}\cdots\text{OOC}$). Ces liaisons conduisent à la formation de zones de jonction (Figure II.1) ayant une structure plus ou moins ordonnée [4].

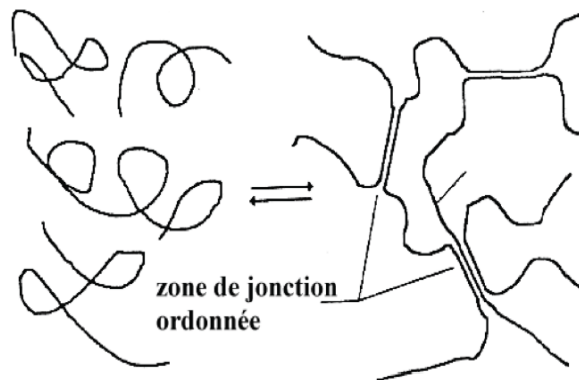


Figure II.1. Schéma de formation d'un gel réversible [3]

Les gels permanents sont produits par liaisons covalentes (énergie de liaison comprise entre 150 et 900 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ entre chaînes linéaires préexistantes (vulcanisation), ou entre des unités de monomères dont certaines au moins ont une fonctionnalité supérieure à deux (polycondensation), ou encore par polymérisation en chaîne de monomères dont les groupes de réactifs sont des doubles liaisons [4]. Ces trois cas sont représentés dans la Figure II.2.

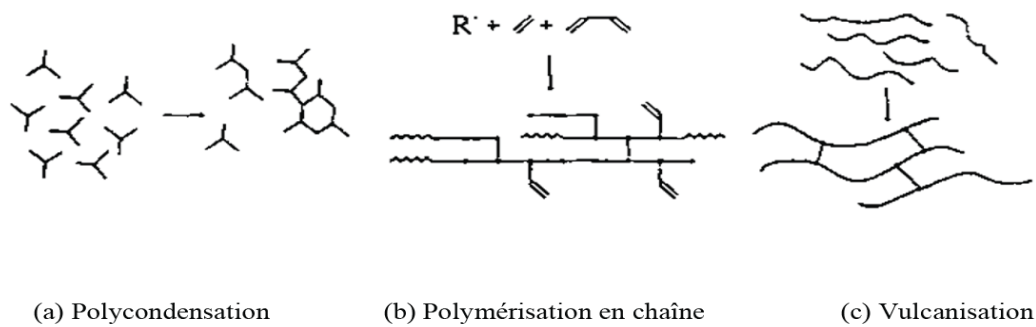


Figure II.2. Schéma de formation de gels irréversibles [3]

La Figure II.3 représente pour sa part la structure générale d'un gel irréversible de polymères flexibles dans lequel apparaît, outre les points de réticulation, des boucles et des extrémités de chaînes pendantes. Ces réseaux sont très inhomogènes.

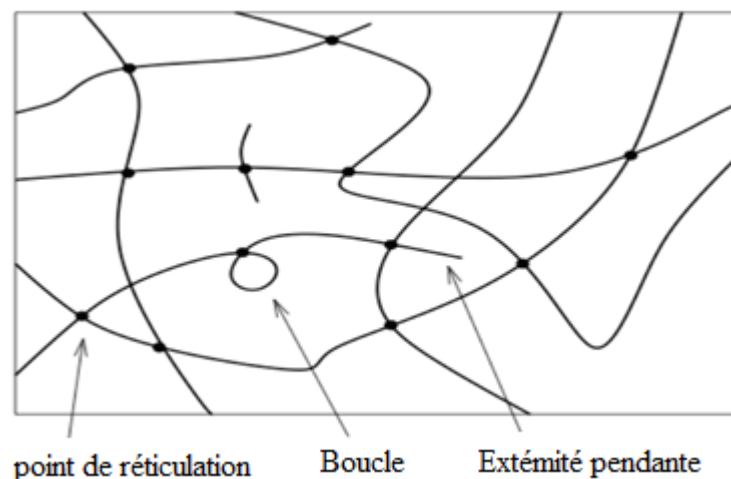


Figure II.3. Schéma d'un gel irréversible [5].

II.2. Structure des polymères naturels et biologiques

Les polysaccharides qui sont réticulés par des liaisons hydrogène comprennent l'amidon, l'agar, carraghénane etc., ils sont largement utilisés dans l'industrie photographique, la nourriture, les médicaments et les substrats de culture [6]. Les principales composantes de gélose sont l'agarose et l'agaropectine.

La solution aqueuse augmente en viscosité lorsqu'elle est chauffée au-dessus de 90°C et refroidie et se gélifie à environ 30°C [7], ceci parce que les groupements hydroxyles des

polysaccharides forment des liaisons hydrogène puis une double hélice, établissant une réticulation à l'aide de formation de complexe. D'autre part, contrairement à l'agar, le carraghénane contient une forte concentration de groupes sulfate, selon leur concentration. Le type K- présente la plus forte capacité à former des gels. Un autre mécanisme proposé est la double hélice, qui consiste à la formation d'un gel à partir d'une seule hélice de la chaîne (Figure II.4). En outre, le module du gel augmente significativement par les ions potassium ou césium. Ceci est dû à la diminution de la répulsion statique du groupe sulfate par les ions qui pénètrent dans les molécules de carraghénane [8].

L'amidon, fabriqué à partir de l'amylose et l'amylopectine, se dissout pour former un liquide visqueux à 60 -70 ° C, et gèle à température ambiante. Le collagène et la gélatine sont des protéines réticulées par des liaisons hydrogène. Le collagène existe dans les os, le cartilage, les tendons, la peau et des écailles de poisson, c'est une protéine fibreuse qui forme des hélices en trois polypeptides. Elle a une excellente biocompatibilité et utilisée dans les produits cosmétiques, comme matériel médical, dans les substrats de culture et dans l'emballage alimentaire. La gélatine est un collagène, faite de molécules séparées de façon irréversible et elle a un poids moléculaire de 100 000 kDa [9]. Quand une solution de gélatine/eau est refroidie, elle se gélifie à environ 25 °C. Par le fait que les groupes NH et CO dans la liaison hydrogène de polypeptides, reproduisent partiellement du tropocollagène, forment une structure de réticulation (Figure II.5).

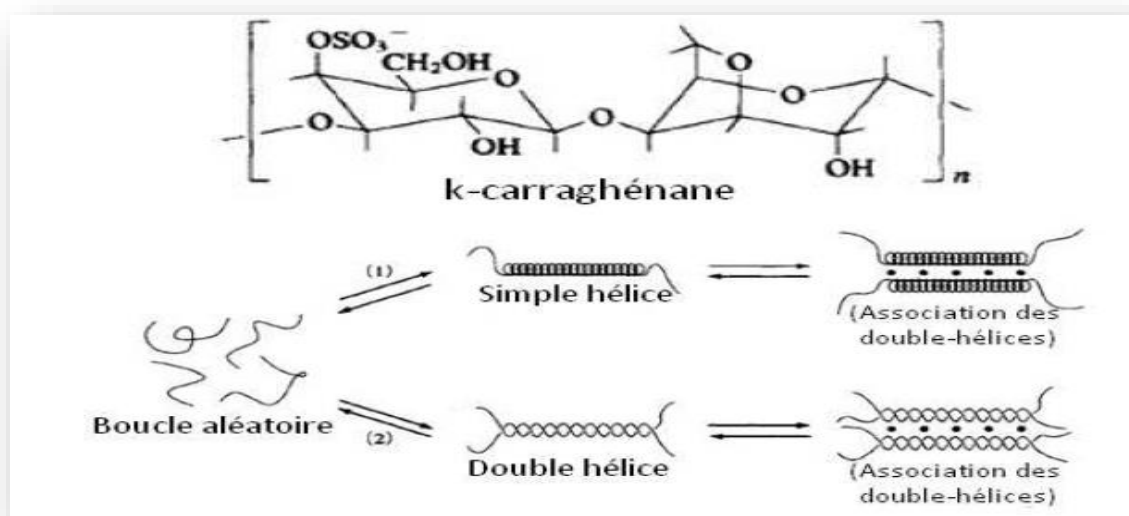


Figure II.4. La structure chimique et le mécanisme de formation de réticulation de carraghénane de type K [8]

Cependant, le gel obtenu présente aisément une transition sol-gel avec des changements de température et de solvant et il est mécaniquement faible [10].

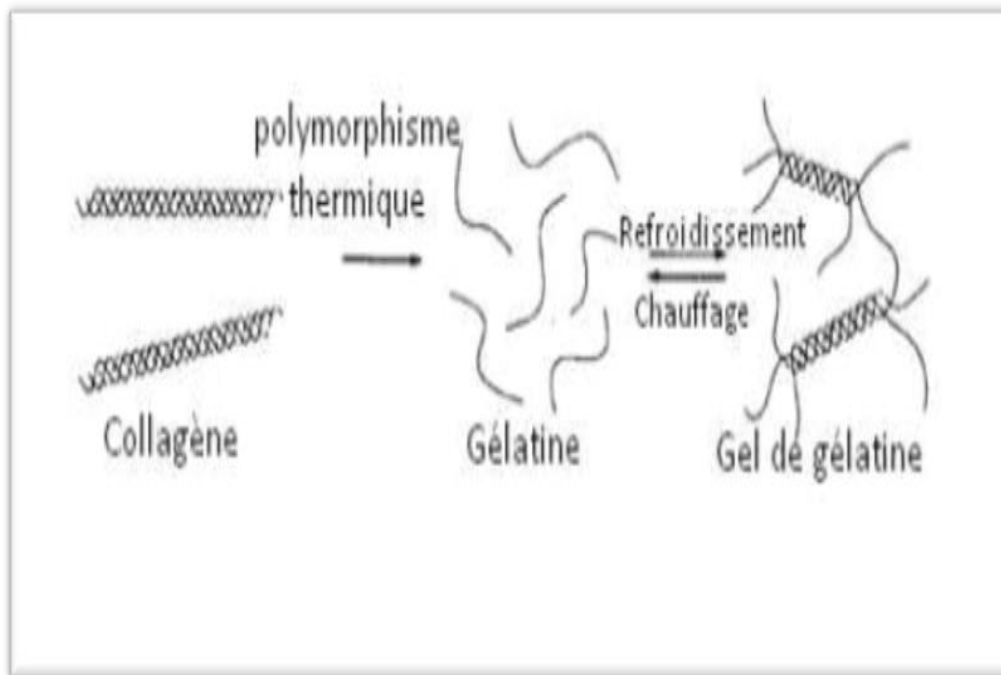


Figure II.5. Polymorphisme thermique du collagène et formation de la gélatine [9]

II.3. Classification des gels

Il existe plusieurs classifications des gels : selon leur origine tels que les gels naturels ou synthétiques ; selon la matière contenue dans la matrice polymère tels que les hydrogels, les aérogels ou les organogels ; selon le type de liaison de la matrice polymère tels que les gels chimiques ou physiques.

La classification des différents gels est présentée dans le Tableau II.1.

La connexion entre les chaînes de polymères peut être de deux sortes, permanente (liaisons covalentes) ou réversible (liaisons hydrogènes, interactions de type Van der Waals, enchevêtrements, etc.) ; ce qui permet de différencier les deux grands types de gels : les gels chimiques et les gels physiques [11]. Le processus de la gélification physique est généralement réversible.

Tableau II.1. Classification des gels [12]

Milieu de gonflement	Liquide	Hydrogel (eau) Organogel (solvant organique) Lyogel (solvant huileux) Alcoogel (alcool)
	Gaz	Xerogel Aérogel (air)
	Solide	Polymère - Gel polymère
Polymères de constitution	Gel naturel	Gel de protéine Gel de polysaccharide
	Gel synthétique	Gel de polymère organique Gel de polymère inorganique
	Gel hybride	Polysaccharide, et polymère Synthétique Polymère de protéine, et gel synthétique
Réticulation	Interaction moléculaire	Interaction Coulombienne Liaison hydrogène Liaison de coordination

II.4. Propriétés rhéologiques

La rhéologie est la technique de mesure et de caractérisation de gels et des efforts qu'il faut appliquer pour les obtenir [13]. L'objet de la rhéologie est de déterminer les contraintes et les déformations en chaque point d'un milieu [14]. Son domaine d'application couvre l'ensemble des fluides complexes, tels que les polymères, les suspensions colloïdales, les émulsions et les tensioactifs. Il est nécessaire de connaître le comportement de ces matières pour leur mise en oeuvre.

II.4.1. Concepts fondamentaux de rhéologie

La rhéologie est la science de la déformation et de l'écoulement de la matière [15]. Elle étudie la façon à laquelle les matériaux réagissent aux forces appliquées. Dans le secteur alimentaire, la compréhension de cette science est importante pour l'optimisation du développement des produits, les procédés de production et la qualité du produit final [16]. Le principe des tests de rhéologie est l'application d'une force sur le matériel à étudier et mesurer sa déformation et/ou sa résistance.

Les procédés de préparation des produits (solutions, gels, pâtes, etc.), nécessitent une bonne connaissance du comportement de la matière pour déterminer les forces mises en jeu.

On peut classer la rhéologie en trois types :

- La rhéologie expérimentale : elle détermine expérimentalement la relation de comportement entre les contraintes et la vitesse de déformation.
- La rhéologie structurale : elle explique le comportement du matériau à partir de sa structure.
- La rhéologie théorique : elle fournit des modèles mathématiques en nombre limité des comportements indépendamment de la structure microscopique.

Les corps gazeux, liquides ou solides se divisent en deux classes :

- **Les fluides Newtoniens**: ce sont tous les gaz et un grand nombre de liquides ; leur équation rhéologique est simple. Ces corps ne possèdent qu'une caractéristique rhéologique : la viscosité (Figure II.6).
- **Les corps à rhéologie compliquée (complexe)**: ce sont des liquides non Newtoniens et les solides.

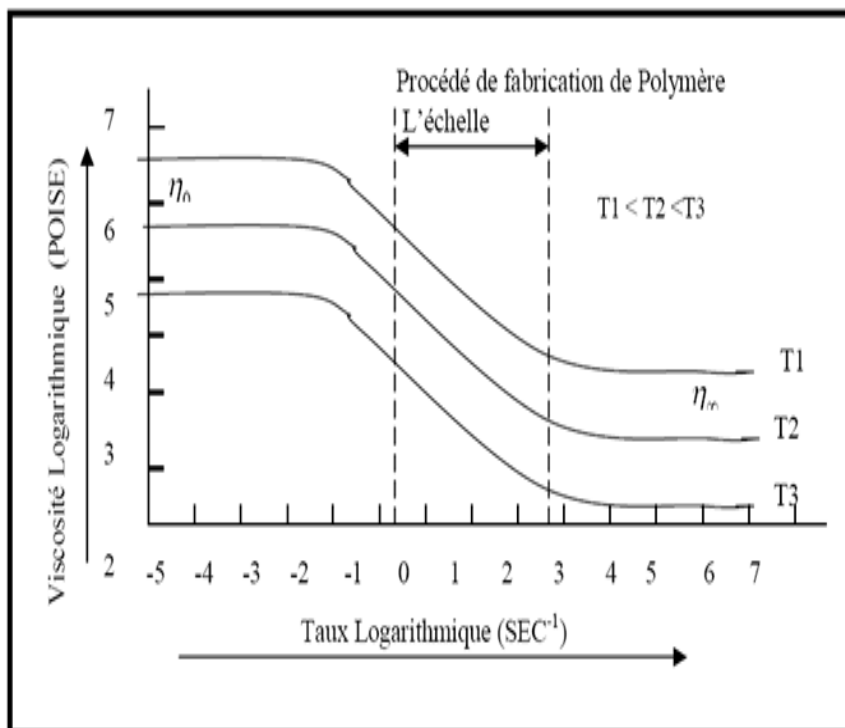


Figure II.6. Evolution de la viscoélasticité de polymère [16]

Les concepts importants dans la rhéologie sont :

- La contrainte (σ) qui est définie comme la force appliquée par unité de surface. Si la force est perpendiculaire à la surface, la contrainte est normale, alors que si la force est parallèle à la surface, la contrainte est appelée cisaillement.
- La déformation (ε déformation à contrainte normale, ou γ déformation par cisaillement) est une quantité sans dimension, et représente la déformation relative du matériel. Pour un solide ou un liquide viscoélastique, les constantes de proportionnalité entre la contrainte et la déformation sont le module élastique E (contrainte normale) et le module de cisaillement G . Pour le fluide, ce qui le distingue c'est la vitesse de déformation. Contrairement au cas des solides, la force n'est pas liée à la déformation mais à la vitesse de déformation du matériau. Pour décrire le comportement (rhéologique) du polymère à l'état liquide il est nécessaire d'introduire la notion de vitesse de déformation. Certains liquides n'obéissent pas à la loi de Newton. Il est connu expérimentalement que les polymères fondus ne sont pas Newtoniens. Leur viscosité apparente est fonction décroissante du taux de cisaillement $\dot{\gamma}$; cette propriété est appelée la pseudo-plasticité.
- La viscosité est une mesure de la friction interne d'un liquide. Pour la déterminer, on applique une force mesurable sur le liquide et l'on mesure en même temps la vitesse de déformation ou vice versa.

II.4.1.1. Viscoélasticité

Le caractère viscoélastique est un comportement non-Newtonien très important et très fréquent dans les solutions de polymères. La réponse du fluide à une déformation γ présente à la fois un aspect élastique G' (contrainte proportionnelle à la déformation) et un aspect visqueux G'' (contrainte proportionnelle à la vitesse de déformation) ; ces deux modules seront définis plus bas.

Dans le premier cas, le temps caractéristique de la sollicitation est inférieur à un temps caractéristique du matériau ; les composants élémentaires n'ont pas le temps de se déformer de manière importante et on observe une réponse élastique. Lorsque le temps de sollicitation est plus grand que le temps caractéristique du matériau, la réponse est de type visqueux.

II.4.1.2. Cisaillement oscillatoire

Dans un écoulement de cisaillement oscillatoire, on applique une déformation (ou une contrainte) sinusoïdale de pulsation ω . On mesure une contrainte (ou une déformation) elle-même sinusoïdale de pulsation ω dans la mesure où l'amplitude de la sollicitation est faible. Si la déformation est de la forme :

$$\gamma = \gamma_0 e^{i\omega t} \quad (II.1)$$

La réponse en contrainte s'écrit, dans le domaine linéaire

$$\tau = \tau_0 e^{i(\omega t + \delta)} \quad (II.2)$$

δ étant l'angle de perte.

Le module de cisaillement complexe G^* est défini par :

$$G^* = \frac{\tau}{\gamma} = \frac{\tau_0}{\gamma_0} e^{i\delta} = G' + iG'' \quad (II.3)$$

$$\text{On a } \tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

G' représente la partie réelle de G^* . C'est le module de conservation et il caractérise la réponse en phase avec la déformation. Il est associé à la réponse élastique.

G'' , est la partie imaginaire de G^* , c'est le module de perte. Il est en quadrature de phase avec la déformation et caractérise la réponse visqueuse.

La viscosité complexe η^* est définie par :

$$\tau(t) = \eta^* \dot{\gamma}, \text{ où } \dot{\gamma} : \text{vitesse de déformation}$$

Et

$$\eta^* = \frac{\tau_0 e^{i(\omega t + \delta)}}{\gamma_0 i \omega e^{i\omega t}} = \frac{\tau_0 e^{i\delta}}{i \omega \gamma_0} = \frac{1}{i \omega} G^* \quad (II.4)$$

η^* s'écrit alors d'après les équations (II.3) et (II.4) :

$$\eta^* = \frac{G''}{\omega} - i \frac{G'}{\omega} = \eta' - i\eta'' \Rightarrow \begin{cases} \eta' = \frac{G''}{\omega} \\ \eta'' = \frac{G'}{\omega} \end{cases} \quad (II.5)$$

La rhéologie dynamique permet d'étudier le caractère viscoélastique d'une solution ou d'un gel. On applique à l'échantillon une faible déformation de façon sinusoïdale et la contrainte résultante est mesurée. Les modules G' et G'' sont les paramètres qui représentent le degré relatif des comportements élastiques et visqueux des matériaux viscoélastiques. Ils sont aussi appelés module de conservation (G') et de perte (G''). G' représente le caractère solide ou élastique du matériel et G'' représente le caractère liquide ou visqueux. La relation de proportion entre G'' et G' est appelée l'angle de perte et est définie par :

$$\tan(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad (II.6)$$

Où δ est l'angle de phase.

Dans le système d'analyse en cisaillement dynamique, la contrainte doit être en régime linéaire, c.-à-d. directement proportionnelle à la déformation (contrainte maximale et déformation maximale).

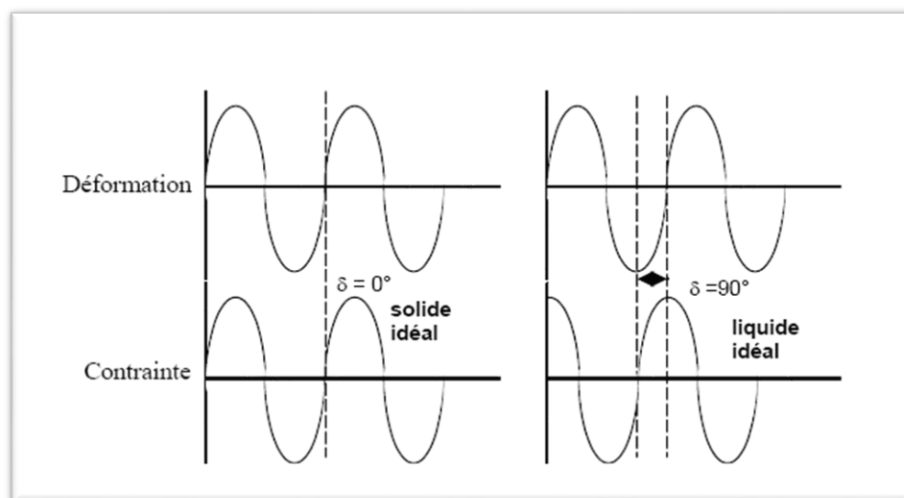


Figure II.7. Déformation et contrainte qui montrent la réponse d'un solide idéal et d'un liquide idéal [15].

Si les courbes sinusoïdales (déformation ou taux de déformation et de contrainte) (Figure II.7), sont exactement en phase (angle de phase δ égal à zéro), on observe un comportement élastique (solide Hookean idéal). Pour un liquide Newtonien idéal, la contrainte maximale est au milieu du cycle de la contrainte et la déformation à ce point est zéro (contrainte maximale et déformation minimale). La contrainte et la déformation ne sont donc pas en phase et δ est égal à 90, [8,10].

La figure II.8 montre les valeurs de G' et G'' en fonction de la fréquence de déformation (ω) d'une solution de polysaccharides. On peut voir clairement les différences des modules de conservation et de perte entre les différents systèmes en fonction de la fréquence.

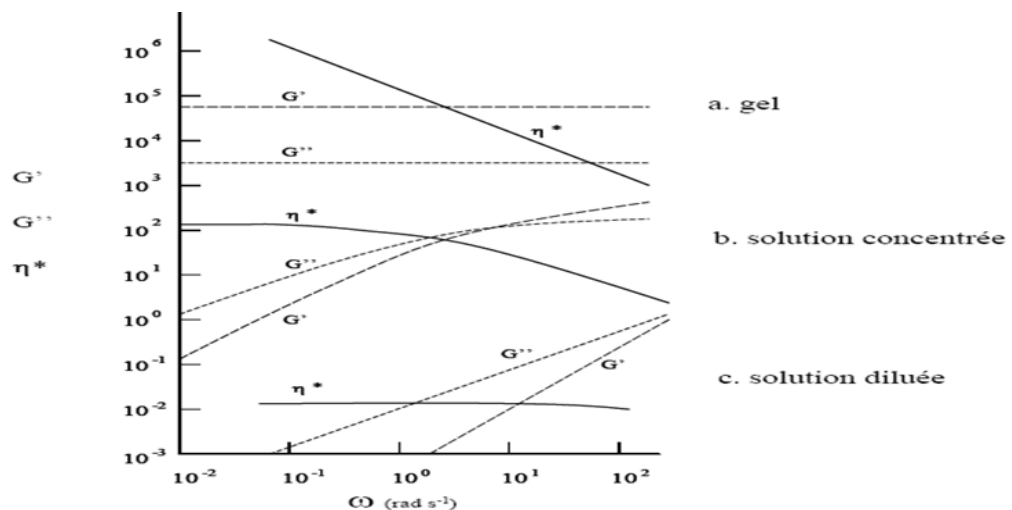


Figure II.8. Spectre rhéologique des polysaccharides [17].

Pour un gel (figure II.8a), le module de conservation G' , est beaucoup plus grand que le module de perte G'' ; les deux modules (G' et G'') restent constants sur toute la gamme de fréquences. Pour une solution diluée (figure II.8c), G'' est plus grand que G' , mais leurs valeurs se rapprochent avec l'augmentation des fréquences. Dans une solution concentrée (figure II.8b), G' est initialement inférieur à G'' . À une fréquence caractéristique, les courbes des modules se croisent et G' devient supérieur à G'' . Cette intersection est connue comme le point de gélification. Pour les solutions diluées et concentrées, les modules sont dépendants de la fréquence. La viscosité dynamique (η^*) reste presque constante pour une solution diluée ; elle diminue avec l'augmentation de la fréquence dans le cas d'un gel et une solution concentrée.

La viscosité dynamique est définie par :

$$\eta^* = \frac{G^*}{\omega} \quad (II.7)$$

Où:

$$G^* = \sqrt{G'^2 + G''^2} \quad (II.8)$$

Le spectre rhéologique permet d'identifier les zones de déformation linéaire et non linéaire. On peut aussi réaliser d'autres types de tests dynamiques. On peut réaliser un balayage en fréquence (*frequency sweep*) où G' , G'' et η^* sont mesurés en fonction de la fréquence (ω) à une température constante (Figure II.8). Le temps d'une oscillation reste constant mais l'angle de déformation augmente ou diminue de façon constante. Dans la zone de déformation linéaire, on peut ainsi analyser les temps de relaxation moléculaire. On peut réaliser des balayages en température (*temperature sweep*) où les paramètres G' , G'' et η^* sont mesurés à fréquence et déformation constantes en fonction de l'accroissement ou de la diminution de la température. On peut ainsi suivre les changements au niveau des interactions intra et inter moléculaires associées avec la température. Les tests de balayage en temps (*time sweep*) permettent de suivre les changements de type synérèse (contraction) ou de nature conformationnelle en fonction du temps à température et ω fixes.

A basses fréquences, le module de perte G'' est largement plus élevé que le module de conservation G' . Dans ce cas, le comportement visqueux est prédominant. De plus: G' est proportionnelle à ω^2 et G'' est proportionnelle à ω .

Quand la fréquence augmente, G' tend vers un plateau et G'' décroît rapidement. Le comportement élastique est prédominant.

II.4.2. Propriétés rhéologiques des polymères

Dans le cas des polymères, la rhéologie n'étudie donc que les déplacements qui sont grands par rapport à la taille des macromolécules. Les mouvements intramoléculaires et l'enchevêtrement des chaînes sont des mouvements que la rhéologie par nature ne peut pas décrire. En revanche, ces mouvements locaux sont à la base de l'explication du comportement rhéologique des polymères fondus.

La viscosité est un paramètre très important dans l'étude de l'écoulement du polymère, cette dernière qui est d'environ 10⁶ à 10⁸ fois celle de l'eau, est en fonction de certains paramètres qui sont :

- Le poids moléculaire du polymère
- La température
- La pression
- Le taux de cisaillement.

Dans le cas réel, le comportement des matériaux peut être différencié en cinq régions spécifiques (Figure II.9) :

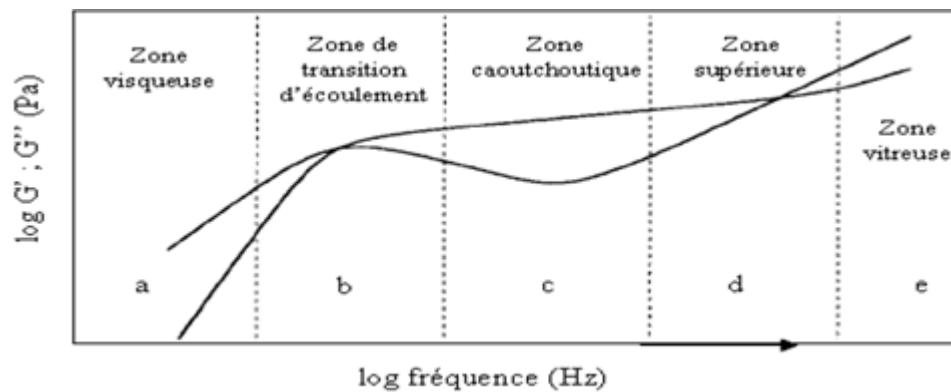


Figure II.9. Les différentes régions du spectre viscoélastique des fluides non-Newtoniens [18]

- Zone visqueuse ou terminale : l'écoulement est visqueux $G' < G''$, G' est proportionnel à ω^2 et G'' est proportionnel à ω . Tous les matériaux possèdent cette zone. Son apparition dépend du rhéomètre qui peut la détecter ou non, puisque les fréquences dans cette région sont très faibles.
- Zone de transition d'écoulement : elle est nommée ainsi car dans cette zone, les deux modules sont du même ordre de grandeur. Le point d'intersection des deux modules ($G' = G''$) apparaît souvent.
- Le plateau ou la zone caoutchoutique : dans cette région, le comportement élastique domine. Cette zone est marquée par un plateau de G' , avec une légère augmentation avec la fréquence. Le module de perte G'' est toujours inférieur à G' et le rapport entre les deux modules G'/G'' peut atteindre 15. G'' peut avoir un minimum et on peut tracer une courbe approximative telle que:

$$G'' \approx \frac{\pi \times G'}{2} \frac{d \ln G'}{d \ln \omega} \quad (II.9)$$

Le terme $\frac{d \ln G'}{d \ln \omega}$ représente la pente locale de la courbe $G'(\omega)$ en coordonnées logarithmiques.

- Zone supérieure : c'est la zone du deuxième point de croisement entre les deux modules ($G' = G''$). La deuxième fréquence critique définit un deuxième temps de relaxation. A ce stade et aux fréquences élevées, G'' est supérieur à G' .
- Zone vitreuse : cette zone est caractérisée par une augmentation rapide du module de perte G'' qui devient dominant par rapport au module de conservation G' .

II.5. Gélification des biopolymères

II.5.1. Gélification du chitosane

Un gel est un réseau tridimensionnel continu retenant un solvant entre ses mailles. Le solvant est présent en grande quantité, généralement majoritaire.

Le gel est un matériau mou qui possède les propriétés viscoélastiques d'un solide, ce sont des « solides visco-élastiques ». Selon Burchard et Ross-Murphy [19], le module élastique G' d'un gel doit afficher un plateau sur une large gamme de fréquences. G' doit également être au moins dix fois supérieur au module de dissipation G'' (autrement dit, $\tan\delta < 0,1$) sur une gamme de fréquence de plusieurs décades [20]. Il n'est enfin pas exigé d'un gel qu'il possède un temps de relaxation infini [21].

Les gels de chitosane non réticulés sont considérés comme des gels physiques thermoréversibles [22]. Dans les gels physiques, les interactions macromoléculaires résultent d'interactions ioniques, de Van Der Waals ou de liaisons hydrogène. La gélification du chitosane dépend de l'équilibre entre les interactions hydrophobes et hydrophiles ; les premières dépendent principalement du degré de désacétylation (DD) et les secondes du DD et du degré de protonation. Moore et Roberts [23, 24] ont observé, par étude de réacétylation, que la solubilité du chitosane diminue progressivement avec l'augmentation de l'acétylation et résulte finalement en la formation de gels non réversibles. Ils ont démontré que la gélification commence quand le DD se situe entre 25 et 50%. Montembault *et al.* [25] ont noté que la vitesse de gélification du chitosane augmente avec le DD. Vachoud *et al.* [26] ont observé une augmentation de la vitesse de gélification avec le poids moléculaire du chitosane.

La neutralisation ou l'écrantage ionique des charges des glucosamines permet également la formation de gels physiques forts similaires aux gels covalents. À pH 4 et à faible force ionique, les groupes glucosamine du chitosane sont complètement chargés et provoquent l'expansion de la macromolécule par répulsions électrostatiques intramoléculaires. La chaîne possède alors un haut niveau de rigidité. Desbrières [27] a démontré qu'à une force ionique de

0,1 M NaCl, le chitosane est complètement écranté et que la rigidité est similaire aux conditions de neutralité. Cho *et al.* [28], ont démontré que la concentration critique d'enchevêtrement qui est reliée à C_{gel} (concentration critique), diminue avec l'augmentation de la force ionique. À 5% de rapport des poids (w/w) du chitosane/solvant, Hamdine *et al.* [29] ont démontré qu'on pouvait former des pseudogels par écrantage des charges du chitosane moyennant de fortes concentrations d'acides monovalents (HCl : 0,25M ; acide lactique : 0,5M ; acide acétique : 1M). En utilisant des acides bivalents (acide sulfurique, acide phosphorique et acide oxalique) et en augmentant la concentration du chitosane, il est possible de former des gels à des pH supérieurs et à des forces ioniques plus faibles [30]. Il a été proposé par Yamaguchi *et al.* [31] que les zones de jonctions entre macromolécules seraient de nature ionique et coopérative comme les zones de jonctions « *egg box* » que l'on retrouve dans les gels d'alginate de calcium.

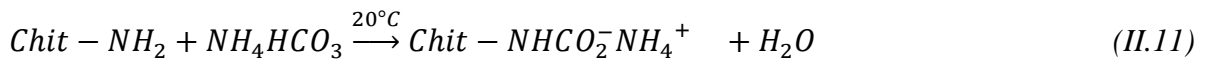
Chenite *et al.* [32] ont étudié la gélification thermoréversible du chitosane à pH neutre dans des tampons de β -glycérophosphate. La solution gélifie lors du chauffage et se liquéfie lors du refroidissement. Cho *et al.* [33] ont expliqué la formation de ces gels par le changement de la constante de dissociation des glucosamines lors du chauffage. Une augmentation de température résulte en une diminution de la constante de dissociation (Éq. II.10) et résultera en une diminution de la protonation du chitosane qui provoquera sa gélification.

$$pK_{a_2} = \frac{T_1}{T_2} pK_{a_1} \quad (II.10)$$

En changeant la concentration en polymère, la force ionique du tampon et la nature des autres ions présents, il est possible de moduler la température de gélification [29]. Cho *et al.* ont démontré que dans différentes conditions de concentrations et de forces ioniques, les solutions gélifieront lors du chauffage et pourront soit maintenir leur structure gélifiée après refroidissement ou revenir à l'état liquide [34, 35]. De façon similaire, Hamdine *et al.* [29] ont obtenu un gel faible en mélangeant une solution acide peu tamponnée de chitosane avec du chitosane en poudre. Lors de la solubilisation de la poudre, le chitosane devient protonné et le pH augmente graduellement entre 6,2 et 6,5 ; il se forme alors un gel.

Muzzarelli *et al.* [36] ont étudié la formation de gels de différents sels de chitosane dans des solutions alcalines (Éq. II.11). L'utilisation de solutions saturées de bicarbonate

d'ammonium (NH_4HCO_3) est particulièrement intéressante car l'interaction des ions carbonates avec les groupes aminés ralentit la vitesse de gélification du chitosane. Ce ralentissement donne un temps suffisant pour créer, à pH alcalin, un gel homogène après mélange d'une solution acide de chitosane avec une solution de bicarbonate.



Montembault *et al.* [25] ont étudié la gélification du chitosane par rhéologie dynamique. Lors de l'analyse en balayage de fréquence (Figure II.10) et avant le point de gel (P_{gel}), ils ont observé que le module de perte $G''(\omega)$ est supérieur au module de conservation $G'(\omega)$. En fait leurs résultats suivent le comportement d'une solution enchevêtrée où la variation de $G'(\omega) \sim \omega^{n'}$, et $G''(\omega) \sim \omega^{n''}$ où $n' > n''$. Si Montembault *et al.* [25] avaient poursuivi les mesures à des fréquences plus élevées, $G'(\omega)$ serait devenu supérieur à $G''(\omega)$ et, à cause du manque de liberté de déplacement due à l'enchevêtrement, un pseudogel aurait été formé ($G'(\omega) \sim G''(\omega) \sim \omega^0$), [37]. Au P_{gel} (Figure II.10), les propriétés visqueuses et élastiques de la solution varient de façon identique ($G'(\omega) \sim G''(\omega) \sim \omega^n$) sur l'ensemble des fréquences tel que prédit par la théorie de percolation de De Gennes [38]. Le point auquel la valeur de n est identique pour $G'(\omega)$ et $G''(\omega)$ peut être utilisé comme estimateur de P_{gel} . La solution est alors dans un état à la fois liquide et solide. Après le point P_{gel} , le module de conservation $G'(\omega)$ devient supérieur à $G''(\omega)$; puis $G''(\omega)$ et $G'(\omega)$ deviennent alors rapidement constants ($G'(\omega) \sim G''(\omega) \sim \omega^0$). Les valeurs de $G'(\omega)$ et $G''(\omega)$ au point de gélification sont dépendantes de la concentration initiale de chitosane et donc le P_{gel} du chitosane dépend non seulement du nombre critique de jonctions par unité de volume mais est aussi fortement influencé par les conditions initiales d'enchevêtrement (organisation moléculaire de la solution) [39].

Le degré de désacétylation (DD), le degré de protonation (DP), le poids moléculaire (PM), la concentration du chitosane et les propriétés du solvant (polarité et force ionique), le pH de gélification, le temps de gélification ainsi que les propriétés mécaniques détermineront les propriétés du gel [25]. Après la gélification, on peut observer des phénomènes lents de contraction du gel et de synérèse.

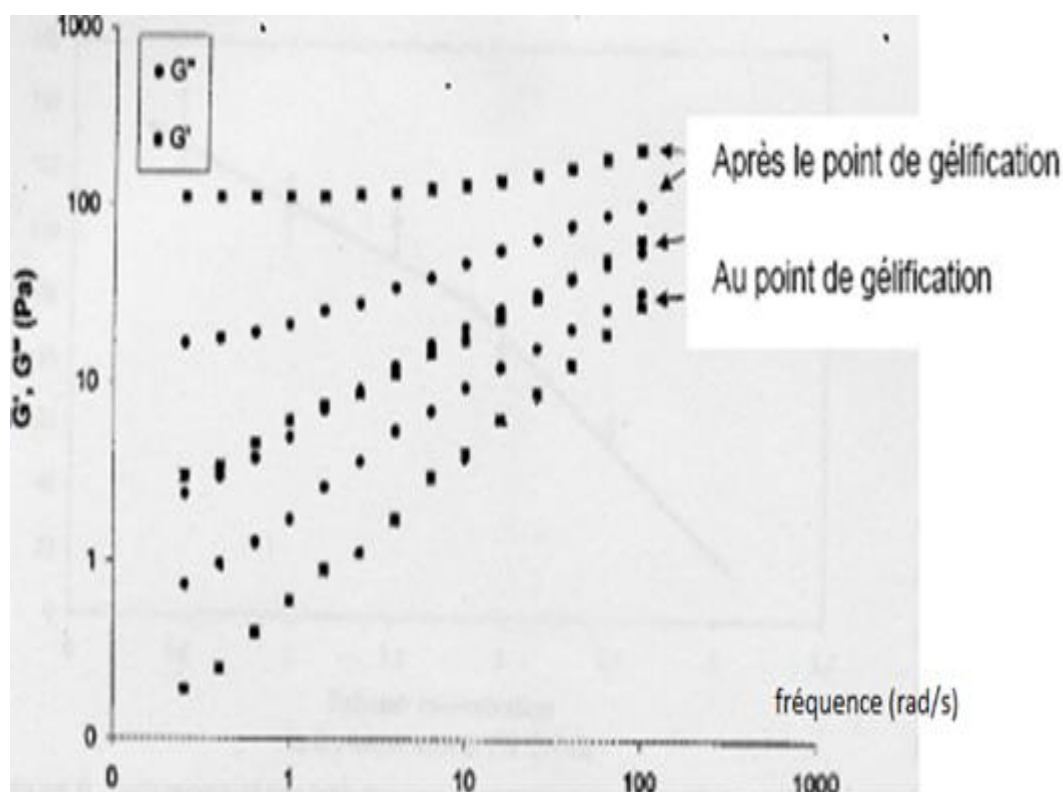


Figure II.10. Variation de G' et G'' en fonction de la fréquence pendant la gélification d'une solution de chitosane [25].

II.5.2. Influence des paramètres sur la gélification des biopolymères

Le pH est un facteur important dans la formation des complexes car il affecte à la fois le degré d'ionisation des groupes fonctionnels des biopolymères et la force ionique de la solution. Par exemple, pour un polysaccharide anionique fortement chargé ($\text{pH} > \text{pK}_a$), le rendement maximal pour la formation de complexes s'obtient lorsque les protéines seront chargées positivement (pH en dessous du point isoélectrique (pI) de la protéine). Les deux biopolymères auront des charges nettes de signes opposés ce qui induit une attraction maximale. Pour un polysaccharide cationique tel que le chitosane ($-\text{NH}_3^+$), le rendement maximal en formation de complexes sera lorsque le polysaccharide est chargé ($\text{pH} < \text{pK}_a$) et que les protéines portent des charges négatives (pH au-dessus du pI de la protéine) [40]. De même des protéines de lactosérum forment des complexes avec le chitosane à pH 5,5 et 6, c'est à dire au-dessus du pI de ces protéines [41].

L'effet du pH, de la force ionique, de la concentration et du ratio des polymères sur la formation des complexes et sur la stabilisation des émulsions à l'aide de ces complexes ont également été étudié [42]. Si la force ionique est faible, les charges positives et négatives des biopolymères sont pleinement exposées et la formation de complexes est possible. Cependant, si la force ionique est élevée, les ions des électrolytes masquent les charges des biopolymères,

l'attraction entre biopolymères est réduite et la formation de complexes en sera diminuée. Les faibles températures favorisent la formation de ponts hydrogène, alors que les températures élevées favoriseront la formation des liaisons covalentes (protéines-protéines) et d'interactions hydrophobes en raison de l'exposition des sites hydrophobes des protéines globulaires et aux changements dans la structure du polysaccharide. Le nombre et la grosseur des complexes sont influencés par la température. Schmitt *et al.* [43] mentionnent que le nombre de complexes de protéines de lactosérum et de gomme xanthane est plus élevé après traitement thermique (80°C pendant 20 min).

À une concentration élevée de biopolymères, le système présentera une séparation de phases ségrégative due à la compétition entre les macromolécules pour le solvant et à l'effet de volume exclus. Le ratio polysaccharide-protéine a aussi un rôle important dans la formation de complexes. Quand un des biopolymères est en excès, les complexes auront tendance à être plus solubles car les charges ne sont pas neutralisées.

La fermeté des gels de protéines sériques augmente avec l'augmentation de la concentration protéique. À faibles concentrations, l'agrégation des molécules induit l'augmentation de la viscosité et la formation d'un gel est possible au-delà d'une concentration minimale de protéines. Cette concentration est la concentration critique de gélification. En augmentant la concentration protéique, la vitesse de gélification est aussi plus élevée [44]. La formation du gel et sa structure dépendent donc de la température, du temps de chauffage, du pH et de la force ionique.

Ceci s'explique par le fait que la structure du gel est fortement reliée au couple durée/température de chauffage de la solution protéique. Plus la température est élevée, plus le temps de chauffage nécessaire pour la formation du gel est court. La vitesse de chauffage modifie ainsi la structure du gel [45]

Les solutions de protéines sériques gélifiées par la chaleur peuvent former deux types de gels : les gels filamenteux et les gels agrégés aussi appelés particuliers [44].

Ces deux structures dépendront des conditions d'exposition des groupements répulsifs et attractifs (Figure II.11).

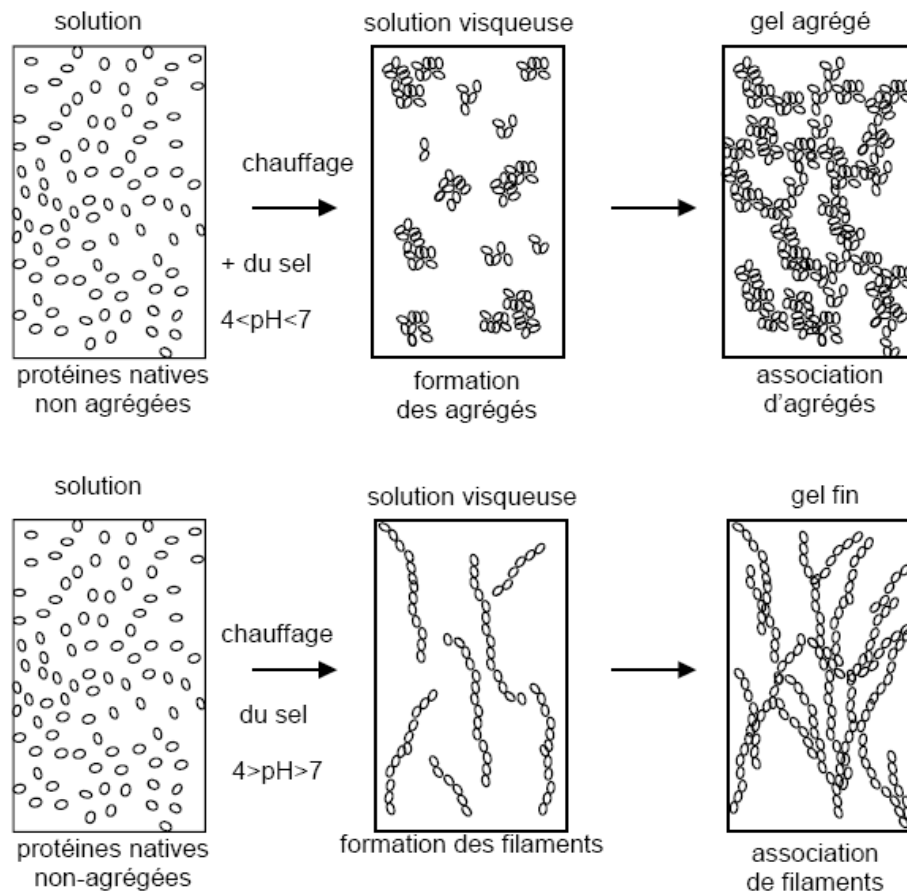


Figure II.11. Formation de gels fins et de gels agrégés [46].

II.6. Conclusion

La structure des gels correspond à un réseau macromoléculaire tridimensionnel dont les noeuds sont principalement des réticulations chimiques, présentant généralement un comportement très complexe. Plusieurs facteurs influent sur la gélification des biopolymères tels que le pH de gélification, la concentration, le temps de gélification, la polarité et les forces ioniques, le degré de protonation (DP), le poids moléculaire (PM) ainsi que les propriétés mécaniques du gel. Pour les gels à base de chitosane, en plus des facteurs cités précédemment, un autre paramètre influe sur la gélification ; c'est le degré de désacétylation (DD). La rhéologie des gels permettra entre autre, de déterminer leurs propriétés et ceci afin de bien comprendre le système de gélification.

II.7. Références du chapitre II

- [1] Martin J. E., Adolf D., Wilcoxon J. P. (1989), Viscoelasticity near the sol-gel transition, *Physical Review A*, 39, 3, 1325-1332
- [2] Nyström B., Kjoniksen A. L., Iversen C. (1999), Characterization of association phenomena in aqueous systems of chitosan of different hydrophobicity, *Advance Colloid and Interface Science*, 79, 81-103.
- [3] Durand D. (1990), Les réseaux macromoléculaires et les gels, Groupe français d'étude et d'application des polymères, chap 5, 121-182.
- [4] Israelachvili J. N. (1985), *Intermolecular and Surface forces*, Academic Press
- [5] de Gennes P. G. (1979), *Scaling concepts in polymer physics*, Cornell University Press, Ithaca, NY
- [6] Yamauchi, A., and Hirokawa, N. (1990). *New Polymeric Materials One point-24: Functional Gels*, Kyoritsu Publ.
- [7] Watase, M. (1989). *Proc. 4th Polymer Gel Study Group Lecture Series*, p. 26.
- [8] Smidstrod, O., and Grasdalen, H. (1982). *Carbohydr.Polym.*, 2: 270.
- [9] Fujimoto, O. (1994). *Bio Sciences of the Future Series 32: Collagen*, Kyoritsu Publ.
- [10] Shiraiishi, H. (1989). *Proc. 4th Polymer Gel Study Group Lecture Series*, p. 34.
- [11] M. Barrow, McGraw-Hill, (1979), *Physical chemistry*, Gordon 4th Edition.
- [12] Y. Osada, J.P. Gong, Y. Tanaka, (2004), *Polymer gels*, *Journal of macromolecular science Part CPolymer reviews* 44 87–112.
- [13] Groupe Français de Rhéologie., (1990). "Dictionnaire de rhéologie", Groupe français de rhéologie, volume 56 p.
- [14] Persoz.B., (1969). "La rhéologie", Monographie Masson et Cie.
- [15] Daubert, C.R. and Foegeding, E.A. (1998). *Rheological principles for food analysis*. In: *Food Analysis*, (Nielsen, S.S.), Aspen Publishers, Gaithersburg, chap. 34, p. 551-569.
- [16] Steffe, J.F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*, 2nd edition. East Lansing, MI, USA.
- [17] Morris, E.R., (1995). *Polysaccharide Rheology and in-mouth perception*, In: *Food polysaccharides and their applications*, (S. Alistar), Marcel Dekker Inc., New York, USA, chap. 16, p.517-546.
- [18] Ponche A., (2003). "Suspensions de particules dans des solutions de polymère: Rhéométrie et observations microscopique", Thèse de doctorat de l'Université de Haute Alsace, 136p.
- [19] Burchard W., Ross-Murphy S.B. (1990), Introduction: Physical Gels From Synthetic and Biological Macromolecules, in: W. Burchard, S.B. Ross-Murphy (Eds.), *Physical Networks: Polymers and Gels*, Elsevier Applied Science, pp. 1–15.
- [20] Almdal K., Dyre J., Hvidt S., Kramer O. (1993), Towards a Phenomenological Definition of the Term "Gel", *Polymer Gels and Networks*. 15–17.
- [21] Fuchs T., Richtering W., Burchard W., Kajiwara K., Kitamura S. (1997), Gel Point in Physical Gels: Rheology and Light Scattering from Thermoreversibly Gelling Schizophyllan, *Polymer Gels and Networks*. 5 541–559.
- [22] Roberts, G.A.F. (1992), *Chitin chemistry*, The Macmillan Press, London, UK.
- [23] Moore, G.K. and Roberts, G.A.F. (1980a). Chitosan gels: 1. Study of reaction variables. *Int.J. Biol. Macromol.*, vol. 2, p. 73-77.

- [24] Moore, G.K. and Roberts, G.A.F. (1980b). Chitosan gels: 2. Mechanism of gelation. *Int.J. Biol. Macromol.*, vol. 2, p. 78-80.
- [25] Montembault, A., Viton, C. and Domard, A. (2005). Rheometric study of the chelation of chitosan in aqueous solution without cross-linking agent. *Biomacromolecules*, vol.6, p. 653-662.
- [26] Vachoud, L., Zydowick, N. and Domard, A. (1997). Formation and characterisation of a physical chitin gel. *Carbohydrate Research*, vol. 302, p. 169-177.
- [27] Desbrières, J. (2002). Viscosity of semiflexible chitosan solutions: influence of concentration, temperature, and role of intermolecular interactions. *Biomacromolecules*, vol. 3, p. 342-349.
- [28] Cho, J., Heuzey, M.-C., Bégin, A. and Carreau, P.J. (2006a). Viscoelastic properties of chitosan solutions: effect of concentration and ionic strength, *Journal of Food Engineering*, vol. 74, p. 500-515.
- [29] Hamdine, M., Heuzey, M.-C. and Bégin A. (2005a). Effect of organic and inorganic acids on concentrated chitosan solutions and gels, *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 37, p.134-142.
- [30] Hamdine, M., Heuzey, M.-C. and Bégin A. (2005b). Viscoelastic properties of phosphoric and oxalic acid-bas chitosan hydrogels. *Rheologica Acta*, vol. 37, p. 1-7.
- [31] Yamaguchi, R., Hirano, S., Arai, Y. and Ito, T. (1978). *Agric. Biol. Chem.*, 42, p. 1981
- [32] Chenite, A., Buschmann, M., Wang, D., Chaput, C. and Slemani, A. (2001). Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions. *Carbohydrate Polymers*, vol. 46, p. 39-47.
- [33] Cho, J., Heuzey, M.-C. Bégin, A. and Carreau, P.J. (2005). Physical Gelation of Chitosan in the Presence of β -Glycerophosphate: The Effect of Temperature. *Biomacromolecules*, vol. 6, p. 3267-3275.
- [34] Cho, J., Heuzey, M.-C., Bégin, A. and Carreau, P.J. (2006b). Chitosan and glycerophosphate concentration dependence of solution behaviour and gel point using small amplitude oscillatory rheometry. *Food Hydrocolloids*, vol. 20, p. 936- 945.
- [35] Cho, J., Heuzey, M.-C., Bégin, A. and Carreau, P.J. (2006c). Effect of urea on solution behavior and heat-induced gelation of chitosan- β -glycerophosphate. *Carbohydrate Polymers*, vol. 63, p. 507-518.
- [36] Muzzarelli, C., Tosi, G., Francescangeli, O. and Muzzarelli, R. A.A. (2003). Alkaline chitosan solutions. *Carbohydrate Research*, vol. 338, p. 2247-2255.
- [37] Kavanagh, G.M. and Ross-Murphy, S.B. (1998). Rheological characterisation of polymer gels. *Prog. Polym. Sci.* vol. 23, p. 533-562.
- [38] ForgaCs, G., Newman, S.A., Hinner, B., Maier, C.W. and Sackmann E. (2003). Assembly of collagen matrices as a phase transition revealed by structural and rheologic studies. *Biophysical Journal*, vol. 84, p. 1272-1280.
- [39] Barnes H.A, (2000). "A handbook of elementary rheology", Institute of non-Newtonian Fluid Mechanics, University of Wales.
- [40] Williams, P.A. and Phillips G.O. (1995). Interactions in mixed polysaccharide systems. In: *Food polysaccharides and their applications*, (S. Alistar), Marcel Dekker Inc., New York, USA, chap. 14, p.463-500.
- [41] Laplante, S., Turgeon, S.L. and Paquin, P. (2005). Effect of pH, ionic strength, and composition on emulsion stabilizing properties of chitosan in a model system containing whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, vol. 19, issue 4, p. 721-729.
- [42] Laplante, S. (2003). Étude des propriétés stabilisantes d'émulsion du chitosane en présence d'isolat de protéines de lactosérum. Thèse, Université Laval, Québec, Canada.

- [43] Schmitt, C., Sanchez, C., Desobry-Banon, S. and Hardy, J. (1998). Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 38, no. 8, 689-753.
- [44] Foegeding, E.A. (2006). Food Biophysics of Protein Gels: A Challenge of Nano and Macroscopic Proportions. Review. *Food Biophysics*, vol. 1, no. 1, p. 41-50.
- [45] Stading, M., Langton, M. and Hermansson, A.M. (1993). Microstructure and rheological behaviour of particulate β -Lactoglobulin gels. *Food Hydrocolloids*, vol. 7, p. 1445-1450.
- [46] Bryant, C.M. and McClements, D.J. (1998). Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. *Trends in Food Science & Technology*, vol. 9, 143-151.

CHAPITRE III

TECHNIQUES DE MESURES ET CARACTERISATIONS

Ce chapitre décrit l'ensemble des techniques et caractérisations permettant de déterminer les structures, les propriétés thermiques et rhéologiques des échantillons étudiés dans notre travail de recherche. Ces techniques sont : la granulométrie, l'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF), les techniques thermiques différentielles DSC et thermogravimétriques (ATG) ainsi que les mesures rhéologiques.

La méthode des plans d'expérience utilisée pour l'optimisation des paramètres de fabrication (préparation) des gels a été aussi abordée dans ce chapitre.

III.1.Introduction

Les techniques et les caractérisations qui ont permis de déterminer les structures, les propriétés thermiques, et rhéologiques des échantillons étudiés dans ce travail sont présentées ci-dessous. La méthodologie des plans d'expérience utilisée pour l'optimisation des paramètres pour la préparation des gels est aussi abordée en fin de ce chapitre.

III.2. Caractérisation structurale

III.2.1. Analyse granulométrique

La granulométrie est l'étude de la distribution statistique des tailles d'une collection d'éléments fins de matière naturelle ou fractionnée. L'analyse granulométrique d'un sol consiste à déterminer la proportion des diverses classes de grosseur des particules. Il n'existe pas de méthode parfaite pour déterminer la granulométrie ; l'exactitude de la méthode dépend de la nature du sol et, plus précisément, de la forme géométrique des particules et du pourcentage des matières qu'elles renferment. L'étude granulométrique des particules permet de déterminer la surface spécifique (m^2/g) du sol, ce qui permet d'estimer l'homogénéisation des échantillons ; et ceci en évaluant la distribution granulométrique par génération de diamètres de particules en suspensions.

III.2.1.1. Principe

La granulométrie est l'étude de la distribution de la taille des particules présentes au sein d'échantillons secs (poudres, farines, sables, etc.) ou liquides (sirops, émulsions, suspensions, etc.). La granulométrie à diffraction laser est une technique qui utilise le principe de diffraction et de diffusion d'un faisceau laser frappant une particule (Figure III.1).

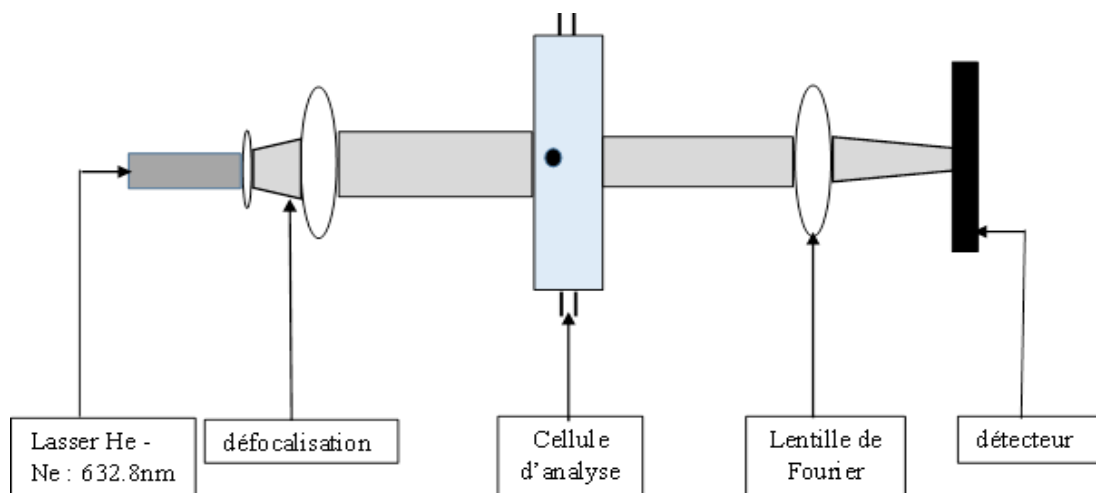


Figure III.1. Description d'un appareil de mesure granulométrique

Les particules passent à travers un rayon laser fixe. Chaque particule diffracte la lumière selon un angle qui est en fonction de sa taille. La lumière diffractée est recueillie par un détecteur multiéléments. L'image de diffraction obtenue est transformée en utilisant un modèle optique et une procédure mathématique appropriés (théorie de Mie ou théorie de Fraunhofer). Le résultat, illustré sous forme de courbe semi-logarithmique, est une distribution de particules en volume (diamètre d'une sphère de volume équivalent), (Figures III.2 et III.3).

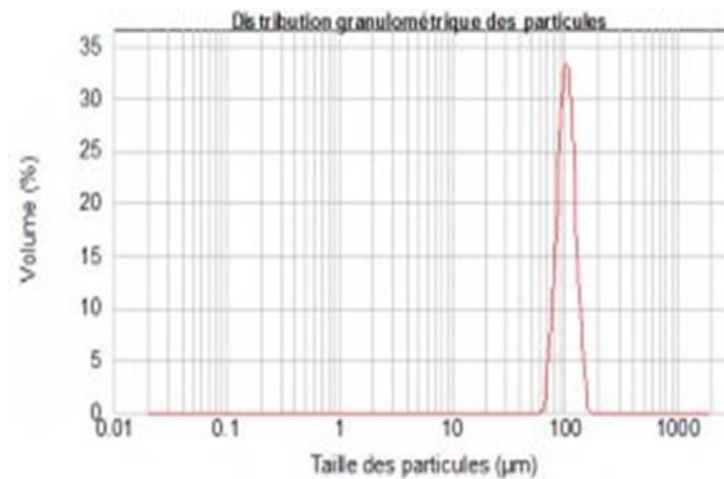


Figure III.2. Distribution granulométrique

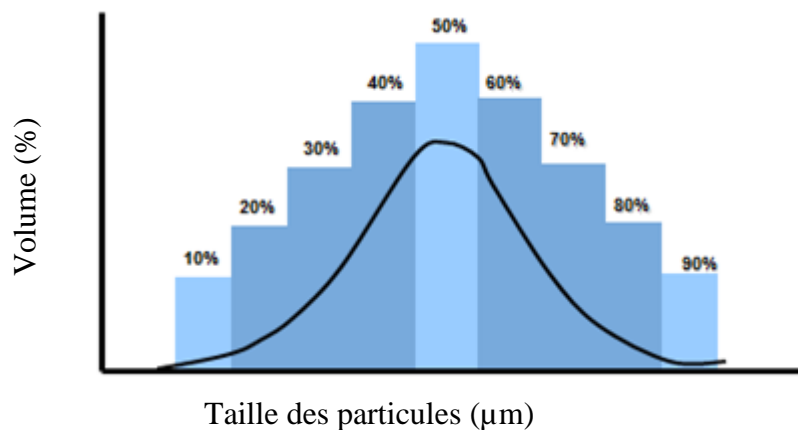


Figure III.3. Représentation des résultats: statistique de distribution

La représentation des résultats est donnée par plusieurs valeurs.

On peut pondérer les différents diamètres de particules selon :

- volume
- Aire de surface
- Nombre
- Ou toute autre caractéristique physique

Caractéristiques du rapport

Un rapport type avec une brève description des résultats est présenté ci-dessous:

RESULT ANALYSIS			
Sample Name: Glass beads	SOP Name: Glass beads (typical)	Measured: 28 January 1999 10:10:10	
Sample Source: Supplier = Malmgren	Measured by: A. Operator	Analysed: 08 September 1999 10:00:20	
Sample bulk lot ref: 1	Result Source: Measurement		
Particle Name: Glass beads (typical)	Accessory Name: Hydro 2000G (A)	Analysis method: General purpose	Sensitivity: Enhanced
Particle Rf: 1.520	Absorption: 0	Size range: 0.020 to 2000.000 um	Obscuration: 7.47 %
Dispersant Name: Water	Dispersant Rf: 1.300	Weighted Residual: 0.676 %	Result Emulation: Off
Concentration: 0.1889 %Vol	Span: 0.651	Uniformity: 0.206	Result units: Volume
Specific Surface Area: 0.0143 m ² /g	Surface Weighted Mean D[3,2]: 171.372 um	Vol. Weighted Mean D[4,3]: 182.042 um	
	d(0.1): 128.404 um	d(0.5): 176.273 um	d(0.9): 243.215 um

❶ **Résidu**: il indique dans quelle mesure les données calculées ont été ajustées aux données de mesure. Un bon ajustement est indiqué par un résidu inférieur à 1%. Un résidu de plus 1% peut indiquer l'utilisation d'un indice de réfraction et de valeurs d'absorption incorrects pour l'échantillon et le dispersant.

❷ **Statistiques de la distribution** : elles sont calculées à partir des résultats en utilisant les diamètres des particules obtenus $D[m,n]$ avec la moyenne des tailles des particules.

$$D[m, n] = \left[\frac{\sum V_i d_i^{m-3}}{\sum V_i d_i^{n-3}} \right]^{\frac{1}{m-n}} \quad (III.1)$$

$D(v, 0,5)$, $D(v, 0,1)$ et $D(v, 0,9)$ sont des lectures de pourcentage standard de l'analyse (Figure III.4) :

$D(v, 0,5)$: est la taille en micron à laquelle 50% de l'échantillon est plus petite et 50% est plus grande. Cette valeur est également connue sous le nom de diamètre médian de masse (DMM) ou de volume. Le (v) dans l'expression $D(v, 0,5)$ montre que cela fait référence au distribution de volume. Cela peut être remplacé par (s) pour la surface, (l) pour la longueur ou (n) pour le nombre distributions.

$D(v, 0,1)$: est la taille de particule en dessous de laquelle se trouve 10% de l'échantillon.

$D(v, 0,9)$ est la taille de particule en dessous de laquelle se trouve 90% de l'échantillon.

❸ **D [4,3] est la moyenne pondérée en volume.**

❹ **D [3,2] est la moyenne pondérée en surface.**

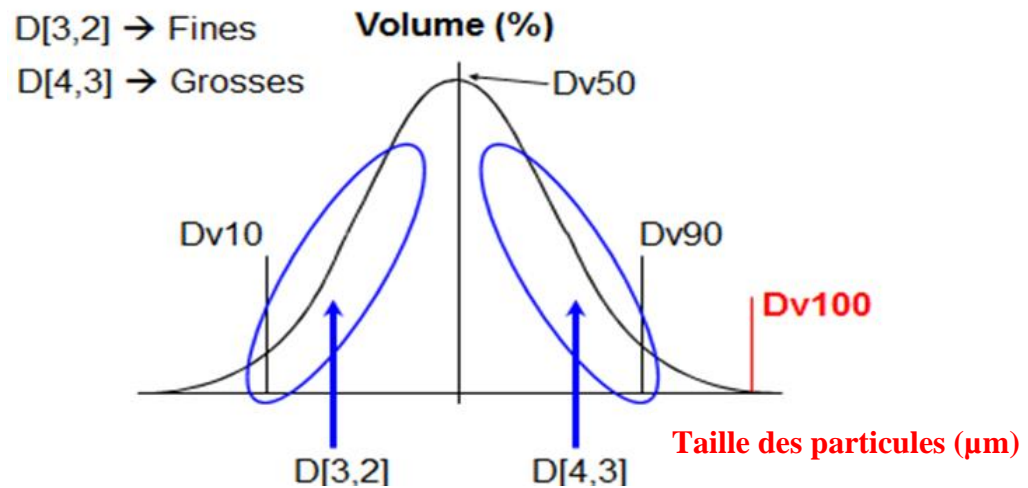


Figure III.4. Présentation des résultats statistiques des particules ainsi que leur distribution

⑤ **Le Span** : est la mesure de la largeur de distribution. Plus la distribution est étroite (mince), plus la portée devient petite. La portée est calculée comme suit :

$$Span = \frac{d(x, 0.9) - d(x, 0.1)}{d(x, 0.5)} \quad (III.2)$$

Le x est remplacé par l'une des lettres **v**, **s**, **l** ou **n** qui définissent le type de distribution.

⑥ **Concentration** : est la concentration volumique. Elle est calculée en utilisant la loi de Beer-Lambert.

⑦ **Obscurisation** : cela aide l'utilisateur à définir la concentration de l'échantillon lorsqu'il est ajouté au dispersant. C'est une mesure de la quantité de lumière LASER perdue en raison de l'introduction de l'échantillon dans le faisceau de l'analyseur. Le terme d'obscurissement peut être exprimé mathématiquement par :

$$Ob = 1 - \frac{L_s}{L_b} \quad (III.3)$$

L_s : est l'intensité lumineuse mesurée dans le détecteur central lorsqu'un échantillon est présent dans la cellule. L_b est l'intensité lumineuse mesurée avec un dispersant propre (ex : sans échantillon). L'obscurisation est généralement exprimée en pourcentage : $100 \times Ob$.

Une plage idéale se situe entre 3 et 20%, selon l'échantillon et l'unité de dispersion utilisés.

⑧ **Distribution** : indique le type de distribution utilisé par l'analyse. Les options comprennent : passer du volume à la surface, à la longueur ou au nombre par un processus mathématique qui peut amplifier toute erreur dans le résultat original, en particulier à l'extrémité fine de la distribution de taille.

⑨ **Uniformité** : est une mesure de l'écart absolu par rapport à la médiane.

$$\text{Uniformité} = \frac{\sum X_i |d(x, 0.5) - d_i|}{d(x, 0.5) \sum x_i} \quad (\text{III.4})$$

Ici $d(x, 0.5)$ est la taille médiane de la distribution (où x est remplacé par **v**, **s**, **l** ou **n**) et d_i et x_i sont respectivement le diamètre moyen de, et le résultat dans, la classe de taille i .

⑩ **Aire de surface spécifique (SSA)** : est la surface totale des particules divisée par le poids total.

$$\text{SSA} = \frac{6 \sum \frac{V_i}{d_i}}{p \sum V_i} = \frac{6}{pD[3,2]} \quad (\text{III.5})$$

Où V_i est le volume relatif de la classe i avec le diamètre moyen de d_i et p est la densité de particule. Si la **SSA** est utilisée, il est important que la densité du matériau soit définie (dans la boîte de dialogue Matériel de l'assistant SOP). Le calcul basé sur l'hypothèse que les particules sont à la fois sphériques et non poreuses.

III.2.2. Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF)

L'analyse par spectroscopie IR-TF permet de détecter les liaisons dans un mélange afin de saisir l'influence de l'ajout de substance (matériaux) dans un mélange sur les liaisons déjà existantes et ceci à travers la variation de leur fréquence et de leur intensité.

III.2.2.1. Principe

La spectroscopie infrarouge aide à identifier la structure des composés. Elle permet de mettre en évidence la présence de groupements fonctionnels caractéristiques. Elle peut être complétée par d'autres analyses spectroscopiques pour pouvoir donner la structure précise du composé. Un faisceau de lumière infrarouge, traverse l'échantillon de la matière à analyser, celle-ci en absorbe une partie et des modifications des liaisons interatomiques (vibrations et déformations) ont lieu. Ces changements sont perçus par le détecteur et l'examen de la lumière transmise, permet d'établir le spectre infrarouge en absorbance ($A = -\log T$) ou en transmittance ($T = I/I_0$), représentant la quantité d'énergie absorbée ou transmise en fonction du nombre d'onde ($1/\lambda$) figure III.5.

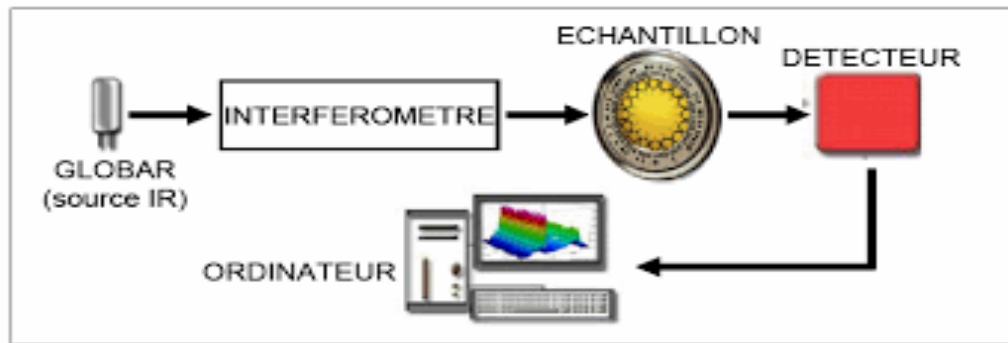


Figure III.5. Principe de Spectromètre IR-TF [1]

➤ Détermination du Degré de Désacétylation

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer le DD du chitosane. Les plus utilisées sont les méthodes basées sur l'électrochimie, la RMN ^1H et la spectrophotométrie UV [1]. La limite de ces techniques est la solubilité des matériaux en milieu aqueux. Pour pallier à cet inconvénient, puisque la RMN du solide ne permet de déterminer le DD que dans un domaine limité et la spectroscopie infrarouge caractérise les échantillons quelque soit leur DD, c'est cette dernière technique que nous avons utilisée pour caractériser les échantillons de chitosane (Figure III.6).

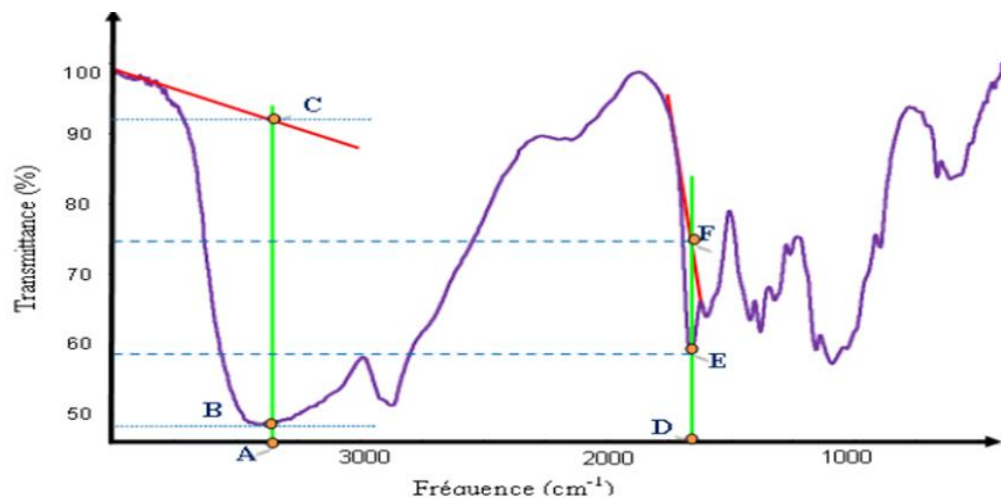


Figure III.6. Spectre IR du chitosane après le processus de désacétylation avec les lignes de base pour la Détermination de la transmittance [3, 4]

Le degré de désacétylation est le pourcentage d'unités 2-acétamido-2-déoxy-glucopyranose de la chitine de départ, qui après désacétylation, sont des unités 2-amino-2-déoxy-glucopyranose (Figure I.1).

La détermination du degré de désacétylation (DD%) s'effectue par l'analyse du spectre (IR-FT) en utilisant la formule suivante [2] :

$$DD\% = 100 - [(A_{1655cm^{-1}}/A_{3450cm^{-1}}) * 100/1.33] \quad (III. 6)$$

Avec : $A_{1655cm^{-1}}$ Absorbance à 1655 cm^{-1} de la bande d'amide primaire (Amide I).

$A_{3450cm^{-1}}$ Absorbance à 3450 cm^{-1} de la bande hydroxyle.

$$A_{1655cm^{-1}} = \log(DF/DE) \quad (III. 7)$$

$$A_{3450cm^{-1}} = \log(AC/AB) \quad (III. 8)$$

Le facteur 1,33 représente $(A_{1655cm^{-1}}/A_{3450cm^{-1}})$ pour un chitosane.

III.3. Caractérisation thermique

La caractérisation thermique englobe toute une série de technique de caractérisation des matériaux fondés sur l'étude de la variation d'une propriété physique en fonction de la température.

III.3.1. Analyse thermique différentielle (DSC)

L'analyse thermique différentielle nous permet de déterminer les températures de transition vitreuse (T_g) et de fusion T_f des polymères qu'ils soient purs ou dans un mélange.

Autre que la T_g et la T_f , l'analyse DSC nous renseigne sur le taux de cristallinité des gels qui est l'une des caractéristiques les plus importantes lors de l'étude des polymères vu que ce paramètre influence beaucoup les propriétés mécaniques telles que la résistance à l'impact, la rigidité et la résistance à la rupture [5,6].

Parmi les méthodes analytiques utilisées pour déterminer le taux de cristallinité, on peut citer la spectroscopie IR-TF, la DSC, la diffraction des rayons X et la spectroscopie Raman. L'analyse par DSC reste la technique la plus utilisée [7].

Le calcul du taux de cristallinité est effectué selon la formule (III.9) suivante [8] :

$$X_c = \Delta H_f(T_m)/\Delta H_f^\circ(T_m^\circ) \quad (III. 9)$$

Avec :

$\Delta H_f(T_m)$: L'enthalpie de fusion du polymère à la température de fusion (T_m)

$\Delta H_f^\circ(T_m^\circ)$: L'enthalpie de fusion du polymère 100% cristallin à la température de fusion à l'équilibre.

Quand le polymère fait partie d'un mélange, on doit prendre en considération sa fraction massique. Le taux de cristallinité est alors calculé selon la formule ci-dessous [9] :

$$X_{c,i} = 100 \cdot \Delta H_f(T_m) / (\Delta H_f^\circ(T_m^\circ) \cdot X_i) \quad (III.10)$$

Avec:

$(\Delta H_f^\circ(T_m^\circ))$: Enthalpie de fusion du matériau 100% cristallin.

X_i : Fraction massique du polymère.

ΔH_f : Enthalpie de fusion du polymère.

Les transitions thermiques typiques, telles que les températures de fusion, de dégradation ou de transition vitreuse, le chitosane peuvent être étudiées grâce à la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), la thermogravimétrie (TGA) et à l'analyseur mécanique dynamique (DMA).

Il a été montré par des analyses de DSC que le chitosane ne présentait pas de température de fusion, sa dégradation a lieu avant [10].

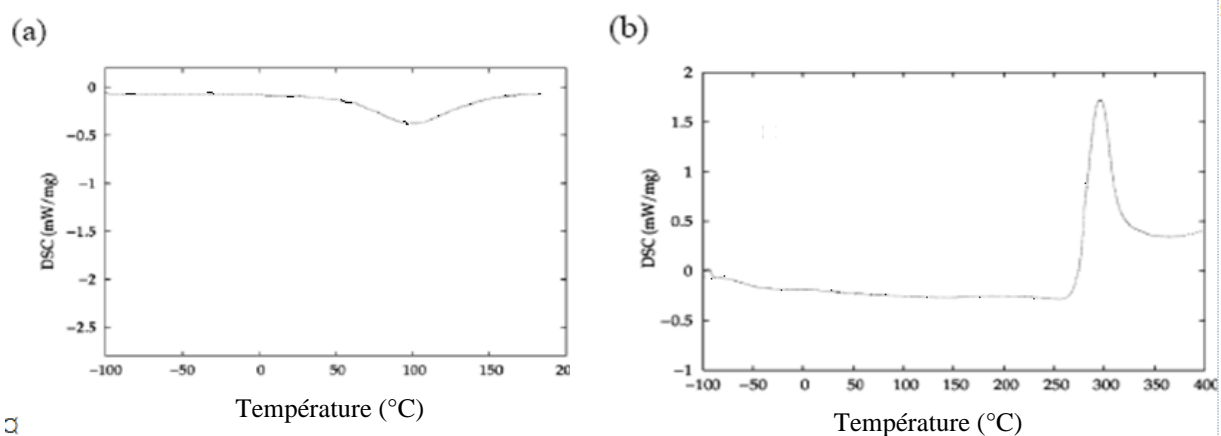


Figure III.7. Analyses DSC d'un chitosane pur ; (a) premier balayage ; (b) deuxième balayage [10]

La Figure III.7 présente la trace obtenue pour le chitosane en DSC. Lors du premier balayage (Figure III.7 (a)), (effectué de -100 à 200 °C pour éviter la dégradation du chitosane et aussi pour annuler l'historique thermique), on observe le pic d'évaporation de l'eau résiduelle entre 75 °C et 125 °C. Lors du second balayage (Figure III.7(b)), (effectué de -100 à 400 °C), on observe directement la dégradation du chitosane à partir de 250 °C. Les courbes DSC ne montrent pas de cristallinité, ni de changement de phase.

L'étude de la température de transition vitreuse (T_g) est plus controversée. En effet, on trouve dans la littérature plusieurs valeurs de T_g . Mucha et Pawlak [11] ont montré que la T_g du chitosane est située entre 156 et 168 °C, et ceci en fonction du DD du chitosane, Sakurai et *al.* [12] l'ont estimée à 203 °C, Quijada et *al.* [13] l'ont quant à eux mesurée à 85 °C, tandis que Dong et *al.* [14] l'ont évaluée entre 140 et 150 °C. Souvent la DSC et la DMA ont été toutes les deux utilisées pour déterminer la T_g , il apparaît que cela reste compliqué de déterminer la bonne valeur pour le chitosane. Finalement, on constate que les auteurs attribuent la T_g aux différents pics de relaxation (α , β ou γ) observés en DMA et ces estimations ont déjà été contredites par Neto et *al.* [10].

III.3.2. Analyse Thermogravimétrique (ATG)

La thermogravimétrie est une technique d'analyse thermique permettant de déterminer les pertes de masse d'un échantillon tout au long d'un cycle de température ou de temps, dans une atmosphère contrôlée. Les pertes de masse observées sont attribuées, soit à des réactions de polycondensation soit à la dégradation thermique du matériau, qui se traduit par l'émission de substances volatiles (eau, CO₂, etc.).

L'échantillon à analyser est placé sur la nacelle d'une balance de précision. Cette nacelle est ensuite introduite dans un four permettant de soumettre l'échantillon à des cycles de température. La variation de la masse de l'échantillon est enregistrée en fonction de la température.

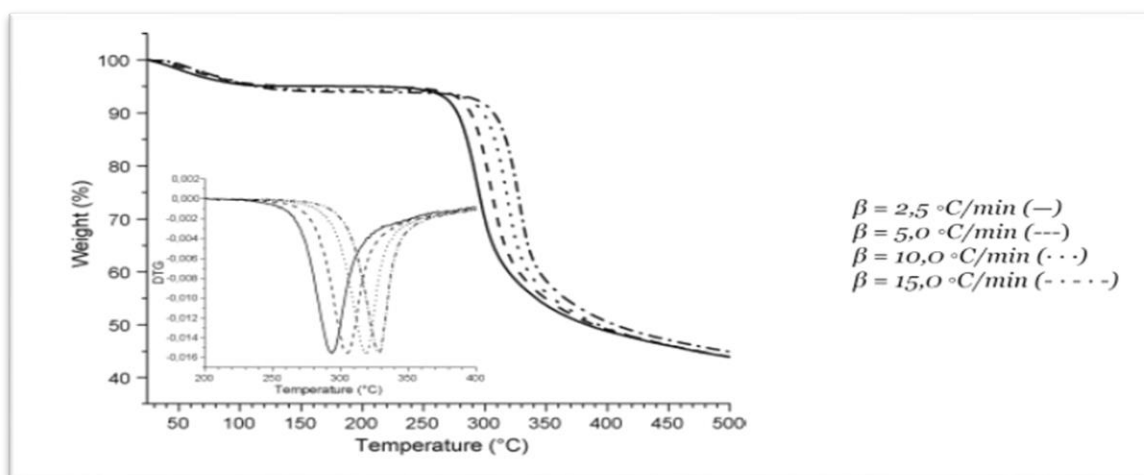


Figure III.8. TGA du chitosane pour différentes vitesses de chauffe, ainsi que la dérivée du signal de 200 à 400°C [15]

La Figure III.8 présente la thermogravimétrie du chitosane obtenue par analyse thermogravimétrique (TGA) de Britto & Campana-Filho [15]. On observe que la dégradation thermique du chitosane débute aux alentours de 200 °C, le maximum de la dérivée du signal est situé entre 290 °C et 330 °C suivant la vitesse de chauffe utilisée lors de l'analyse (notée ici β). L'analyse thermogravimétrique du chitosane présente trois étapes remarquablement différentes. La première a lieu entre la température ambiante et 140 °C, une perte de masse de l'échantillon testé de 6 % traduit l'évaporation de l'eau faiblement liée au polymère. La deuxième étape de dégradation a lieu entre 200 et 400 °C, elle correspond à la finalisation de la déshydratation, à la déacétylation et à la dépolymérisation du chitosane. Enfin, la troisième étape reflète la décomposition résiduelle pour des températures supérieures à 400 °C. Grâce à la dérivée du signal, on remarque que lorsque la vitesse de chauffe augmente, la dégradation du chitosane est retardée de quelques degrés.

III.4. Caractérisation rhéologique

La rhéologie se définit comme l'étude de l'écoulement et la déformation de la matière décrivant l'interrelation entre les forces, la déformation et le temps.

III.4.1. Principe

Un rhéomètre est un appareil permettant de mesurer les propriétés rhéologiques des matériaux. Contrairement à un viscosimètre, qui ne peut mesurer la viscosité d'un fluide que dans certaines conditions, un rhéomètre est capable de mesurer la viscosité et l'élasticité de matériaux non newtoniens dans des conditions variées.

Les rhéomètres rotationnels sont sans doute les outils rhéologiques les plus polyvalents qui soient disponibles, et ils peuvent être configurés en fonction d'un certain nombre de méthodes rhéologiques différentes pour détecter la structure et la performance des suspensions. Les échantillons sont placés entre deux plans, ou d'autres géométries similaires telles qu'un cône et un plan. L'application d'un couple au plan supérieur exerce une contrainte de cisaillement rotationnelle sur le matériau, et la déformation ou le taux de déformation résultant (gradient de vitesse) est mesuré. Les rhéomètres rotationnels et les viscosimètres partagent le même principe de fonctionnement, mais les premiers possèdent des fonctionnalités bien meilleures. Ceci est flagrant lorsqu'on en vient à la précision et à la gamme à laquelle la contrainte de cisaillement peut être appliquée, ou encore à leur praticité pour les tests oscillatoires et à leur niveau de contrôle sur la force normale appliquée pendant les tests rotationnels, (Figure III.9).

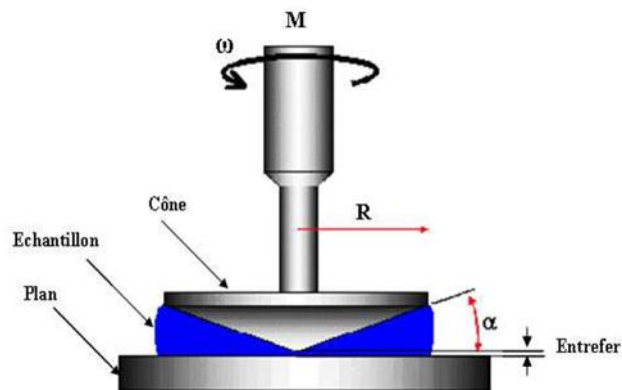


Figure III.9. Principe de rhéomètre dynamique à cône

Les rhéomètres rotationnels sont utilisés pour une large gamme de types d'échantillons, des pâtes et gels aux liquides qui possèdent les structures les plus fragiles. Le cisaillement exercé peut être contrôlé avec précision dans la région où la contrainte de cisaillement est très faible. Ces instruments sont ainsi parfaitement adaptés aux études de stabilité et à la mesure du seuil d'écoulement. Toutefois, les rhéomètres rotationnels sont optimisés pour fonctionner sur plusieurs dizaines de couples plutôt que pour établir une différenciation précise de viscosité dans les fluides à faible viscosité et aux structures fragiles. En outre, les rhéomètres rotationnels sont soumis à des limitations mécaniques dans la zone à fort cisaillement, à des gradients de vitesse supérieurs à 1000 s^{-1} .

III.5. Méthodologie de plan d'expérience

La plupart des chercheurs améliorent leurs produits ou leurs processus de production en fonction des expériences. Malheureusement, les stratégies couramment utilisées pour mener ces expériences sont souvent coûteuses et peu performantes et elles conduisent à de nombreuses expériences difficiles à exploiter. Pour toutes ces raisons, on fait appel à la planification des expériences.

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt (Y) et des variables (X_i), équation III.11. Elle a donc pour but de déterminer des modèles mathématiques reliant les grandeurs d'intérêt aux variables contrôlables. Ces règles se traduisent le plus souvent par une formule mathématique qui donne une représentation approchée du phénomène à étudier [16].

$$Y = F(X_i) \quad (III.11)$$

Les plans d'expériences apportent aussi une aide avérée aux expérimentateurs et constituent un outil indispensable à toute élaboration de stratégies expérimentales sans restriction disciplinaire. Parmi les industries pouvant utiliser cette méthodologie, on peut notamment citer :

- Industries chimique, pétrochimique et pharmaceutique;
- Industries mécanique et automobile;
- Industrie métallurgique.

Il existe de nombreux plans d'expériences pouvant être adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur. Leur utilisation vise les objectifs suivants :

- La détermination des facteurs clés dans la conception d'un nouveau produit ou d'un nouveau procédé ;
- L'optimisation des réglages d'un procédé de fabrication ou d'un appareil de mesure ;
- La prédiction par modélisation du comportement d'un procédé.

Les plans d'expériences s'inscrivent dans une démarche générale d'amélioration de la qualité. Le succès de la démarche originale des plans d'expériences réside dans la possibilité d'aboutir aux résultats escomptés et d'interpréter ces résultats avec un effort minimal sur le plan expérimental. La minimisation du nombre d'expériences à effectuer pour une étude donnée permet un gain en temps et en coût financier. Il faut néanmoins comprendre que les plans d'expériences ne sont pas un outil destiné a priori à la recherche fondamentale car ils ne

permettront jamais une explication du phénomène physico-chimique étudié. Le plan d'expérience joue un rôle prépondérant dans différents secteurs industriels comme la chimie et l'agroalimentaire. Ils permettent d'optimiser des procédés ou des produits aussi bien au stade du développement, de la production ou du contrôle de la qualité. Leur utilisation permet d'obtenir un maximum d'informations en un minimum d'expériences [16-26].

III.6. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons passé en revue les différentes techniques et caractérisations intervenant dans notre étude. Nous avons également exposé le plan d'expérience qui nous a permis d'organiser au mieux les essais et d'optimiser nos résultats.

III.7. Références du chapitre III

- [1] Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Argüelles-Monal, W., Desbrières, J., & Rinaudo, M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42(8), 3569-3580
- [2] Domard A. and Rinaudo M., (1983), "Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 5, no. 1, pp. 49–52,.
- [3] Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F. M., Argüelles-Monal W., Desbrières J., and Rinaudo M., (2001), "An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization," *Polymer*, vol. 42, no. 8, pp. 3569–3580.
- [4] Ben Seghir B., (2017), Préparation, caractérisation et optimisation des propriétés des nano-chitosanes, thèse doctorat, Université 8 Mai 1945 Guelma
- [5] Sperling L.H. (1992), *Introduction to physical polymer science*. 2nd. New York: Wiley. P.198.
- [6] Fann D.M., Huang S.K., Lee J.Y. (1998), *Poly Engng Sci* 38:265.
- [7] Runt J.P. In: Mark HF, Bikales NM, Overberger CG, Meges G, Kroschwitz, editors (1986). *Encyclopedia of polymer science and engineering*, vol.4. New York: Wiley, p.482.
- [8] Kong Y., Hay J.N. (2002), The measurement of the crystallinity of polymers by DSC. *Polymer* 43:3873-3878,
- [9] El Hadji Babacar, (2008), Nouveaux matériaux composites thermoformables à base de fibres de cellulose, thèse de doctorat.
- [10] Neto, C. G. T., Giacometti, J. A., Job, A. E., Ferreira, F. C., Fonseca, J. L. C., & Pereira, M. R. (2005). Thermal Analysis of Chitosan Based Networks. *Carbohydrate Polymers*, 62(2), 97-103.
- [11] Mucha, M., & Pawlak, A. (2005). Thermal analysis of chitosan and its blends. *Thermochimica Acta*, 427(1-2), 69-76.
- [12] Sakurai, K., Maegawa, T., & Takahashi, T. (2000). Glass transition temperature of chitosan and miscibility of chitosan/poly(N-vinyl pyrrolidone) blends. *Polymer*, 41(19), 7051-7056.
- [13] Quijada-Garrido, I., Laterza, B., Mazón-Arecherra, J. M., & Barrales-Rienda, J. M. (2006). Characteristic Features of Chitosan/Glycerol Blends *Dynamic Macromolecular Chemistry and PhysCs*, 207(19), 1742-1751.
- [14] Dong, Y., Ruan, Y., Wang, H., Zhao, Y., & Bi, D. (2004). Studies on glass transition temperature of chitosan with four techniques. *Journal of Applied Polymer Science*, 93(4), 1553-1558.
- [15] de Britto, D., & Campana-Filho, S. P. (2007). Kinetics of the thermal degradation of chitosan. *Thermochimica Acta*, 465(1-2), 73-82.
- [16] Goupy, J. L. (1990). Etude comparative de divers plans d'expériences. *Revue de statistique appliquée*, 38(4), 5-44.
- [17] Tinsson W. (2010), « Plans d'expérience : constructions et analyses statistiques », in Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau, France, 1st Editio., vol. 67, no 0, , p. 6221.
- [18] Fisher R. (1925), « Statistical methods for research workers », *Biological monographs and manuals*, no V, , p. xv, 356 .
- [19] Ailliot P., Allard D., et Naveau P. (2015), « La planification des expériences : choix des traitements et dispositif expérimental », in *Journal de la société française de statistique*, vol. 156, no 1, p. 101-113.
- [20] Nadia B.-B. (2012), « Etude par simulations numériques de la réactivité dans la réaction d'acylation enzymatique de substrats osidiques », *Mémoire de Magister*, Université Badji Mokhtar-Annaba.
- [21] Jacques G (2001)., « Introduction aux Plans d'expériences », Dunod. Paris, p. 336.
- [22] Gherairi L. (2011), « Etude de l'effet de la température sur la stabilité des émulsions à base de

caséinate de sodium à l'aide des plans d'expériences », Mémoire de Master, Université Kasdi Marbah Ouargla,.

[23] Goupy J. (2006), « Tutoriel Les Plans D'expériences », p. 74-116.

[24] Sall, J. Creighton L., et Lehman A (2007)., « JMP Start Statistics: A Guide to Statistics and Data Analysis Using JMP ».

[25] Omar T. (2013), « Modélisation des betons ordinaires par des plans d'expériences », Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen.

[26] Formulation-analyse-qualité D., Cordella C., et Theoriques R. (2002), « Initiation aux Plans d'expériences Par l'utilisation de StatGraphics Table des Matières », p. 1-15.

CHAPITRE IV

MATERIELS ET PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

Ce chapitre est consacré d'abord au processus d'extraction du chitosane des carapaces de crevettes blanches. Nous décrivons le matériel ainsi que les différentes méthodes et techniques expérimentales et de caractérisation utilisés.

IV.1. Matériels

Les carapaces de crevettes blanches du nom scientifique :« *Parapenaeus Longirostris* », obtenu chez des poissonniers locaux du marché provenant des côtes est de l'Algérie ; sont utilisées pour la préparation du chitosane en poudre ; (Figure IV.1). Les produits chimiques sont de grade analytique et ont été utilisés tels qu'ils ont été reçus. Aucune purification quelque soit sa nature n'a été jugée utile dans le cadre de cette recherche. Le tableau IV.1 ci-dessous donne les principales propriétés des produits utilisés.



Figure IV.1. Crevettes blanches utilisées dans ce travail (*Parapenaeus Longirostris*)

Le chitosane (Cs) est préparé à partir de carapaces de crevettes *Parapenaeus Longirostris*, [1]. Le chitosane (Cs) avec un degré de désacétylation (DD) plus élevé est obtenu par traitement alcalin de la chitine. Le carraghénane (AG) et l'hydroxyéthylcellulose (HEC) sont achetés sur le marché. L'homogénéisation granulométrique des trois composants (Cs, AG et HEC) est réalisée à un diamètre de 0,05 mm.

Tableau IV.1. Caractéristiques des différents produits utilisés dans la partie expérimentale

Produit	formule chimique	Pureté (%)	Densité (kg l ⁻¹)	Masse molaire (g mol ⁻¹)	Producteur
Acidechlorhydrique	HCl	37	1,2	36,46	Aldrich
Eau oxygénée	H ₂ O ₂	30	1,11	34,01	Riedel de Haën
Hydroxyde de sodium	NaOH	98	/	39,997	Fluka

IV.2. Processus d'obtention du chitosane

IV.2.1. Extraction de la chitine

La plupart des techniques d'extraction développées pour obtenir la chitine, reposent sur des processus chimiques d'élimination des matières inorganiques et d'hydrolyse des protéines. Les procédés de décoloration de la chitine sont réalisés le plus souvent par des agents oxydants.

IV.2.1.1. Le prétraitement

Pour le prétraitement des crevettes on sépare la chair des croûtes. Ces dernières sont ensuite mises dans de l'eau bouillante (à $T=100^{\circ}\text{C}$) et ceci pendant dix minutes ($t = 10 \text{ min}$), on procède ainsi trois fois de suite (Figure IV.2).



Figure IV.2. Les carapaces des crevettes après lavage

Après le lavage, les carapaces sont mises à l'air libre et à l'ombre pour sécher pendant trois jours (Figure IV.3). Pour parfaire le séchage, on met la poudre dans une étuve à une température de 90°C une heure. Après séchage, vient l'opération du broyage pour l'obtention d'une poudre.

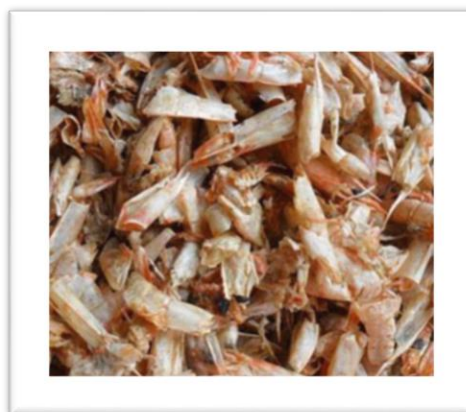


Figure IV.3. Les carapaces des crevettes après séchage

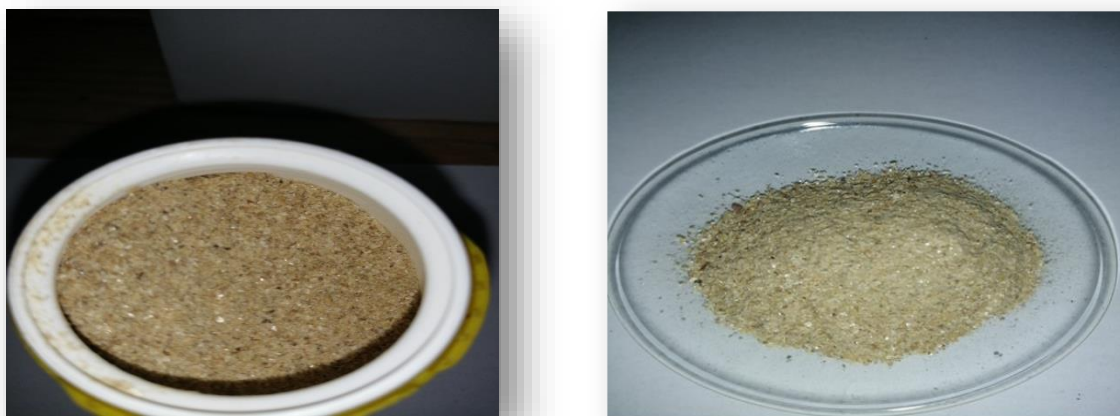


Figure IV.4. Les produits obtenus après broyage

IV.2.1.2. La déminéralisation

La déminéralisation est une étape de traitement qui consiste à éliminer la matière minérale liée à la chitine par hydrolyse acide sous agitation.

Le principal composant inorganique de la carapace des crustacés est le carbonate de calcium (CaCO_3), qui est généralement éliminé à l'aide de solutions diluées d'acide chlorhydrique (HCl) (jusqu'à 10%) à la température ambiante. On pèse la poudre des carapaces puis on les traite avec un acide HCl, le rapport solide/liquide est de $w/v = 1/10$ (poids de carapace sec en g/volume de solution HCl dilué en mL). Le mélange est réalisé à température ambiante (25°C) pendant 24 heures (Figure IV.5). Pendant le processus de déminéralisation et au cours de la réaction, des mousses indésirables se sont formées, elles sont dues à la production de dioxyde de carbone en dégageant des odeurs plus ou moins désagréables. En plus une diminution de la masse est observée à cause de la solubilisation des minéraux.

Après 24 heures, on passe au rinçage à l'eau distillée plusieurs fois jusqu'à obtention d'un pH neutre, puis on filtre le mélange. Le produit filtré sera séché dans l'étuve à 80°C . Après séchage complet, on pèse la poudre obtenue pour ensuite passer à la deuxième étape qui est la déprotéinisation.



Figure IV.5. Déminéralisation de la poudre

IV.2.1.3. La déprotéinisation

Après la déminéralisation, la poudre séchée obtenue est traitée avec une solution d'hydroxyde de sodium à (7%) et avec un rapport solide/liquide (w/v) de 1/10 g/mL et une température de 90 °C, ceci pendant 3 heures sous agitation. Le mélange est laissé reposer pendant 24 heures afin d'éliminer les protéines ainsi que d'autres matières organiques.



Figure IV.6. Déprotéinisation de la poudre

Après 24 heures de repos, le mélange est rincé avec de l'eau distillée plusieurs fois jusqu'à obtention d'un pH neutre puis le mélange est filtré. Le produit filtré sera séché dans l'étuve à température 80°C. Après séchage complet, on pèse la poudre obtenue pour passer à la troisième étape qui est la décoloration.

IV.2.1.4. La décoloration

Après la déprotéinisation, la poudre obtenue des crevettes séchées est traitée avec du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Figure IV.7), avec un rapport solide/liquide (w/v) de 1/10 g/mL à température 25 °C pendant 30min sous agitation, puis le mélange est rincé avec de l'eau distillée plusieurs fois jusqu'à obtention d'un pH neutre. Ensuite on filtre le mélange. Enfin, et après séchage on obtient la Chitine (Figure IV.8). La décoloration a pour objectif de supprimer les traces de pigments présents dans la chitine.



Figure IV.7. Décoloration de la poudre



Figure IV.8. Poudre de chitine

IV.2.2. Extraction de chitosane

Pour obtenir du chitosane, une étape supplémentaire de désacétylation est nécessaire. Cette étape consiste à éliminer une partie des groupements acétyle de la chitine et nécessite l'utilisation de l'hydroxyde de sodium concentré (50%) à une température de 90°C pendant 4 heures sous agitation, avec un rapport solide/liquide (w/v) de 1/15 g/mL. Après, le mélange est rincé avec de l'eau distillée plusieurs fois jusqu'à obtention d'un pH neutre puis filtré. Après séchage complet on obtient le chitosane (Figure IV.9).



Figure IV.9. Poudre blanche du chitosane

IV.2.3. Solubilité du chitosane

Le chitosane peut se solubiliser dans des solutions acides ($\text{pH} < 6,0$), mais il est insoluble dans l'eau, les solvants organiques et les bases aqueuses. En effet, le chitosane est une base forte et possède des groupes d'amines primaires avec un pKa égal à 6,3. À cause de la présence des groupes amines, la charge et les propriétés du chitosane varient avec le pH [2].

Lorsque le pH est faible les amines subissent une protonation et deviennent chargées positivement, le chitosane devient alors un polyélectrolyte cationique hydrosoluble. Il est d'ailleurs le seul polycation d'origine naturelle. D'un autre côté, lorsque le pH est élevé, le chitosane est insoluble. Cette transition entre l'état soluble et insoluble du chitosane a lieu pour des pH compris entre 6 et 6,5 autour de la valeur du pKa . Le pKa étant fortement dépendant du degré de déacétylation, la solubilité du chitosane est aussi dépendante du DD et de la méthode de déacétylation utilisée [3]. En effet, lorsque le DD est faible, le chitosane est peu soluble car les groupes amines sont peu nombreux. Il est alors préférable d'utiliser un chitosane au DD supérieur à 70 % pour avoir une solubilité minimale de celui-ci. La solubilité est aussi dépendante de la nature de l'acide utilisé, de la force ionique et de la distribution des groupes acétyle sur la chaîne macromoléculaire [4].

Lorsque le degré de protonation, qui est en fonction de la concentration initiale de l'acide utilisé, augmente, la solubilisation du chitosane progresse et celle-ci est complète pour un degré de protonation supérieur à 0,5 [5-6].

Le solvant le plus couramment utilisé pour la solubilité du chitosane est l'acide acétique en solution aqueuse. Les équations d'équilibre lorsque le chitosane est dispersé dans une solution d'acide acétique, sont les suivantes :



IV.4. Méthodes expérimentales

IV.4.1. Synthèse des gels

IV.4.1.1. Synthèse du gel de Chitosane

Afin de procéder à la préparation des gels à base de chitosane (Cs), plusieurs mélanges en solution ont été préparés. En se référant et en se basant sur les travaux antérieurs, le choix a été porté sur l'acide acétique (AA) qui est largement utilisé dans la préparation de gel à base chitosane (Cs).

En premier lieu, on dissout la poudre de chitosane(Cs) (avec des valeurs de w/v allant de 50% à 100%) dans une solution aqueuse (0,1M) d'acide acétique (AA). À raison de 1g par 100mL, en maintenant une agitation de 1400 tours/min, pendant 15 min, à température ambiante jusqu'à obtenir une solution homogène de gel de chitosane (Figure IV.10).

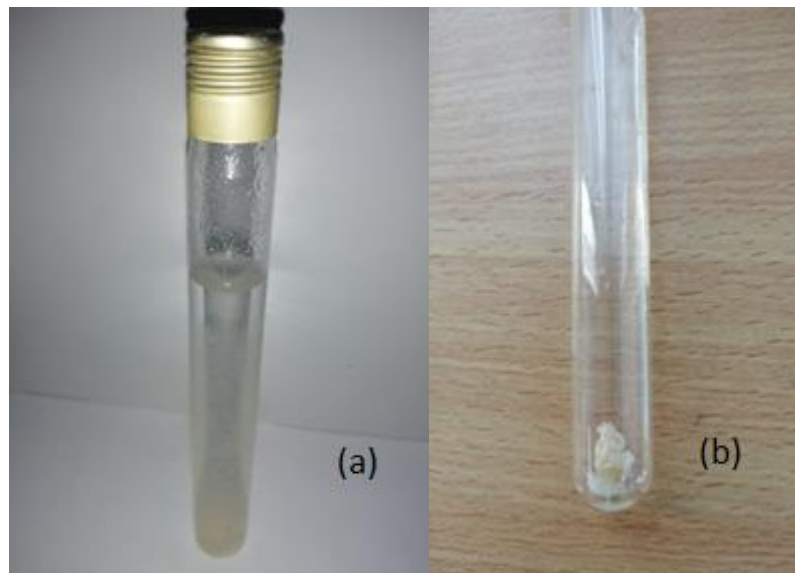


Figure IV.10. (a) : Sol-gel du chitosane, (b) : Gel du chitosane

IV.4.1.2. Synthèse de gels de Cs/HEC/AG

Après l'obtention du gel de chitosane, la poudre de HEC est ajoutée en variant le pourcentage massique (w/w entre 0%-50%) en maintenant l'agitation jusqu'à l'obtention d'une solution homogène. Puis on ajoute la poudre d'AG avec en variant le pourcentage massiques (w/w entre 0-50%) en continuant toujours l'agitation jusqu'à l'obtention d'un gel. La proportion du chitosane (Cs) dans le mélange est toujours supérieure aux deux autres composants avec un pourcentage supérieur à 50%. La figure IV.11 montre un exemple d'un gel formé par l'incorporation des trois constituants.



Figure IV.11. Gel du mélange Cs/HEC/AG(80%/10%/10%)

De cette façon, des mélanges ternaires Cs/HEC/AG ont été préparés et obtenus en faisant varier le taux de chaque polymère comme le montre le tableau IV.2.

Tableau IV.2. Compositions des gels Cs/HEC/AG produits

<i>Identification du mélange</i>	<i>Composition</i>		
	Cs%	HEC%	AG%
1	100	0	0
	0	100	0
	0	0	100
2	80	10	10
	70	20	10
	60	30	10
	50	40	10
3	80	15	5
	70	10	20
	60	10	30
	50	10	40
4	90	05	05
	70	15	15
	65	25	10
	55	20	25
5	85	10	05
	75	15	10
	65	20	15
	60	30	10

IV.4.2. Méthodes et caractérisations

IV.4.2.1. Méthode de conception des surfaces de réponse (RSM)

La méthode de conception des surfaces de réponse (RSM) est utilisée, par le logiciel "*Design experiment 8, version 8.0.6.1* logiciel Stat-Ease Corporation". La technique de conception des mélanges, qui est une forme spécialisée de Méthodes de Surface de Réponse (RSM), est parfaitement adéquate pour notre étude et ceci afin d'avoir des formulations optimales pour un gel à base de Cs [7]. Les facteurs qui influent sur les caractéristiques des ces gels sont : la viscosité; η , le module de stockage; G' (comportement d'élasticité), le pH et le rapport de mélange sol/gel (ce dernier est estimé visuellement).

IV.4.2.2. Caractérisation des mélanges

La caractérisation des gels a été effectuée en utilisant différentes méthodes, à savoir : l'analyse granulométrique, l'analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC), l'analyse thermogravimétrique (ATG), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) et ceci afin de discerner la miscibilité des différents polymères. On a aussi eu recours à l'étude rhéologique pour caractériser la structure des gels et leur morphologie.

A. Caractérisation du chitosane par l'analyse granulométrique

L'Analyse de la taille des particules est effectuée par un granulomètre LASER de type Mastersizer 2000 Malvern d'une gamme de $0,02\mu\text{m}$ à 2 mm (Tableau IV.3 et Figure IV.12). La distribution granulométrique est déduite de l'interaction entre un ensemble de particules et le faisceau laser incident par l'analyse de diffraction du faisceau.

Tableau IV.3. Modules et gammes de mesures associées

Mesure	Utilisation	Module	Gamme de mesure
Voie liquide	Particules en suspension	HYDRO 2000SM	20 nm–2 mm



Figure IV.12. Appareil d'analyse granulométrique: Mastersizer 2000 Malvern

B. Caractérisation des gels par spectroscopie IR-TF

L'analyse par spectroscopie IR-TF permet de détecter les nouvelles liaisons dans le mélange des gels. Les spectres ont été enregistrés avec deux spectromètres infrarouge à transformée de Fourier de type *Spectrum Spectromètre Perkin Elmer One* (pour des échantillons poudres de chaque composé Cs, HEC et AG et *Nicolet i S 10* (pour le mélange gel) ; (Figure IV.13). Les spectres ont été enregistrés pour des nombres d'onde compris entre 400 et 4000 cm^{-1} .

Les spectres infrarouges ont été obtenus à l'aide des pastilles de chitosane/KBr (Figure III.13(a)). Pour produire les pastilles, le chitosane, l'hydroxyle éthyle cellulose et le carraghenane sont préalablement tamisés pour ne récupérer que les éléments de taille inférieure à 180 μm . Puis ils sont broyés en présence de KBr afin de constituer un mélange homogène. Le mélange est ensuite comprimé sous une presse *Perkin-Elmer* avec une charge de 10 tonnes. Nous obtenons finalement des pastilles de 13 mm de diamètre. Le blanc est fait avec des pastilles de KBr seul. Par contre pour le mélange gel à base de Cs, on utilise le deuxième appareil (*Spectromètre Nicolet i S 10*), où l'échantillon est directement mis dans l'appareil.



Figure IV.13. a) Spectromètre *Perkin Elmer Spectrum One* b) Spectromètre *Nicolet i S 10*

C. Analyse thermique différentielle (DSC)

La température de transition vitreuse (T_g), de cristallisation (T_c) et de fusion (T_m) sont caractérisées par la technique de calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Les tests ont été réalisés à l'aide d'un appareil type METTLER DSC type 3+ Stare System de Mettler Toledo (Espagne) (Figure IV.14.). La transition vitreuse (T_g) est un des paramètres les plus importants à caractériser car il donne une idée sur la miscibilité ou l'immiscibilité des systèmes polymères. Donc, pour mesurer la T_g de chaque gel, des échantillons d'environ 5- 10 mg ont été analysés dans de petites coupelles d'aluminium par chauffage de 50°C à 200°C à une vitesse de chauffage de 10°C/min et sous une atmosphère d'azote.



Figure IV.14. Appareil METTLER TOLEDO TGA/DSC 3+.

Le principe de mesure consiste à comparer les flux de chaleur correspondant au matériau à analyser et au matériau de référence, les deux étant chauffés ou refroidis à la même vitesse [8 et 9].

D. Analyse Thermogravimétrique (ATG)

L'analyse thermogravimétrique(ATG) est une méthode d'analyse quantitative qui consiste à mesurer la variation de masse d'un échantillon soumis à un traitement thermique, en fonction de la température et/ou du temps [10]. Les courbes ATG peuvent fournir de nombreuses informations relatives aux réactions chimiques : thermodynamique/cinétique, mécanismes, produits intermédiaires et finaux, etc. Elles fournissent aussi des informations sur la stabilité thermique des matériaux [11,12].

L'appareil utilisé est un analyseur thermogravimétrique, composé essentiellement d'un four dans lequel l'échantillon est placé dans une microbalance permettant la mesure des gains ou des pertes de masse. Dans le présent travail, l'instrument utilisé est de type *Mettler Toledo TGA/DSC3+*. Les mesures sont faites sous atmosphère d'azote avec une rampe de 10°C/min et de températures entre (30-500°C).

E. Mesures rhéologiques

Les tests rhéologiques ont été réalisés avec un Rhéomètre Dynamic Bohlin *CVO-100-901* de *Malvern Company (UK)*, (Figure IV.15). Il est équipé d'un cône CP4/40 de 40mm de diamètre (avec un angle de cône de 4°), (FigureIV.16). Les tests des échantillons de Cs/HEC/AG, obtenus en fonction de leur pourcentage massique, ont été effectués à différentes températures et fréquences et ceci dans un régime linéaire viscoélastique.

Dans un premier temps, des solutions mères de chitosane, d'hydroxyéthyle cellulose et de carragenate sont préparées en les dissolvant dans de l'acide acétique 0,1M. La dissolution et une bonne homogénéisation sont assurées par une agitation à l'aide d'une palette pendant 30 minutes. Les solutions mères sont ensuite dissoutes pour obtenir des gels de concentration massique variant entre 0 et 100 %. Le pH des solutions sont de l'ordre de 4. La température est maintenue pour des valeurs de mesure entre 25°C et 50°C grâce à une circulation d'eau thermostatée. Les mesures ont été réalisées sur une large gamme de vitesses de cisaillement variant de 0,01 à 3000 s⁻¹.



Figure IV.15. Rhéomètre Dynamic Bohlin CVO-100-901 de Malvern

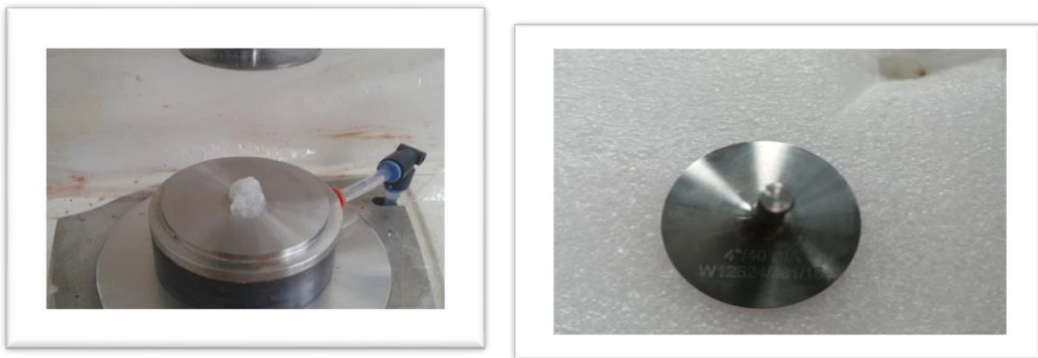


Figure IV.16. Géométrie cône-plan du rhéomètre

IV.5. Conclusion

Le matériel et les techniques expérimentales utilisés dans ce travail ont été présentés. Nous avons en particulier décrit le protocole d'extraction étape par étape. Le principe et les paramètres d'études de chaque technique d'analyse ont été également présentés.

IV.6. Références du chapitre IV

- [1] Ben Seghir B, Benhamza M. H. (2017), Preparation, optimization and characterization of chitosan polymer from shrimp shells. *Food Measure* 11:1137–1147.
- [2] Cho, Y.-W., Jang, J., Park, C. R., & Ko, S.-W. (2000). Preparation and Solubility in Acid and Water of Partially Deacetylated Chitins. *Biomacromolecules*, 1(4), 609-614.
- [3] Yi, H., Wu, L.-Q., Bentley, W. E., Ghodssi, R., Rubloff, G. W., Culver, J. N., et al. (2005). Biofabrication with Chitosan. *Biomacromolecules*, 6(6), 2881-2894.
- [4] Crini, G., Guibal, É., Morcellet, M., Torri, G., & Badot, P.-M. (2009). Chitine et Chitosane : Préparation, propriétés et principales applications. In P.u.d. Franche-Comté (Ed.), *Chitine et Chitosane Dubiopolymère à l'application* (pp. 19-54).
- [5] Rinaudo, M., Pavlov, G., & Desbrières, J. (1999a). Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer*, 40(25), 7029-7032.
- [6] Rinaudo, M., Pavlov, G., & Desbrières, J. (1999b). Solubilization of Chitosan in Strong Acid Medium. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 5(3), 267 - 276.
- [7] Khuri I., Mukhopadhyay S. (2010), « Response surface methodology », Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics, Vol. 2, N° 2, p. 128-149.
- [8] Salamon A.W., Fielder K.J. (2003), Practical Uses of Differential Scanning Calorimetry for Plastics, In: Handbook of plastic analysis, H.Lobo, J.V Bonilla Ed., Marcel Dekker, New York.
- [9] Biliaderis, C.G. (1983). Differential scanning calorimetry in food research - a review. *Food Chemistry*, 10(4), 239-265.
- [10] Lynch J. (2001), Caractérisation physico-chimique des catalyseurs industriels, TECHNIP. Paris.
- [11] Sandler S.R., Karo W., Bonesteel J., Pearce E.M. (1998), Polymer Synthesis and Characterization: A laboratory Manual, Academic Press, London.
- [12] Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174.

CHAPITRE V

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans ce chapitre on présente en premier lieu, le processus d'optimisation pour un meilleur gel, et ceci par l'utilisation d'un modèle de méthodologie de surface. Ensuite, nous exposerons les résultats obtenus des différentes caractérisations, à savoir : la granulométrie, l'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-FT), les techniques thermiques et les mesures rhéologiques.

Une discussion des résultats obtenus dans ce travail a été abordée en fin de ce chapitre.

V.1. Introduction

La recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques sont aujourd'hui souvent associées à une étude par modélisation. La modélisation est une technique permettant, non seulement de représenter les propriétés et les réactions chimiques mais aussi de manipuler les modèles des structures. Un meilleur gel est obtenu par la conception expérimentale en utilisant un modèle de la méthodologie de surface de réponse (RSM). Une mesure granulométrique du chitosane poudre a été ensuite effectuée. Puis le gel optimisé est caractérisé par spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IR-FT), par Analyse Gravimétrique Thermique (TGA) et par Calorimétrie Différentielle à balayage (DSC). Les propriétés viscoélastiques du gel optimisé sont également investiguées par des mesures rhéologiques.

V.2. Modélisation

L'analyse statistique ANOVA significative (Annexe A₁) a aboutit à un rapport optimal, avec une valeur de désirabilité de 0,968 (Figure V.1). Ainsi, les gels dérivés dans ces conditions optimisées (avec le paramètre viscoélastique significativement élevé), a pour une composition de rapport pondéral égal à 51/42/07 de Cs/AG/HEC, respectivement. Dans ces conditions, un échantillon de gel à base de chitosane (Cs) est préparé et caractérisé.

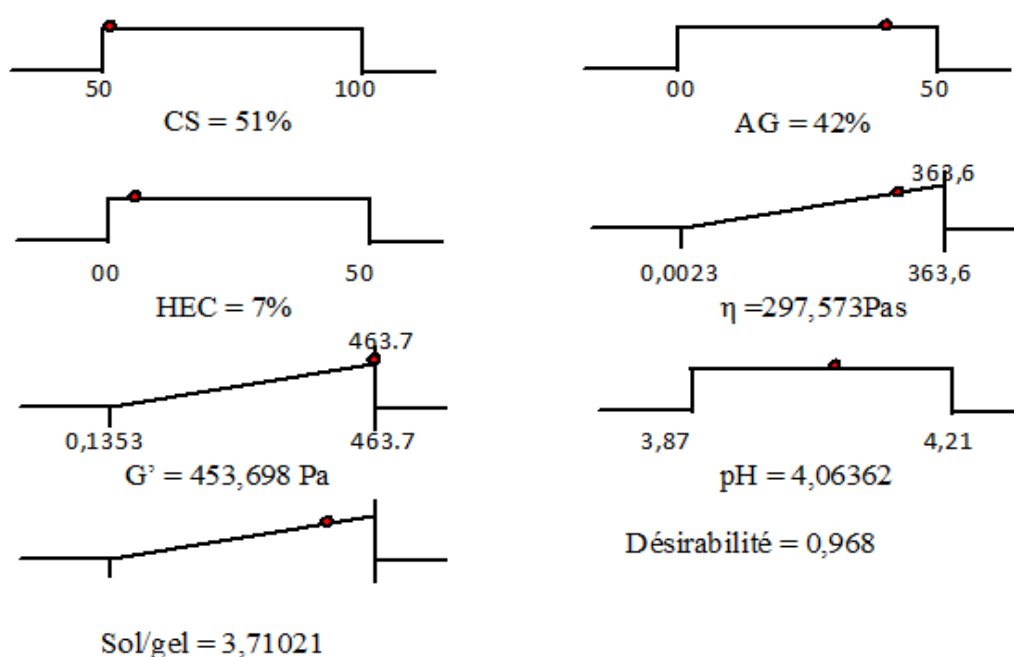


Figure V. 1. Rampe de désirabilité pour l'optimisation (pour la solution sélectionnée)

V.3. Caractérisation

V.3.1. Résultats de l'analyse granulométrique

Les résultats sous forme de nombreux paramètres calculés et un rapport d'analyse par défaut sont donnés (voir chapitre III.2.2).

L'ensemble de la distribution granulométrique, exprimée en volume (%) en fonction des classes de taille (D_v = diamètre d'une sphère équivalent à la particule) sur une échelle de 0,02 μm à 2000 μm . Le $D_v(10)$, $D_v(50)$ et $D_v(90)$ qui correspondent respectivement aux diamètres en dessous desquels se situe 10 , 50 et 90% du volume des particules.

Les résultats obtenus (Figure V.2), montrent que le chitosane a une distribution granulométrique monomodale avec une génération de diamètre entre 100 μm et 1000 μm . Où le diamètre en dessous duquel se situe 50% du volume est égale $D_v(50)=405,55\mu\text{m}$. Alors que la taille des particules en dessous de laquelle se trouve 10% de l'échantillon est d'un diamètre égale $D_v(10)=128,6\mu\text{m}$ et celle en dessous de laquelle se trouve 90% de l'échantillon est égale à $D_v(90)=668,14\mu\text{m}$.

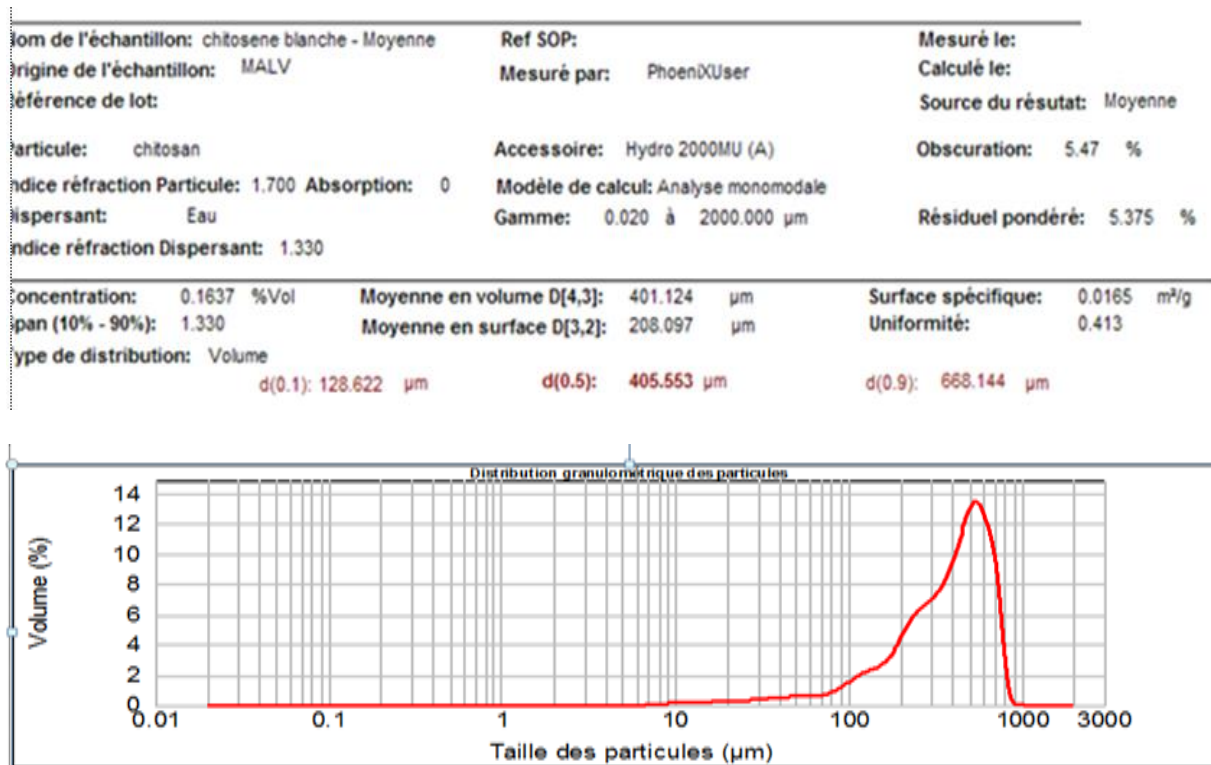


Figure V.2. Analyse granulométrique du chitosane pur extrait des carapaces des crevettes

On note aussi que le diamètre moyen en volume $D[4,3]=401,124 \mu\text{m}$, le diamètre en surface $D[3,2]=208,09 \mu\text{m}$ et la surface spécifique égale à $0,0165 \text{m}^2/\text{g}$.

Le span, défini comme $[Dv(90) - Dv(10)] / Dv(50)$ et qui donne une indication sur la largeur de la distribution granulométrique, est égale 1,330.

L'uniformité qui est une déviation par rapport à la médiane et qui donne également une indication sur la largeur de la distribution granulométrique, a une valeur de 0,413 [1].

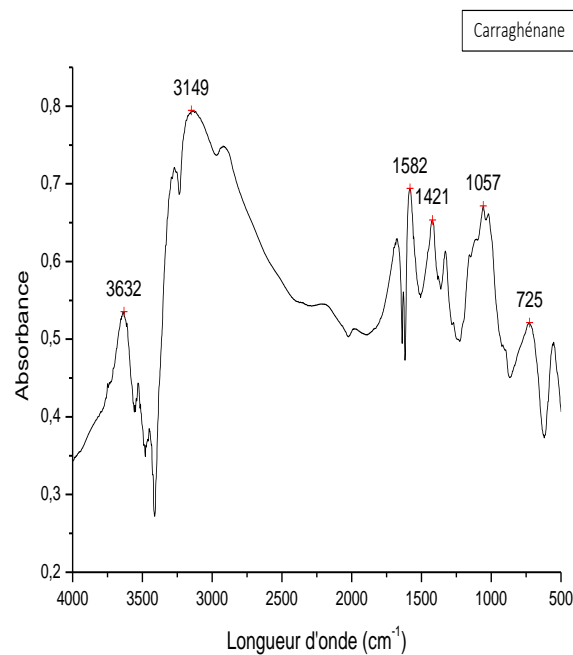
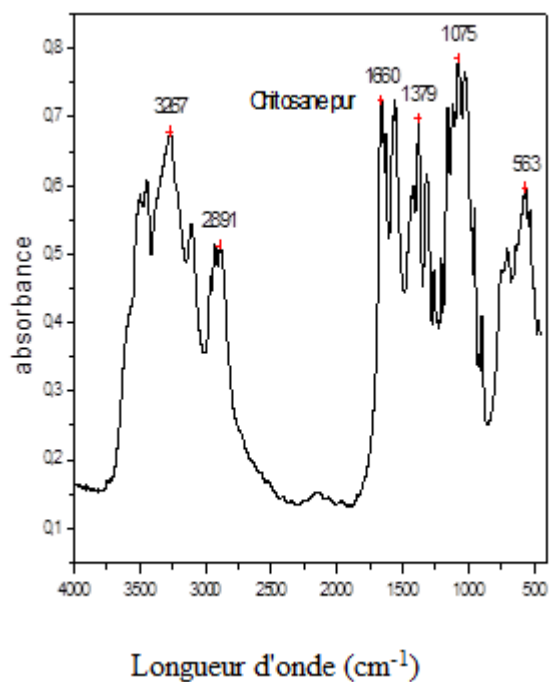
D'après ces résultats, on constate une homogénéité des particules du chitosan utilisé dans la préparation du gel.

V.3.2. Résultats de l'analyse IR-FT

Les trois composants (Cs, AG et HEC) ainsi que le gel ternaire combiné Cs/AG/HEC et préparé dans des conditions optimales, sont caractérisés par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (Perkin Elmer IR-FT 1600, USA), de fréquence spectrale allant de 400 à 4000 cm^{-1} . La spectroscopie IR-FT a été utilisée pour identifier la structure chimique et d'éventuelle interaction entre les composants. Les spectres IR-FT obtenus pour les trois composants (Cs, AG et HEC) ainsi que pour le gel du mélange, sont représentés dans la figure V.3.

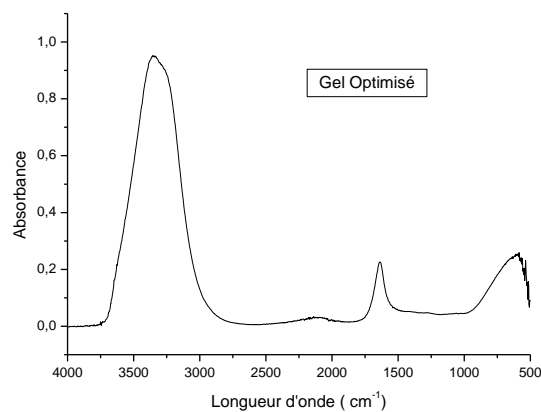
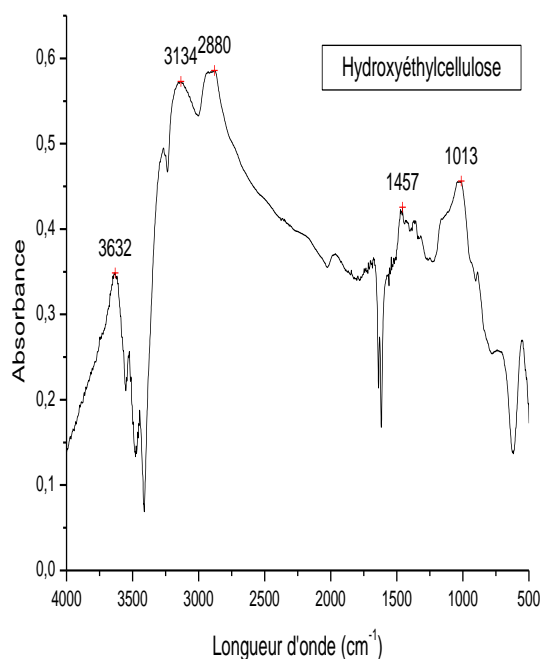
L'examen du spectre IR-FT du gel composé de Cs, AG et HEC montre une bande large entre 3100–3600 cm^{-1} avec un pic centré à 3450 cm^{-1} avec une intensité d'absorbance plus fortes [2-6]. Ce pic correspond aux vibrations d'étirement –OH de l'eau et des hydroxyles ainsi qu'aux vibrations d'étirement –NH des groupes amino libres. La bande qui apparaît à 1652 cm^{-1} est un amide résultant d'interactions d'hydrogène et d'hydroxyle, ceci est dû à l'élimination du groupe acétyle [7,8]. On constate de plus, une disparition des bandes à 1411 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} et 1033 cm^{-1} dans le spectre du gel ; qui sont manifestement observées dans le chitosane pur, la cellulose pure ainsi que dans le carraghénane pur respectivement aux longueurs d'onde 1210-1260 cm^{-1} correspondants à la liaison S=O des esters de sulfate.

Le spectre IR-FT de gel du mélange de système ternaire CS/AG/HEC a également montré une bande d'absorption à 1625 cm^{-1} (bien qu'avec des valeurs d'absorbance plus faibles), correspondant au groupe $-\text{NH}_3^+$ [9,10]. En conséquence, la spectroscopie IR-FT de gel du mélange comparée à celle de chaque composant (c'est-à-dire Cs, AG et HEC) et de leurs structures chimiques, montre qu'il existe une interaction entre les trois composants.



a) Spectre IR du chitosane (Cs) préparé

b) Spectre IR de Carraghénane (AG)



c) Spectre IR d'Hydroxyéthylcellulose(HEC)

d) Spectre IR de gel (Cs/HEC/AG)

Figure V.3. Les spectres IR d'absorbance en fonction de la longueur d'onde
(a) :Cs, (b) :AG, (c) : HEC et (d) : gel

V.3.3. Résultats des analyses thermiques

Une analyse thermo-gravimétrique a été réalisée pour évaluer les propriétés thermiques de la formulation du gel du mélange à base de chitosane. Les figures (V.4 et V.5) montrent la dégradation thermique du gel, dans une atmosphère d'azote. La figure V.5 représente la perte de poids relative (courbes TG) ainsi que la première dérivée de perte de poids (courbes DTG), en fonction de la température. Comme le montre la figure V.4, la TGA de gel du mélange dévoile une perte de poids en deux étapes. La première, allant de 0°C jusqu'à 60 °C présente une perte de poids d'environ 4%. Ceci est attribué à la vaporisation des composants volatils (eau absorbée et liée). La deuxième étape de la perte de poids commence à environ 70 °C et se poursuit jusqu'à 200 °C, au cours de cette étape une dégradation thermique plus rapide et une perte de poids importante (plus de 95%) sont révélés. Ceci est attribué à la décomposition du gel. En raison des composants de gel, il n'y a presque plus de résidus à 200 °C ; et la perte du poids totale de l'échantillon à environ 500 °C est de 95,8%.

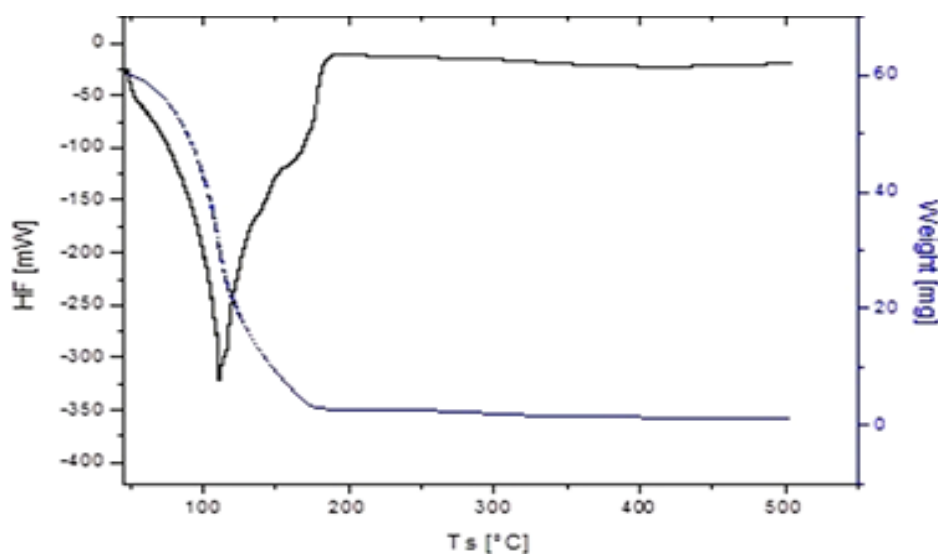


Figure V.4. Courbes d'analyse TGA et DSC du gel mélangé

Le résidu restant de 4,20% du gel est dû à la formation d'un complexe inorganique contenant C, N et O [11]. La stabilité thermique des matériaux est déterminée par une perte de masse importante, ce qui indique que la dégradation thermique a commencé. Ainsi, le point de vitesse le plus élevé du changement de perte de poids, révélé sur le pic de la première courbe de dérivée, est observé à une température de 112,42 °C (Figure V.5). Ceci est responsable de la libération d'eau liée aux trois groupes fonctionnels des polymères, qui n'a pas été complètement éliminée dans la première étape de déshydratation ainsi que de la dégradation des groupes

carboxyliques. Ces étapes peuvent être attribuées respectivement à la dégradation du chitosane et à la décomposition de différentes structures dans le copolymère greffé [12].

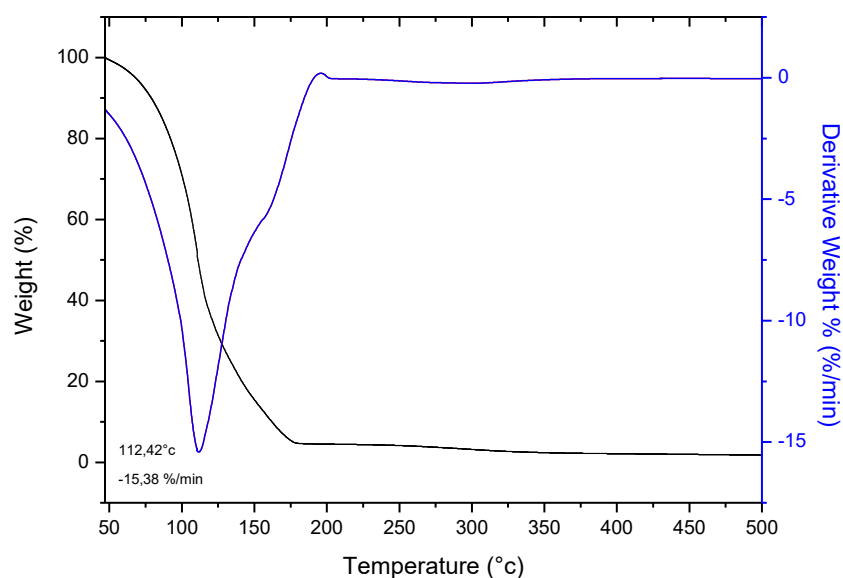


Figure V.5. Courbes de décomposition thermique du gel mélangé ternaire (courbes DTG)

La courbe DSC du mélange de gel présente un large pic endothermique centré à environ 110,55°C et correspondant à 315 mW de chauffage. Ce pic endothermique, souvent appelé température de déshydratation, est attribué à l'évaporation de l'eau associée aux groupements hydrophiles des polymères [13,14]. La position du pic situé à une température plus élevée indique une interaction plus forte avec l'eau. Ainsi, ces résultats suggèrent que l'interaction entre le chitosane, le carraghénane et l'hydroxyéthylcellulose se produit pour former un gel avec plus de stabilité.

V.3.4. Résultats des mesures rhéologiques et propriétés viscoélastiques

V.3.4.1. Déformation critique et balayage de déformation

Habituellement, les propriétés rhéologiques d'un matériau viscoélastique sont indépendantes de la déformation jusqu'à un niveau de déformation critique (*Linear Viscoelastic Region*, LVER). Au-delà de ce niveau de déformation critique, le comportement du matériau est non linéaire et le module de stockage G' diminue. Ainsi, mesurer la dépendance à l'amplitude de la déformation des modules de stockage et de perte (G' et G'') est une bonne première étape pour caractériser le comportement viscoélastique : un balayage de déformation établira l'étendue de la linéarité du matériau.

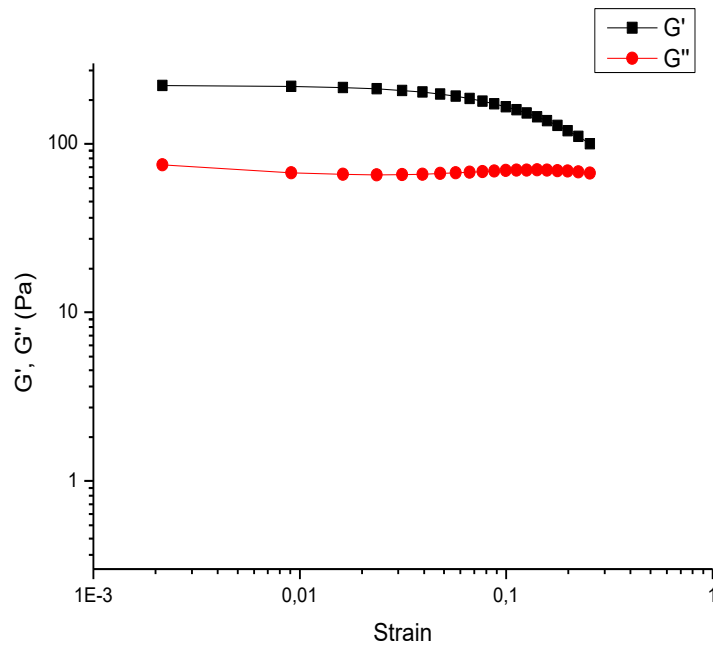


Figure V.6. Déformation critique et balayage de déformation (région LVER)

Ainsi, un test de balayage de déformation à une fréquence de 1 Hz est effectué pour déterminer la région viscoélastique linéaire LVER, à partir de laquelle une déformation appropriée est sélectionnée. L'évaluation des effets de la déformation de cisaillement sur les valeurs G' et G'' mesurées montre que, au dessous de 0,02 de déformation, leurs valeurs sont indépendantes de la déformation appliquée, c'est-à-dire au dessous de cette valeur on a un comportement viscoélastique linéaire (Figure V.6).

Les valeurs de contrainte utilisées dans nos expériences sont donc choisies pour être dans la gamme viscoélastique linéaire (LVE), où G' et G'' sont indépendants de l'amplitude de la déformation. De ce fait, les balayages de fréquence sont sélectionnés pour garantir que le test est réellement effectué dans la plage LVE (Figure V. 6). Et en conséquence, les fréquences de tests sont choisies entre 0,1 Hz et 16 Hz.

V.3.4.2. Structure et balayage de fréquence

Une fois que la région viscoélastique linéaire est définie par des balayages de déformation, la structure du gel peut être davantage caractérisée en utilisant un balayage de fréquence à une déformation inférieure à la déformation critique (elle correspond à une contrainte de cisaillement égale à 1 Pa dans le présent cas d'étude). En conséquence, les mesures sont effectuées à partir d'un balayage à fréquence de déformation constante dans une gamme de 0,1 à 16 Hz et à une température égale à 25 °C. Les résultats mesurés G' et G'' sont pratiquement indépendants des

valeurs de fréquence de plage inférieures ainsi le matériau prend un comportement élastique ($G' > G''$); ceci représente la structure d'un matériau capable de stocker de l'énergie, figure V.7. Ces résultats montrent que le gel a un comportement de type solide. La courbe de la figure V.7 montre également qu'avec une fréquence croissante, les deux valeurs de G' et G'' augmentent progressivement. Le module de stockage G' étant supérieur au module de perte G'' , c'est-à-dire $G' > G''$ dans toute la gamme de fréquences de la région viscoélastique linéaire (LVER). Donc, le comportement élastique de l'échantillon prédomine sur son comportement visqueux et le gel montre une rigidité mécanique. Finalement, le gel affiche une faible dépendance aux fréquences.

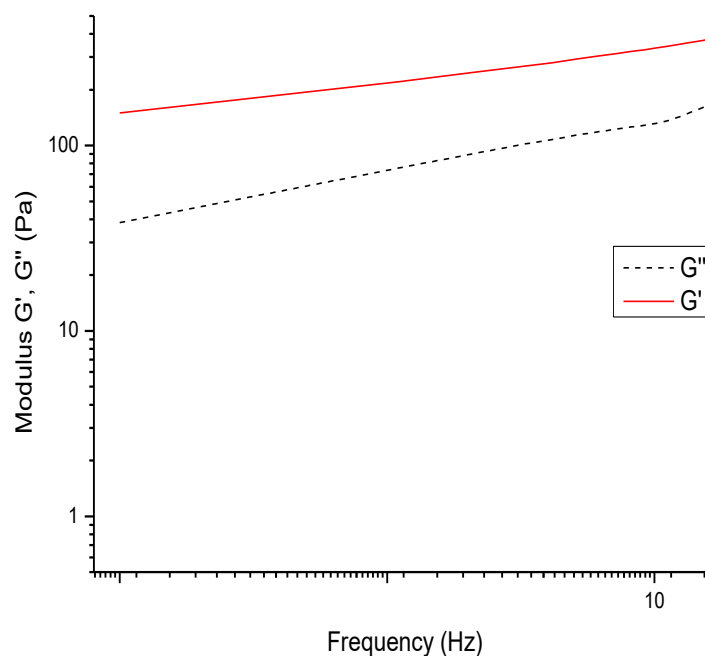


Figure V.7. Balayage de fréquence du gel de mélange en dessous de la contrainte critique (À une contrainte de cisaillement de 1Pa et $T= 25^{\circ} C$)

De plus, le module de stockage est d'environ un ordre de grandeur supérieur au module de perte avec une très faible dépendance aux fréquences ; ceci est dépendant de la formation d'une structure de gel solide. Le module de perte est également presque indépendant de la fréquence exclusivement à des valeurs inférieures.

V.3.4.3. Effets de la température sur la contrainte de cisaillement du gel

La figure V.8 montre l'effet de la température sur la contrainte de cisaillement de gel du mélange ternaire en fonction du taux de cisaillement. L'influence de la vitesse de cisaillement et de la température sur les courbes rhéologiques montre que la contrainte de cisaillement augmente avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement, en particulier pour des températures plus élevées (40 °C et 50 °C) ; cependant elle est presque constante à une température de 30 °C et diminue légèrement à 25 °C.

En outre, on observe à partir des courbes, que le gel se comporte comme un fluide viscoplastique ; et une dépendance notable entre la contrainte de cisaillement / taux de cisaillement n'est observée qu'à des valeurs de taux de cisaillement plus élevées.

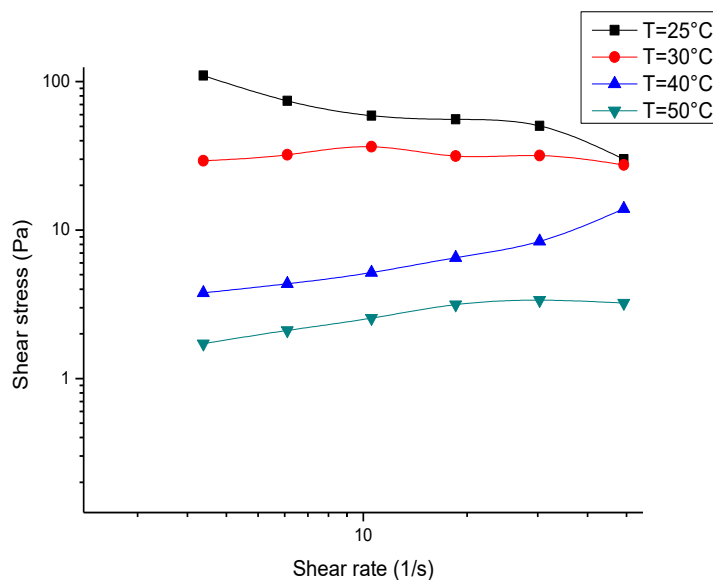


Figure V.8. Influence de la température du gel sur les contraintes de cisaillement (*shear stress*) et de la vitesse de cisaillement (*shear rate*)

V.3.4.4. Effets des températures sur la viscosité du gel

L'étude de la viscosité en fonction du taux de cisaillement du gel à une gamme de températures (de 25 °C à 50 °C) est réalisée et présentée dans la Figure V.9. Les courbes d'écoulement montrent que les taux de cisaillement / variations de température ont un effet sur la viscosité du gel. Ainsi, des viscosités plus élevées sont aperçues pour des températures plus basses et un comportement non-Newtonien est observé pour toutes les températures.

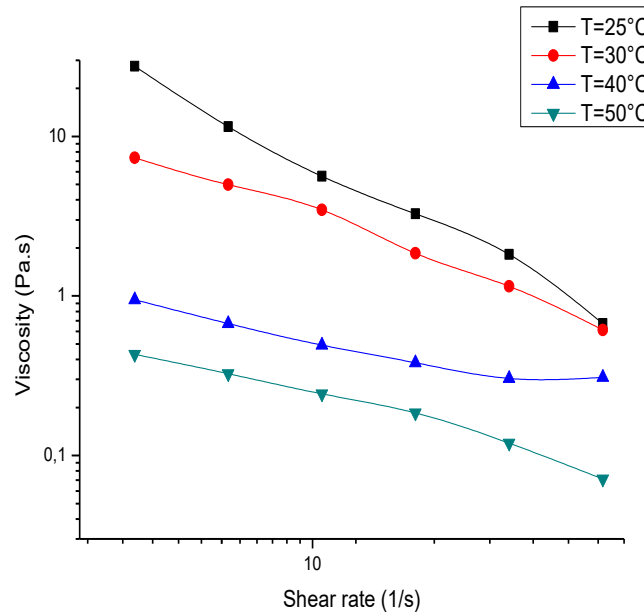


Figure V.9. Influence de la température du gel sur la viscosité en fonction du taux de cisaillement (*shear rate*)

Entre autre, la température a plus d'effet à des valeurs de taux de cisaillement inférieures. C'est-à-dire que l'augmentation de la viscosité associée à la température est moins importante à une vitesse de cisaillement élevée. Il apparaît également dans ces courbes, que ce type de fluide présente des augmentations du taux de cisaillement avec une viscosité décroissante, suggérant un comportement pseudo-plastique non-Newtonien. Des pentes négatives sont également affichées, indiquant une destruction de la structure interne en surmontant les forces internes. De ce fait, le gel a un comportement de fluidification par cisaillement [15,16]. Cependant, l'absence d'un deuxième plateau Newtonien indique l'absence d'une perte complète des forces internes, on peut donc supposer que le gel conserve toujours sa structure interne dans le régime de taux de cisaillement appliqué.

V.3.4.5. Effets de balayage de déformation

Dans le balayage de déformation présenté dans la figure V.10, une réponse linéaire pour une déformation inférieure à $< 0,1$ est observée. Où, on constate que le module G' et le module visqueux G'' sont indépendants de la déformation, et que les valeurs de G' sont toujours supérieures à G'' (comportement fluide) [17,18].

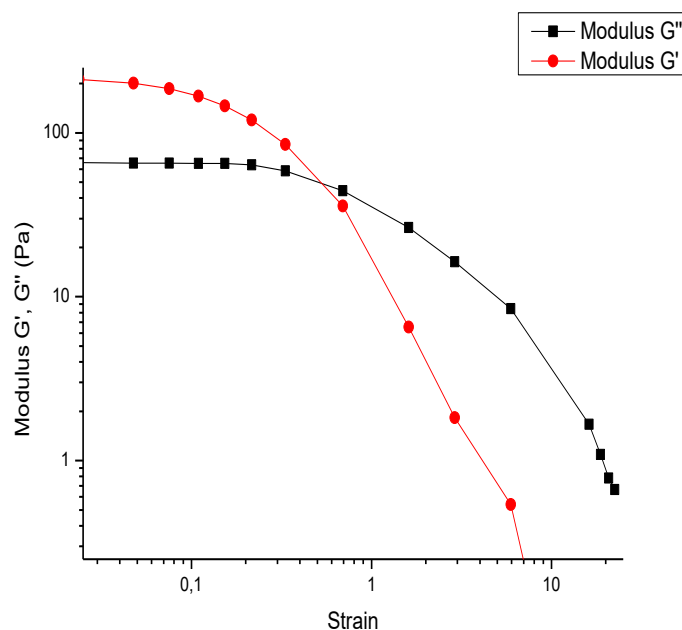


Figure V.10. Balayage de déformation
Modules de stockage (G') et de perte (G'') en fonction de la déformation

Une augmentation supplémentaire de l'amplitude de la déformation entraîne une diminution à la fois de G' et de G'' jusqu'à $\sim 0,26$; au-dessus de laquelle (c'est-à-dire au-dessus d'une déformation élastique) les deux modules chutent précipitamment (indiquant une caractéristique d'amincissement). À une déformation d'environ 0,69; $G' < G''$ et un comportement visqueux du gel est indiqués. Ainsi à des contraintes plus importantes, le gel n'est plus récupérable indiquant une rupture irréversible des liaisons entre les grappes [19-23]. À une plage d'amplitude de déformation suffisamment grande ≥ 1 , cependant, un comportement visqueux est révélé car le module de stockage diminue fortement, Figure V.10.

V.4. Conclusion

Dans ce chapitre, afin d'assurer la reproductibilité de nos résultats expérimentaux, nous avons mis au point un protocole approprié de préparation des échantillons et de mesure ainsi que les différentes techniques afin d'éviter les problèmes qui peuvent dégrader nos échantillons et par la suite nos interprétations.

Les résultats obtenus sont énumérés ci-dessous :

- L'analyse granulométrique du chitosane poudre montre une distribution granulométrique monomodale avec une génération de diamètre entre 100 μm et 1000 μm . L'uniformité de la distribution à une valeur de 0,413 et un span égale à 1,330. Le diamètre moyen en volume et en surface sont égales à 401,124 μm et

208,09 μm , respectivement ; et la surface spécifique de 0,0165 m^2/g . D'après ces résultats, on constate une homogénéité des particules du chitosane utilisé dans la préparation du gel.

- Les analyses du spectre IR-FT du gel montrent des vibrations d'étirement –OH de l'eau et des hydroxyles ainsi que des vibrations d'étirement –NH des groupes amino libres. L'élimination du groupe acétyle du chitosane fait apparaître une bande d'amide résultant d'interactions d'hydrogène et d'hydroxyle. On constate aussi, une disparition de plusieurs bandes qui sont manifestement observées dans le chitosane pur, la cellulose pure ainsi que dans le carraghénane. Le spectre du gel également montre l'apparition d'une bande d'absorption correspondante au groupe $-\text{NH}_3^+$. Les résultats du spectre IR-FT de gel du mélange comparés à ceux de chaque composant (c'est-à-dire le chitosane, la carraghénane et l'hydroxyéthylcellulose), montrent à partir des structures chimiques qu'il existe une interaction entre les trois composants.
- Les résultats de l'analyse thermique suggèrent également que l'interaction entre le chitosane, la carraghénane et l'hydroxyéthylcellulose pourrait parfaitement se produire pour former un gel avec plus de stabilité. Et cela est confirmé par le point du taux de changement de perte de poids le plus élevé. Ce dernier est révélé au sommet de la première dérivée de la courbe du poids (derivative weight) ; observé à une température de 112,42 °C.
- Les résultats mesurés de G' et G'' montrent que le gel se comporte principalement comme élastique ($G' > G''$), ce qui signifie que la structure du gel est capable de stocker de l'énergie. Donc, le comportement élastique de l'échantillon prédomine sur son comportement visqueux et le gel montre une rigidité mécanique. L'effet de la température sur la contrainte de cisaillement gel montre que la contrainte de cisaillement augmente avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement, en particulier pour des températures plus élevées (40 °C et 50 °C). Cependant elle est presque constante à une température de 30 °C et diminue légèrement à 25 °C. En outre, on observe que le gel se comporte comme un fluide viscoplastique. L'étude de la viscosité en fonction de taux de cisaillement du gel à une gamme de températures (de 25 °C à 50 °C), montre que les viscosités sont plus élevées pour des températures plus basses. Le gel a un comportement non-Newtonien et un comportement de fluidification par cisaillement. Cependant, l'absence d'un

deuxième plateau Newtonien indique l'absence d'une perte complète des forces internes et que le gel conserve toujours sa structure interne dans le régime de taux de cisaillement appliqué. Dans le balayage de déformation, on constate pour des faibles déformations que le module G' et le module visqueux G'' sont indépendants de ces dernières, et que les valeurs de G' sont toujours supérieures à G'' (comportement fluidique). Une augmentation supplémentaire de l'amplitude de la déformation entraîne une diminution à la fois de G' et de G'' jusqu'à $\sim 0,26$; au-dessus de laquelle (c'est-à-dire au-dessus d'une déformation élastique) les deux modules chutent précipitamment (indiquant une caractéristique d'amincissement). À des valeurs de déformation supérieures ; $G' < G''$ et un comportement visqueux du gel est indiqué.

V.5. Références du chapitre V

- [1] Vaezifar, S., Razavi, S., Golozar, M. A., Karbasi, S., Morshed, M., & Kamali, M. (2013). Effects of some parameters on particle size distribution of chitosan nanoparticles prepared by ionic gelation method. *Journal of Cluster Science*, 24(3), 891-903.
- [2] Balkhande, J., & Ratnakar, P. (2019). Extraction and IR-FT analysis of chitosan from freshwater crab *barytelphusa cunicularis* and freshwater prawn *macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Advanced Scientific Research*, 10(4 Suppl 2).
- [3] Al-Manhel, A. J., Al-Hilphy, A. R. S., & Niamah, A. K. (2018). Extraction of chitosan, characterization, and its use for water purification. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 186-190.
- [4] Joghataei, M., Hosseini, S. F., & Arab-Tehrany, E. (2019). Cinnamaldehyde loaded chitosan/tripolyphosphate nanoassemblies: Fabrication, characterization, and in vitro evaluation of antioxidant activity. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(7), e13972.
- [5] Kheiri, A., Jorf, S. M., Malhipour, A., Saremi, H., & Nikkhah, M. (2017). Synthesis and characterization of chitosan nanoparticles and their effect on *Fusarium* head blight and oxidative activity in wheat. *International journal of biological macromolecules*, 102, 526-538.
- [6] Ma, I. W., Ammar, S., Bashir, S., Selvaraj, M., Assiri, M. A., Ramesh, K., & Ramesh, S. (2020). Preparation of Hybrid Chitosan/Silica Composites Via Ionotropic Gelation and Its Electrochemical Impedance Studies. *Progress in Organic Coatings*, 145, 105679.
- [7] Naskar, S., Kuotsu, K., & Sharma, S. (2019). Chitosan-based nanoparticles as drug delivery systems: a review on two decades of research. *Journal of drug targeting*, 27(4), 379-393.
- [8] Vasconcellos, F. C., Goulart, G. A., & Beppu, M. M. (2011). Production and characterization of chitosan microparticles containing papain for controlled release applications. *Powder Technology*, 205(1-3), 65-70.
- [9] Machado Salomé et al (2002), Thermal and rheological behavior of Collagen and Chitosan blends. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Vol. 67, 491-498.
- [10] Vijayalakshmi, K., Devi, B., Sudha, P., Venkatesan, J. & Anil (2016), S. Synthesis, characterization and applications of nanochitosan/sodium alginate/microcrystalline cellulose film. *J. Nanomed. Nanotechnol.* 7, 2.
- [11] Lorevice, M. V., Otoni, C. G., de Moura, M. R. & Mattoso, L. H. C(2016). Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high-and low-methyl pectin films. *Food Hydrocolloids* 52, 732–740.
- [12] Essawy H.A., Ghazy M.B.M., Abd El-Hai F., Mohamed M.F. (2016), Superabsorbent hydrogels via graft polymerization of acrylic acid from chitosan-cellulose hybrid and their potential in controlled release of soil nutrients, *Int. J. Biol. Macromol.* 89 144–151.
- [13] Khuri I., Mukhopadhyay S. (2010), « Response surface methodology », *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, Vol. 2, No 2, p. 128-149.
- [14] Ramakrishna P. (2017), Preparation and in vitro evaluation of chitosan carrageenan cross-linked blend microspheres for controlled release of Nateglinide. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, Volume 6, Issue 9, 1704-1717.
- [15] Durand D. (2005), Les réseaux macromoléculaires et les gels, *Groupe Français des Polymères*, chap 5
- [16] Léonardi, F., Derail C., Marin G. (2005), Some applications of molecular rheology: Polymer formulation and molecular design. *J. Non-Newt. Fluid Mech.*, 128, 50-61.
- [17] Couarraze G. et Grossiord J.L., (1991). *Initiation à la rhéologie*, Tech & Doc Lavoisier, France. NA/969 à NA/971 2

- [18] Roudot A.C., (2002). Rhéologie et analyse de texture des aliments, Tech & Doc Lavoisier, France. NA/4303
- [19] Majesté J.C. (2016), Rheology and processing of polymer nanocomposites: Theory, practice, and new challenges, in: Rheology and Processing of Polymer Nanocomposites, Thomas S., Muller R. (Eds.) John Wiley, Hoboken, USA.
- [20] Kamal M.R., Khoshkava V. (2015), Effect of cellulose nanocrystals (CNC) on rheological and mechanical properties and crystallization behavior of PLA/CNC nanocomposites, Carbohydr. Polym., 123, 105–114.
- [21] Couarraze, G., Grossiord, J.L. (2000), *Initiation à la rhéologie*. 3ème édition. (Tec & Doc).
- [22] Grossiord, J.L., Coussot, P. (2002), *Comprendre la rhéologie*, EDP Sciences.
- [23] Choplin, L., Marchal, P. (2007), La rhéologie systémique ou une rhéologie au service d'un génie des procédés et des produits. *Rhéologie*, 12, 457-481.

CONCLUSION GENERALE

Les biomatériaux à base de polysaccharides constituent une classe émergente dans de nombreux domaines tels que: la biomédecine, le traitement des eaux usées, les membranes fonctionnelles et la floculation. La plupart des polysaccharides sont dérivés de sources naturelles; principalement le chitosane (Cs), le carraghénane (AG) et l'hydroxyéthylcellulose (HEC). Ce travail est consacré à l'étude des formes de gels à base de polysaccharides, vu leur grande polyvalence dans différents domaines d'utilisation.

Dans cette étude, des gels de mélange ternaire composé de chitosane, carraghénane et hydroxyéthylcellulose (Cs/AG/HEC) avec différents pourcentages (en considérant le chitosane comme composant principal) sont synthétisés, identifiés chimiquement et caractérisés. Un gel optimisé avec des propriétés viscoélastiques significativement élevées est obtenu par une conception expérimentale, en utilisant un modèle de méthodologie de surface de réponse (RSM). Le gel dérivé aux conditions optimisées a pour pourcentage massique égal à 51/42/07 de Cs/AG/HEC, respectivement.

La caractérisation du gel obtenu est réalisée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-FT) ainsi que par analyse gravimétrique thermique et calorimétrie différentielle à balayage (TGA / DSC). Les propriétés viscoélastiques du gel sont également étudiées par des mesures rhéologiques.

L'analyse granulométrique du chitosane poudre montre une distribution granulométrique monomodale avec une génération de diamètre entre 100 μm et 1000 μm . L'uniformité de la distribution (largeur de la distribution granulométrique) a une valeur de 0,413 et un span (largeur de la distribution granulométrique) égale à 1,330. Le diamètre moyen en volume et en surface sont égales à 401,124 μm et 208,09 μm , respectivement; et la surface spécifique de 0,0165 m^2/g . D'après ces résultats, on constate une homogénéité des particules du chitosane utilisé dans la préparation du gel.

Les analyses du spectre IR-FT du gel montrent des vibrations d'étirement $-\text{OH}$ de l'eau et des hydroxyles ainsi que des vibrations d'étirement $-\text{NH}$ des groupes amino libres. L'élimination du groupe acétyle du chitosane fait apparaître une bande d'amide résultant d'interactions d'hydrogène et d'hydroxyle. On constate aussi, une disparition de plusieurs bandes qui sont manifestement observées dans le chitosane pur, la cellulose pure ainsi que dans le carraghénane. Le spectre du gel également montre l'apparition d'une bande d'absorption correspondante au groupe $-\text{NH}_3^+$. Les résultats du spectre IR-FT de gel du mélange comparés à ceux de chaque composant (c'est-à-dire le Chitosane, la Carraghénane et

l'Hydroxyéthylcellulose), montrent à partir des structures chimiques qu'il existe une interaction entre les trois composants.

Les résultats de l'analyse thermique suggèrent également que l'interaction entre le Chitosane, la Carraghénane et l'Hydroxyéthylcellulose pourrait parfaitement se produire pour former un gel avec plus de stabilité. Et cela est confirmé par le point le plus élevé du taux de changement de perte de poids, révélé au sommet de la première dérivée de la courbe du poids (derivative weight) ; observé à une température de 112,42°C.

Les conclusions obtenues à partir des mesures rhéologiques suggèrent également l'existence d'une interaction entre les trois polymères. Les résultats montrent aussi que le gel du mélange à base de chitosane a un comportement pseudo-plastique non-Newtonien et que les variations de températures ont un effet sur sa viscosité. Par conséquent, des viscosités plus élevées sont trouvées pour des températures plus basses, en conservant toujours un comportement non-Newtonien à toutes les températures. Le gel a un comportement non-Newtonien et un comportement de fluidification par cisaillement. Cependant, l'absence d'un deuxième plateau Newtonien indique l'absence d'une perte complète des forces internes et que le gel conserve toujours sa structure interne dans le régime de taux de cisaillement appliqué.

Cette étude semble ouvrir des perspectives intéressantes. Elle nous a permis de bien maîtriser la préparation assez délicate des échantillons ainsi que les protocoles expérimentaux. Le gel obtenu dans le présent travail de recherche avec des caractéristiques intéressantes, peut trouver des applications dans plusieurs domaines.

Et comme perspectives à de futurs travaux, l'élaboration de nouveaux gels avec d'autres polymères à base de chitosane.

ANNEXES

Annexe A 1. Les plans de Méthode Surfaces de Réponse

A1.1. Les plans de Méthode Surfaces de Réponse (RSM)

Il existe plusieurs types de plans du second degré dont les principaux sont décrits cidessous.

A1.1.1. Les plans composites

Les plans composites se prêtent bien au déroulement séquentiel d'une étude. La première partie de l'étude est un plan factoriel complet ou fractionnaire complété par des points au centre pour vérifier la validité du modèle mathématique (termes du premier degré et termes d'interactions). Si les tests de validation sont positifs (la réponse mesurée au centre du domaine est statistiquement égale à la réponse calculée au même point), l'étude s'achève le plus souvent, mais s'ils sont négatifs, on entreprend des essais supplémentaires pour établir un modèle de second degré. Les essais supplémentaires sont représentés par des points d'expériences situés sur les axes de coordonnées et par de nouveaux points centraux. Les points situés sur les axes de coordonnées sont appelés les points en étoile. Les plans composites présentent donc trois parties (figure A1.1)[1]:

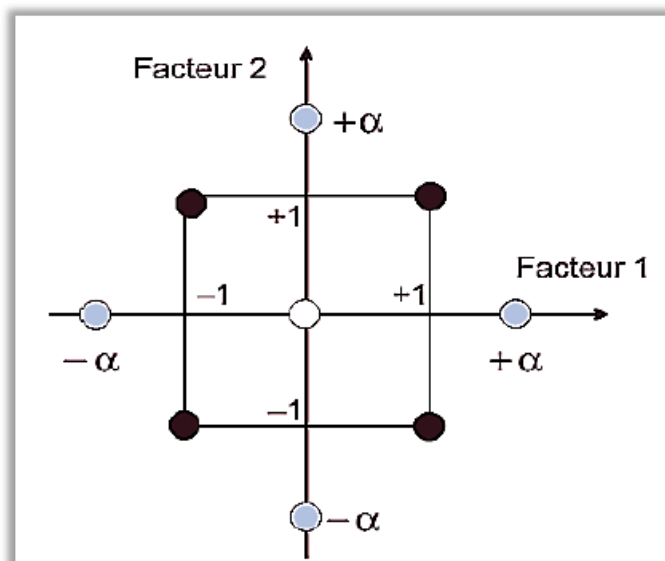


Figure A1.1. Plan composite pour deux facteurs[2].

- Le plan factoriel: est un plan factoriel complet ou fractionnaire à deux niveaux par facteurs. Les points expérimentaux sont aux sommets du domaine d'étude.
- Le plan en étoile: les points du plan en étoile sont sur les axes et ils sont, en général, tous situés à la même distance du centre du domaine d'étude.
- Les points au centre du domaine d'étude. On prévoit toujours des points expérimentaux situés au centre du domaine d'étude, et cela aussi bien pour les plans factoriels que pour les plans en étoile

Le nombre total n d'essais à réaliser est la somme des essais du plan factoriel (n_f), des essais du plan en étoile (n_a) et des essais au centre (n_0). Le nombre n des essais d'un plan composite est donné par la relation :

$$n = n_f + n_a + n_0 \tag{A1.1}$$

Le nombre de niveaux est 5 pour chacun des facteurs et seulement 3 lorsque l'on a un plan composite à faces centrées [3].

A1.1.2. Les plans de Box-Behnken

Les points expérimentaux sont au milieu des arêtes de chacun des côtés du cube (figure A1.2.). Ce plan comporte douze essais auxquels on peut ajouter un (ou plusieurs) point central. Dans la pratique on réalise souvent 3 ou 4 points au centre. Les plans de Box-Behnken répondent à un critère d'optimisation particulier : l'erreur de prévision des réponses est la même pour tous les points d'une sphère (ou une hyper sphère) centrée à l'origine du domaine expérimental. C'est le critère d'iso-variance par rotation. Le plus connu des plans de Box-Behnken est celui qui permet d'étudier trois facteurs [4].

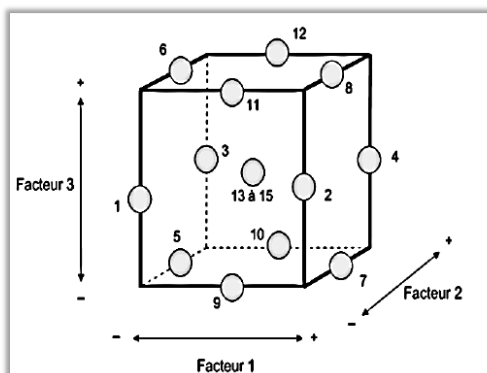


Figure A1.2. Plan de Box- Behnken pour trois facteurs [2].

A1.1.3. Les plans de Doehlert

La caractéristique principale des plans de Doehlert est d'avoir une répartition uniforme des points expérimentaux dans l'espace expérimental. La figure A1.3 ci-dessous donne la disposition de ces points pour un plan à deux facteurs (essais 1 à 7). Tous les points sont à la même distance du centre du domaine d'étude et sont situés sur le cercle trigonométrique. Ils forment un hexagone régulier [4, 5].

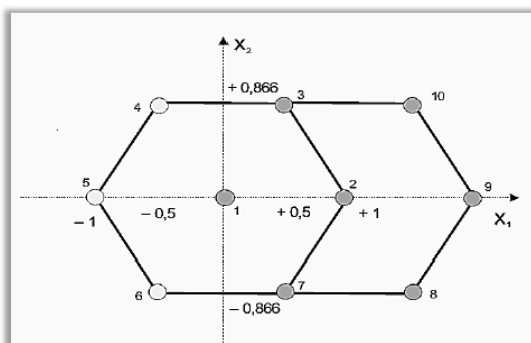


Figure A1.3. Extension d'un plan de Doehlert à deux facteurs [5].

Les points 1 à 7 illustrent un premier plan de Doehlert. Les trois points 8, 9 et 10 illustrent les expériences supplémentaires. Les points 2, 7, 8, 9, 10, 3 et 1 illustrent un deuxième plan de Doehlert. Si l'expérimentateur désire explorer le domaine expérimental, il peut facilement ajouter des points d'expériences supplémentaires et retrouver une disposition identique à celle de départ.

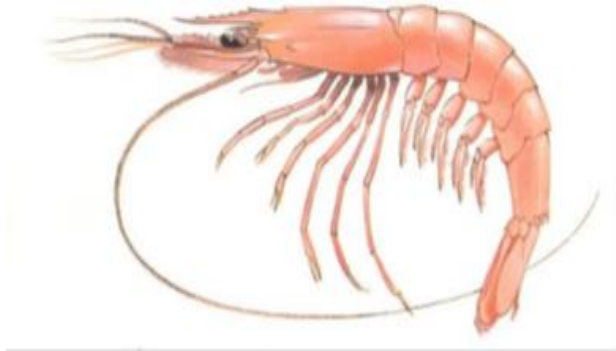
La figure A1.3 montre qu'avec trois points d'expériences supplémentaires, on peut obtenir un nouveau plan de Doehlert.

A1.2. Références d'annexe A1

- [1] Khuri A. I. et Mukhopadhyay S., (2010), « Response surface methodology », *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, vol. 2, n° 2, p. 128-149.
- [2] Goupy J., (2006) « Tutoriel Les Plans D'expériences », p. 74-116.
- [3] Gherairi L., (2011) « Etude de l'effet de la température sur la stabilité des émulsions à base de caséinate de sodium à l'aide des plans d'expériences », Mémoire de Master, *Université Kasdi Merbah Ouargla*.
- [4] Ziegel E. R., May N., et Jensen S., (2014) « Pharmaceutical Experimental Design », vol. 42, no 2, p. 41-42.
- [5] Jacques G., (2001) « Introduction aux Plans d'expériences », *Dunod. Paris*, p. 336.

Annexe A2 : Certains types de crevettes marines

Parapenaeus longirostris (Crevette rose)



Metapenaeus Monoceros (Crevette mouchetée)



Penaeus monodon (Crevette géante tigrée)



Melicertus kerathurus (crevette royale)



Penaeus vannamei (Crevette blanche)



Pandalus borealis (Crevette nordique)



Annexe A 3 : Les valeurs des fréquences de vibrations de certaines fonctions sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau A3 Les valeurs des fréquences de vibrations de certaines fonctions

Groupement	Liaison	Nombre d'onde	Vibration	Intensité
Alcools primaires	O-H	3640	élongation	intense et large
Alcools secondaires	O-H	3630	élongation	intense et large
Alcools tertiaires	O-H	3620	élongation	intense et large
Acides	O-H	3550-3500	élongation	intense et très large
Amines primaires	N-H	3500-3410	élongation asymétrique	faible
Amides primaires	N-H	3500-3400	élongation asymétrique	faible
Amines secondaires	N-H	3350-3310	élongation	faible
Amides secondaires	N-H	3400-3300	élongation	faible
≡C-H (alcynes)	C-H	3340-3300	élongation	moyenne et fine
Aromatiques	C-H	3080-3030	élongation	moyenne
=CH ₂ (alcènes)	C-H	3080- 2975	élongation asymétrique	moyenne
-CH ₃ (alcanes)	C-H	2960- 2870	élongation	asymétrique forte
-CH ₂	C-H	2925- 2850	élongation	asymétrique forte
-C-H	C-H	2890	élongation	faible
Aldéhydes	C-H	2830-2720; 2650	élongation asymétrique	Faible ; moyenne
Nitrile	-C≡ N	2260-2210	élongation	moyenne à forte
Aromatiques	C-H	2000-1660 plusieurs bandes	harmonique des déformations C-H	faible
Aldéhydes aliphatiques	C=O	1740-1720	élongation	forte
Aldéhydes aromatiques	C=O	1715-1695	élongation	forte
Cétones linéaires	C=O	1725-1705	élongation	forte
Acides	C=O	1800-1740	élongation	forte
Esters aliphatiques	C=O	1750-1730	élongation	forte
Cétones aromatiques	C=O	1700-1670	élongation	forte
Amides secondaires	C=O	1700-1630	élongation	forte
Amides primaires	C=O	1690-1620	élongation	forte
Alcane	C-C	1000-1250	élongation	forte
Alcène	C=C	1645	élongation	moyenne
Aromatiques	C=C	1600 et 1500	élongation	variable
Alcyne	C≡C	2150-2100	élongation	faible
Amines primaires	N-H	1640-1560	déformation cisaillement	forte à moyenne
Amines secondaires	N-H	1580-1490	déformation	très faible

Amides primaires	N-H	1650-1590	déformation	moyenne
Amides secondaires	N-H	1570-1510	déformation	moyenne
-CH ₂	- C-H	1470	déformation cisaillement	moyenne
-CH ₃ (alcanes)	C-H	1460 1380	déformation asymétrique déformation symétrique	moyenne
-CH	C-H	1340	déformation	faible
Alcools	O-H	1410-1330	déformation dans le plan	
Acides	O-H	1380-1280	déformation dans le plan	moyenne
Amines	C-N	1230-1030	élongation	moyenne
Amines aromatiques	C-N	1360-1180	élongation	moyenne à forte
Esters	C-O	1300-1050	élongation 2 bandes	
Acides	C-O	1190-1075	élongation	forte
Alcoolstertiaires	C-O	1150	élongation	variable
Ether	C-O	1150-1070	élongation	variable
Alcools secondaires	C-O	1100	élongation	variable
Alcools primaires	C-O	1050	élongation	variable
Aromatiques	C-H	900-700	déformation dans le plan bandes caractéristiques du type de substitution	variable
Amineprimaire	N-H	900-650	déformation torsion	moyenne et large
(CH ₂ -) n	C-H	725-720	déformation balancement n>4	faible

Annexe A 4

Valeurs max Gel aller

Design Summary

Study Type Mixture **Runs** 17
Initial Design D-optimal Coordinate Exchange **Blocks** No Blocks
Design Model Special Cubic

Component	Name	Units	Type	Low Actual	High Actual	Low Coded	High Coded	Mean	Std. Dev.
A	Cs	%	Mixture	0.50	1.00	0.000	1.000	0.681	0.174
B	AG	%	Mixture	0.000	0.50	0.000	1.000	0.161	0.165
C	HEC	%	Mixture	0.000	0.50	0.000	1.000	0.159	0.164

L_Pseudo Coding

Total =1.00

Response	Name	Units	Obs	Analysis	Minimum	Maximum	Mean	Std. Dev.	Ratio	Trans	Model
Y1	Mu	Pa.s	17	Polynomial	0.032	363.6	87.42	109.99	11256.97	Natural log	Quadratic
Y2	G'	Pa	17	Polynomial	0.14	453.7	132.02	165.40	3280.55	Natural log	Linear
Y3	pH		17	Polynomial	3.87	4.21	4.07	0.092	1.09	None	Linear
Y4	Sol/Gel		17	Polynomial	1.00	4.00	2.12	1.02	4.00	square root	RQuadratic

Design Constraints

Low	Constraint	High
0.50	A:Cs	1.00
0.000	B:AG	0.50
0.000	C:HEC	0.50
	A+B+C	1.00

Constraints

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
Cs	is in range	0.5	1	1	1	3
AG	is in range	0	0.5	1	1	3
HEC	is in range	0	0.5	1	1	3
Mu	is target=363.6	0.0323	363.6	1	1	3
G'	is target=453.7	0.1383	453.7	1	1	3
pH	is in range	3.87	4.21	1	1	3
Sol/Gel	is target= 4	1	4	1	1	3

Solutions

Number	Cs	AG	HEC	Mu	G'	pH	Sol/Gel	Desirability
1	0.55	0.45	0.00	211.191	453.704	4.09685	3.86184	0.969
2	0.54	0.44	0.02	228.207	453.698	4.08852	3.82359	0.968
3	0.50	0.41	0.09	347.543	453.701	4.05089	3.6528	0.968
4	0.51	0.42	0.07	297.573	453.698	4.06362	3.71021	0.968 Selected
5	0.50	0.28	0.22	363.604	127.359	4.00276	2.80305	0.828
6	0.52	0.42	0.06	280.733	453.696	4.05362	3.70023	0.968

Solutions found

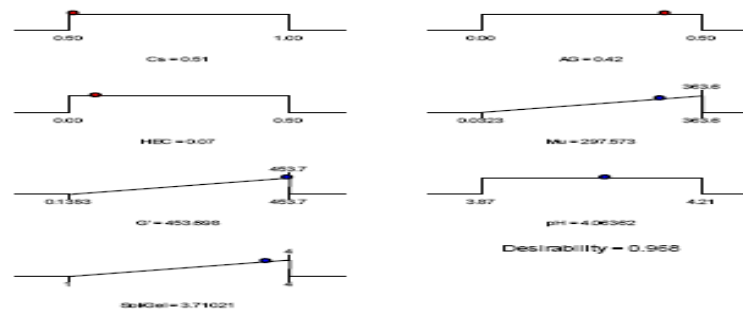


Figure.A4. Desirability ramp for optimization (Selected solution)

Test visuel

Valeurs max Gel Retour

Solutions

Number	Cs	AG	HEC	pH	T (°C)	%gel visuellement
1	0.51	0.32	0.17	4.14	22.1	28%

Valeurs max Gel aller

Solutions

Number	Cs	AG	HEC	pH	T (°C)	%gel visuellement
2	0.51	0.42	0.07	4.06	21.9	45%

Valeurs moyenne Gel

Solutions

Number	Cs	AG	HEC	pH	T (°C)	%gel visuellement
3	0.50	0.31	0.19	3.99	22.3	20%

Valeurs moyennes pré-conditionnement

Solutions

Number	Cs	AG	HEC	pH	T (°C)	%gel visuellement
4	0.55	0.34	0.11	4.08	23.5	30.5%

Valeurs max retour pré-conditionnement

Solutions

Number	Cs	AG	HEC	pH	T (°C)	%gel visuellement
5	0.50	0.36	0.14	3.93	22.9	38.5%

Valeurs max aller pré-conditionnement

Solutions

Number	Cs	AG	HEC	pH	T (°C)	%gel visuellement
6	0.50	0.24	0.26	3.97	23	9%

ملخص

المواد الهلامية هي مركبات لها خصائص وسيطة بين السوائل والمواد الصلبة، ويتم الحصول عليها من خلال عمليات كيميائية وفيزيائية مختلفة. وهي تتميز ببنية على شكل شبكة ثلاثية الأبعاد تمنحها وظائف عديدة ومهمة تتيح لها أن تُدرج في جميع العلوم والتقنيات تقريبًا. تتطور المواد الهلامية وتحسن خاصة مع التقدم التكنولوجي الحالي، مما جعل من الممكن الحصول على منتجات جديدة مع العديد من مزايا الاستخدام. يتم استخدامها بشكل خاص في مجالات الطب والصيدلة والصحة والصحة والأغذية الزراعية ومستحضرات التجميل.

الشيتوزان هو عديد السكاريد مشتق من الكيتين وهو البوليمر الطبيعي الأكثر وفرة بعد السليلوز. تتنوع خصائص الشيتوزان بشكل كبير (التعقيد، النشاط الحيوي)، مما يسمح باستخدامه في العديد من المجالات (الطب الحيوي، الزراعة). ومع ذلك، فإن تطبيقاته كمنتج بمفرده محدودة لأنه قابل للذوبان فقط عند درجة حموضة أقل من 6,5.

يتعلق هذا العمل البحثي بالتعديل الكيميائي للشيتوزان، بناءً على تفاعل وظائف الأمين، لإعطائه خصائص جديدة دون تغيير خصائصه الجوهرية. أولاً، تم تحليل الشيتوزان بطرق مختلفة من حيث خصائصه البنوية والفيزيوكيميائية. بعد ذلك، تم تعديل الشيتوزان بإضافة هيدروكسي إيثيل سلولوز وكاراجينان بكتل مختلفة. تم توضيح الإقحام باستعمال التحليل الطيفي IR-FT، وتم تقييم درجة الارتباط عن طريق التحليلات الحرارية DSC، ATG والريولوجية. يتميز الجال الذي تم الحصول عليه في هذا العمل البحثي بخصائص مثيرة للاهتمام، وبالتالي يمكن إستعماله في عدة مجالات.

الكلمات الأساسية: الشيتوزان، هيدروكسي إيثيل سلولوز، كاراجينات، الخصائص الحرارية، الخصائص الريولوجية

Abstract

Gels are compounds which have properties intermediate between those of liquids and solids, they are obtained by various chemical and physical processes. They are characterized by a structure in the form of a three-dimensional network which gives them many and important functions thus allowing them to be included in almost all sciences and techniques.

Gels are developing and improving especially with current technological progress, which has made it possible to obtain new products with several advantages of use. They are used in particular in the fields of medicine, pharmacy, sanitary and hygienic, agro-food and cosmetology.

Chitosan is a polysaccharide derived from chitin which is the most abundant natural polymer after cellulose. The properties of chitosan are very varied (complexation, bioactivity), allowing its use in many fields (biomedical, agriculture). Its applications as a product alone are however limited because it is only soluble at a pH below 6.5.

This research work concerns the chemical modification of chitosan, based on the reactivity of the amine functions, to give it new properties without changing its intrinsic properties. First, chitosan was characterized by different methods of structural and physico-chemical analysis. Then, the chitosan was modified by adding hydroxyethylcellulose and carrageenan in various masses. The grafting was demonstrated by IR-FT spectroscopy, and the degree of grafting was evaluated by thermal (DSC, ATG) and rheological analyzes. The gel obtained in the present research work has interesting characteristics, and can thus find applications in several fields.

Key words: *Gels, Chitosan, Hydroxyethylcellulose, Carragenate, thermal properties, rheological properties*

Résumé

Les gels sont des composés qui ont des propriétés intermédiaires entre ceux des liquides et des solides, ils sont obtenus par divers procédés chimiques et physiques. Ils sont caractérisés par une structure sous forme d'un réseau tridimensionnel qui leur confère de nombreuses et importantes fonctions leur permettant d'être inclus dans presque toutes les sciences et techniques. Les gels connaissent un développement et une amélioration surtout avec les progrès technologiques actuels, ce qui a permis l'obtention de nouveaux produits présentant plusieurs avantages d'utilisation. Ils sont notamment utilisés dans les domaines de la médecine, la pharmacie, les sanitaires et l'hygiéniques, l'agro-alimentaire et la cosmétologie.

Le chitosane est un polysaccharide issu de la chitine qui est le polymère naturel le plus abondant après la cellulose. Les propriétés du chitosane sont très variées (complexation, bioactivité), permettant son utilisation dans de nombreux domaines (biomédicale, agriculture). Ses applications comme produit seul, sont cependant limitées car il n'est soluble qu'à un pH inférieur à 6,5.

Ce travail de recherche concerne la modification chimique du chitosane, basée sur la réactivité des fonctions amines, pour lui conférer de nouvelles propriétés sans changer ses propriétés intrinsèques. Dans un premier temps, le chitosane a été caractérisé par différentes méthodes d'analyses structurales et physico-chimiques. Puis, le chitosane a été modifié par l'ajout de l'hydroxyéthylcellulose et la carragenate à des masses variées. Le greffage a été mis en évidence par spectroscopie IR-FT, et le taux de greffage a été évalué par des analyses thermiques (DSC, ATG) et rhéologiques. Le gel obtenu dans le présent travail de recherche possède des caractéristiques intéressantes, et peut trouver ainsi des applications dans plusieurs domaines.

Mots clés : Chitosane, Hydroxyéthylcellulose, Carragenate, propriétés thermiques, propriétés rhéologiques.



RESEARCH ARTICLE

Synthesis and Characterization of Chitosan/Carrageenan/Hydroxyethyl cellulose blended gels

Samira Boufas, Mohamed El Hocine Benhamza, Bachir Ben Seghir, Ferdenache Hadria

Analysis and Laboratory of Industrial Materials Engineering (LAIGM), University 8 Mai 1945 Guelma, Algeria

*Corresponding Author E-mail: bbachir39@gmail.com

ABSTRACT:

Polysaccharide-based biomaterials are a developing class in various fields such as biomedicine, wastewater treatment, functional membranes and flocculation. Most of the polysaccharides are derivative from sources natural; mainly, chitosan (CS), Carrageenan (AG) and Hydroxyethyl cellulose (HEC). In this work, a number of ternary mixture blends of Chitosan / Carrageenan / Hydroxyethyl Cellulose (CS/AG/HEC) at different ratios (considering Chitosan as the main component) are synthesized, chemically identified and characterized. The optimum mixture ratio for a better gel with significantly higher viscoelastic properties is obtained by an Experimental Design using a model of Response Surface Methodology (RSM). Gels derived under the optimized conditions are found for a given composition percentage equals to 51/42/07 of CS/AG/HEC respectively. Characterization of the optimized gel is performed by Fourier Transform spectroscopy Infrared (FTIR) as well as by Thermal Gravimetric Analysis and Differential Scanning Calorimetry (TGA/DSC). The viscoelastic properties of the obtained blended CS gels are also investigated through rheological measurement. CS blended gel FTIR spectrum results comparing to those of each component (i.e. Chitosan, Carrageenan and Hydroxyethyl Cellulose), show from chemical structures that there is an interaction between the three components. The thermal analyses results also suggest that the interaction between Chitosan, Carrageenan and Hydroxyethylcellulose may well occur to form a gel with more stability. And this is confirmed by the highest rate point of the weight loss change revealed on the peak of the first derivative curve; observed at a temperature of 112.42°C. Observations obtained from the rheological measurement also suggested the existence of an interaction between the three polymers, and a pseudo-plastic non-Newtonian behaviour of Chitosan blended gel is revealed. Flow measurements also show that temperatures variations have an effect on the blended gel viscosity. Hence, higher viscosities are found for lower temperatures besides a non-Newtonian behaviour is observed at all temperatures. Furthermore, negative slopes are observed indicating the destruction of internal structure by overcoming the internal forces, thus the blended gel has a shear thinning behavior. Moreover, the absence of a second Newtonian plateau indicates the absence of a complete loss of internal forces, so it may well be assumed that the gel still retains its internal structure in the applied shear rate regime.

KEYWORDS: Chitosan (CS), Carrageenan (AG), Hydroxyethyl Cellulose (HEC), Gels, Rheology.

INTRODUCTION:

Received on 21.03.2020

Accepted on 09.05.2020

Asian J. Research Chem. 2020; 13(3):209-215.

DOI: [10.5958/0974-4150.2020.00040.1](https://doi.org/10.5958/0974-4150.2020.00040.1)

Modified on 15.04.2020

©AJRC All right reserved

Since it is inexpensive, non-toxic and possesses potentially reactive amino functional groups, Chitosan has been widely used in the fields of medicine, food, cosmetics, agriculture, and wastewater treatment and so on (1-5). Because Chitosan has many functional groups, its modification by blending with other polymeric materials is expected to be useful for many applications.

Blending of Chitosan with Carrageenan (AG) or with Hydroxyethyl cellulose (HEC) has been already reported in the literature. However, the study of CS/AG/HEC ternary blended system gel is still rare.

The combination of these three most widespread natural biopolymers (Chitosan, Carrageenan, and Cellulose), is of great interest from the standpoint of production of composite filaments, fibers, films, membranes, and other polymeric materials with a unique set of properties. In particular the combination of the sorption activity and hydrophobicity of the three polymers. The high mechanical resistance of Cellulose; gelling, thickening and stabilizing properties of the Carrageenan and the antibacterial properties of Chitosan makes it possible to substantially extend their fields of application.

The resemblance of chemical structures of macromolecules provides conditions for the kinetic compatibility of the polymers in the same solvent, thus preventing the negative consequence of phase separation on the physical and mechanical properties of composite materials. Lots of Chitosan blends and composites with other polymers have been proposed in the literature, for example, Chitosan/Cellulose membrane (6), Chitosan/Starch, Chitosan/Collagen (7) and Chitosan/Gelatine (8). The compatibility of Chitosan with these polymers may be obtained since Chitosan is considered as a strongly interacting polymer. The most important property of Agar is its ability to form reversible gels simply by cooling hot aqueous solutions due to the formation of hydrogen bonds (9). Some of its hydrogel blends, such as PVP-Agar Hydrogel, have previously been prepared (10). Agar has also a wide variety of uses in industry. For example, it has been used in the food area (processed cheese, ice cream, bread, and soft candy) due to its ability to form hard gels at very low concentrations (11).

In this study, we report on the preparation of blended CS gels obtained by the physical solution mixing of Chitosan, Carrageenan, and Cellulose at different proportions. The rheological properties i.e. shearing viscosity and shear stress as a function of shear rate of the blend gels are investigated. And an optimum mixture ratio for a better gel is obtained by Experimental Design using a model of Response Surface Methodology (RSM). Characterization of the optimized gel is performed using Fourier Transform Infrared spectroscopy (FTIR), Thermal Gravimetric Analysis TGA and Differential Scanning Calorimetry DSC. The optimized blended CS gel viscoelastic properties are also investigated through rheological measurements.

Therefore, the present work is aimed to study of Chitosan/Carrageenan/Cellulose ternary gels with the view to further explore their properties and applications.

MATERIAL AND METHODS:

Materials:

Chitosan (CS) is prepared from shrimp *Parapenaeus longirostris* shells, as described in a previous study (12).

Chitosan (CS) with a higher Degree of Deacetylation (DD) is obtained by alkaline treatment of Chitin. Carrageenan (AG) and Hydroxyethyl Cellulose (HEC) are purchased from the market. Homogenization of particle size of the three components (CS, AG and HEC) is performed at a diameter of 0.05mm.

Preparation of blended CS gels:

The preparation of blended gels of Chitosan, Carrageenan and Cellulose is carried out at various proportions. The ternary mixture aqueous solutions of Chitosan / Carrageenan / Hydroxyethyl Cellulose (CS/AG/HEC) at different weight ratios (considering Chitosan as the main component, i.e. $\geq 50\%$) are prepared by dissolving (0.1g) of the three pure component in (20 ml) of Acetic Acid (0.1M) followed by stirring for 15 min at 1400 r/min. The blended CS gel is prepared at room temperature with a pH in the range of

4. Air bubbles formed in the solution are eliminated by keeping the solutions at room temperature for 2 h. The aqueous Carrageenan and Cellulose solutions are added drop by drop to the Chitosan solution, under continuous stirring in various proportions. The range of the added Carrageenan/Cellulose to Chitosan solution is from 0-50% in weight. Stirring at 1400 r/min is allowed to continue for 30 minutes until a gel solution is obtained.

Experimental Design:

A Response Surfaces Design Method (RSM) is performed, using "Design experiment 8" version 8.0.6.1 (Stat-Ease Corporation software), in order to find an optimum mixture ratio for a better blended CS gel. Mixture design technique which is a specialized form of Response Surface methods (RSM) is well used to discover the optimal formulations (13). Factors that influencing the characteristics of the blended CS gels are viscosity μ , storage modulus G' (Elasticity behaviour), pH and sol/gel blend ratio (the latter is visually examined).

Characterization:

The three components (Cs, AG and HEC), as well as the ternary blended Cs/AG/HEC gel sample prepared under optimum conditions, are characterized by Fourier Transform Infrared spectroscopy (Perkin Elmer FTIR 1600, USA), of spectral frequency ranging from 4000 to 400 cm^{-1} . The FTIR spectroscopy was used to identify the chemical structure and possible interaction between the components. The obtained FTIR spectra for the three components (Cs, AG and HEC) as well as for the blended gel are shown in Fig. 3.

Thermodynamic properties of the blended Cs gel are stretching vibrations of water and hydroxyls as well as studied using the Thermal Gravimetric Analysis (TGA)–NH stretching vibrations of free amino groups. The band and Differential Scanning Calorimetry (DSC) techniques. that appears at 1652 cm⁻¹ is an amide I resulting from Measurements are performed using a TGA/DSC of type hydrogen and hydroxyl group interactions, this is due to (3⁺ Store System, Mettler-Toledo GmbH, and the removal of the acetyl group. Moreover, adisappearance Switzerland). The thermal contours of blended gel are of the bands at 1411cm⁻¹, 1380 cm⁻¹ and at 1033 cm⁻¹; analyzed in a temperature range of 50- 500°C, at a heating that is obviously observed in the pure chitosan and rate scan of 10°C/min and under a nitrogen stream rate of cellulose as well as bands in the 1210-1260 cm⁻¹ region of the pure Carrageenan (corresponding to the S=O of Sulphate Esters); is observed. The FTIR spectrum of

The Rheological measurements are performed using a CS/AG/HEC ternary blended system gel also showed an Dynamic Bohlin CVO-100-901 Rheometer from Malvern absorption band at 1625 cm⁻¹ (though with lower Company (UK), equipped with CP4/40 cone of 40 mm absorbance values) which corresponds to – NH⁺ group diameter (with a cone angle of 4°), at various temperatures (14). Thus, the FTIR spectroscopy of the blended gel and frequencies in the linear viscoelastic regime. comparing to those of each component (i.e. Cs, AG and HEC) show from chemical structures that there is an inte

RESULTS AND DISCUSSION:

Experimental Design results:

The significant ANOVA statistical analysis results in an optimum ratio, with a desirability value of 0.968, (Fig. 1). Thus, gels derived under these optimized conditions with a significantly higher viscoelastic parameter, are found for a given composition of weight ratio equals 51/42/07 of CS/AG/HEC respectively. With these conditions, a sample of blended Cs gel is prepared and characterized.

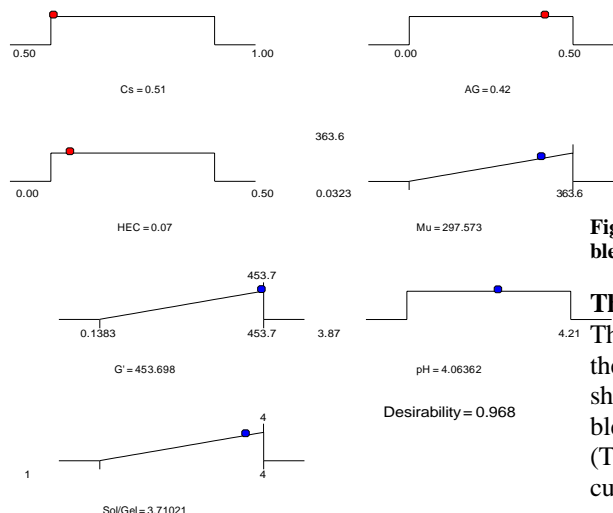


Fig. 1. Desirability ramp for optimization.

FTIR Analysis results:

The obtained FTIR spectra for the three components Chitosan (CS), Carrageenan (AG), Hydroxyethyl Cellulose (HEC) and for the blended gel are presented in Fig. 2.

Analyses of CS blended gel FTIR spectrum show a broader band at 3100–3600 cm⁻¹ with stronger absorbance intensities, this corresponds to –OH

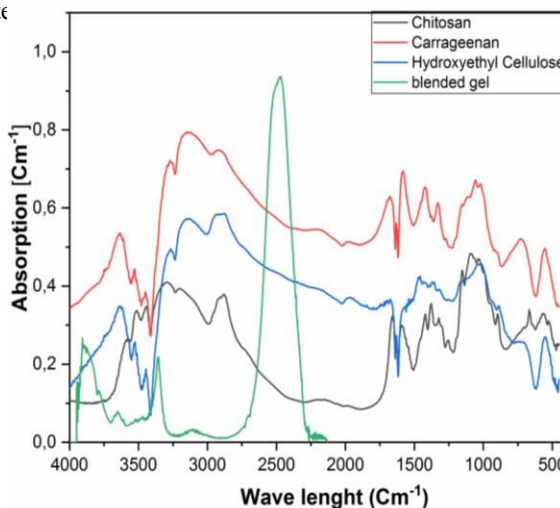


Fig. 2. IR of Chitosan, Carrageenan, Hydroxyethyl Cellulose and their blended gel.

Thermal properties:

The thermo-gravimetric analysis was performed to assess the thermal properties of the blended Chitosan formulation. Fig.3,4 shows the thermal degradation, in a nitrogen atmosphere, of the blended Chitosan gel. Fig. 4 presents the relative weight loss (TG curves), together with the weight loss first derivative (DTG curves), as functions of temperature.

As shown in Fig. 3, the TGA of the blended CS gel showed a two-stage weight loss. The first ranged up to 60°C showing approximately 4% losses in weight. This is attributed to the vaporization of volatile components (absorbed and bound water). The second stage of weight loss began at about 70°C and continued up to 200°C, during this stage a faster thermal degradation and a major weight loss (more than 95%) is demonstrated. This is attributed to the decomposition of the blended

gel. Due to the respective compositions of the blended Cs gel components, therefore fewer residues remain at 200°C and the total weight loss of the sample at about 500 °C is of 95.8%. The 4.20 % remaining residue of the gel is owing to the formation of an inorganic complex containing C, N, and O.

The thermal stability of materials is determined by major mass loss, after which thermal degradation starts. Thus, the greatest rate point of the weight loss change revealed at the peak of the first derivative curve is observed at a temperature of 112.42°C (Fig. 4). This is responsible for the release of water bounded to the three polymers functional groups, which was not completely removed in the first dehydration step, together with degradation of carboxylic groups. These stages can be attributed to the degradation of Chitosan and the decomposition of different structures in the graft copolymer, respectively (15).

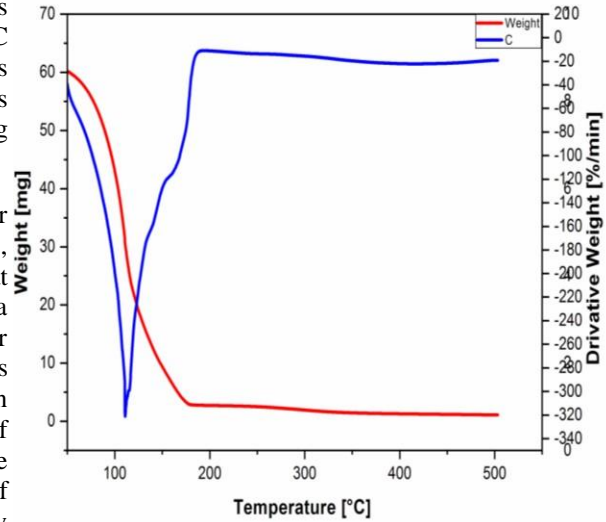


Fig.4. Thermal decomposition curves of the ternary blended gel (DTG curves).

DSC run curve of the blended gel exhibited a broad endothermic peak centred at about 110.55°C corresponding to 315mW of heating. This endothermic peak often termed as dehydration temperature, is attributed to the evaporation of water associated with the hydrophilic groups of the polymers (14-16). The peak position situated at a higher level (Linear Viscoelastic Region, LVER). Beyond this temperature indicates a stronger interaction with water. Thus, these results suggest that the interaction between Chitosan, Carrageenan and Hydroxyethyl Cellulose may occur to form a gel with more stability.

Rheological measurement results and viscoelastic properties:

Critical strain and strain sweep:

Usually, the rheological properties of a viscoelastic material are independent of strain up to a critical strain level. Beyond this critical strain level, the material's behaviour is non-linear and the storage modulus declines. So, measuring the strain amplitude dependence of the storage and loss moduli (G' and G'') is a good first step taken in characterizing viscoelastic behaviour: A strain sweep will establish the extent of the material's linearity.

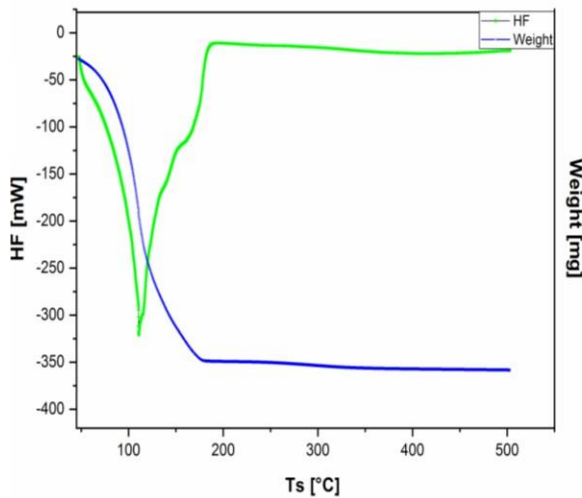


Fig.3. TGA and DSC run curves of blended gel.

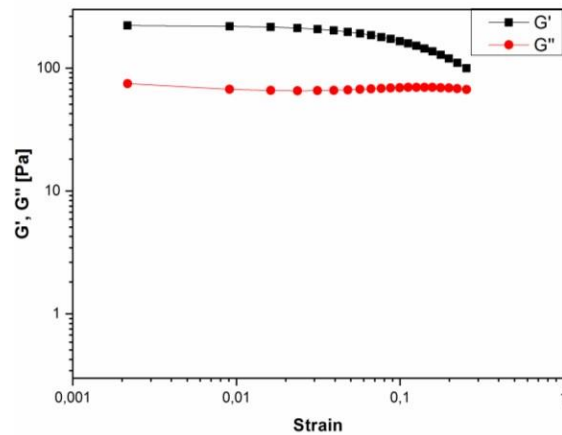


Fig. 5. Critical strain and strain sweep (LVER region).

Thus, a strain sweep test at a frequency of 1 Hz is performed to determine the linear viscoelastic region, from which an appropriate strain is selected. The evaluation of shear strain effects on the measured G' and G'' shows that, below 0.02 deformation (strain), values of

G' are independent of the applied strain i.e. LVE behaviour (Fig. 5).

Strain values used in the experiments are chosen to be in the linear viscoelastic (LVE) range, where G' and G'' are well nearly independent of frequency exclusively at lower frequencies are chosen between 0.1 Hz and 16 Hz.

Structure and frequency sweep:

After the linear viscoelastic region has been defined by strain sweeps, the CS blended gel structure can be further characterized using frequency sweep at strain below the critical strain (corresponding to shear stress equals to 1Pa in the present case study). Thus, a measurement is made from a constant strain frequency sweep under a frequency range of 0.1-16 Hz and at temperature equals 25°C. The measured results G' and G'' are virtually independent of lower range frequency values, and the material behaves predominately as elastic ($G' > G''$); which stands for structure in the material capable of storing energy, Fig. 6. Consequently, these results show that the blended gel has a solid-like behaviour.

The plot of Fig. 6, shows also that with increasing frequency both values of G' and G'' gradually increase. Since the storage modulus G' is higher than the loss modulus G'' (i.e. $G' > G''$) in the whole frequency range of Linear viscoelastic region (LVER), the sample elastic behaviour predominates over its viscous behaviour and the blended gel exhibits a mechanical rigidity. Afterward, the gel displays a weak dependence on frequency.

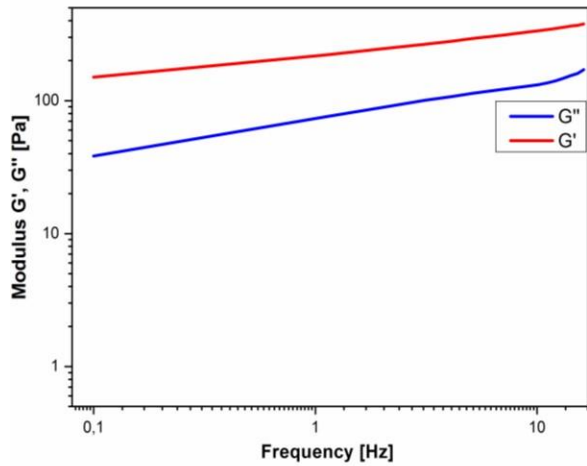


Fig. 6. Frequency sweep of the blend gel below the critical strain (at a shear stress of 1Pa and t=25°C).

In addition, the storage modulus is about an order of magnitude larger than the loss modulus with very weakly frequency dependence; this is dependable with the formation of a solid gel structure. The loss modulus is as the linear viscoelastic (LVE) range, where G' and G'' are well nearly independent of frequency exclusively at lower frequencies are chosen between 0.1 Hz and 16 Hz.

Temperature dependence of the blended Gel:

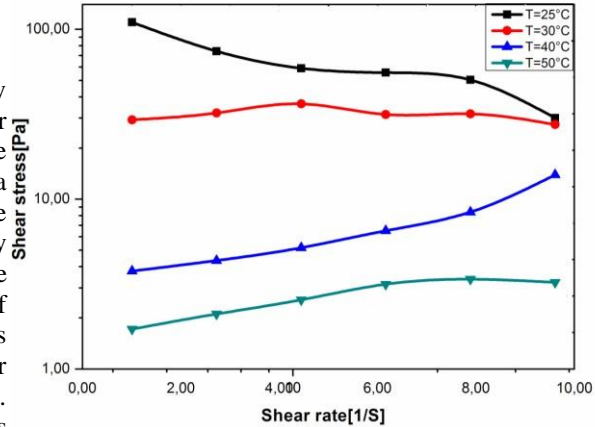


Fig. 7. Temperature dependence of the blended Gel (Shear stress Vs. Shear rate).

The Fig. 7 shows the effect of temperature on the ternary blended gel shear stress as a function of shear rate. Influence of the shear rate and temperature on rheological curves shows that shear stress increases with increasing shear rate especially for higher temperatures (40°C and 50°C), however, it is nearly constant at a temperature of 30°C and slightly reduces at 25°C. Furthermore, from this plot it can be observed that the ternary blended gel behaves as a viscoelastic fluid (or yielded stress fluid); and a notable shear stress/ shear rate dependence is only observed at higher shear rate values.

Effects of temperatures on the blended gel viscosity:

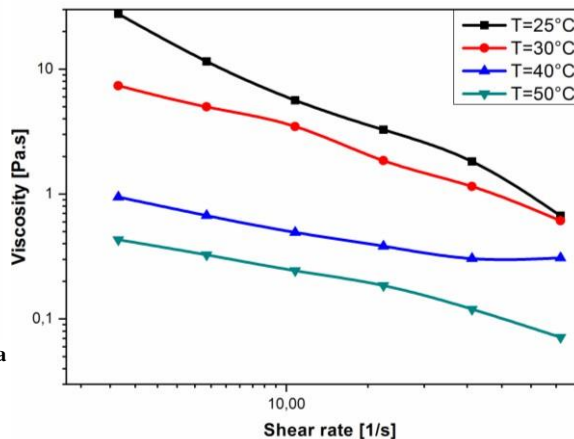


Fig. 8. Temperature dependence of the blended Gel (Viscosity Vs. Shear rate).

The study of the shear rate-dependent viscosity of the sharper decrease with increasing strain amplitude than blended gel at a range of temperatures (from 25°C to does the loss modulus, Fig. 9.

50°C) is performed and presented in Fig. 8. The flow curve measurements show that shear rates/ temperatures

variations have an effect on the blended gel viscosity. Thus, higher viscosities are found for lower temperatures of and non-Newtonian behavior is observed at all temperatures. In addition, the temperature has more effect at lower shear rate values, i.e. the viscosity increase associated with temperature is less important at a high shear rate. It is also apparent in these curves, that this type of fluid displays increases in the shear rate with decreasing viscosity, suggesting pseudo-plastic non-Newtonian behaviour. Negative slopes are also displayed indicating the destruction of internal structure by overcoming internal forces. Thus the blended gel has a shear thinning behaviour. Though the absence of a second Newtonian plateau indicates the absence of a complete loss of internal forces, thus it could be assumed that the gel still retains its internal structure in the applied shear rate regime.

Strain sweep:

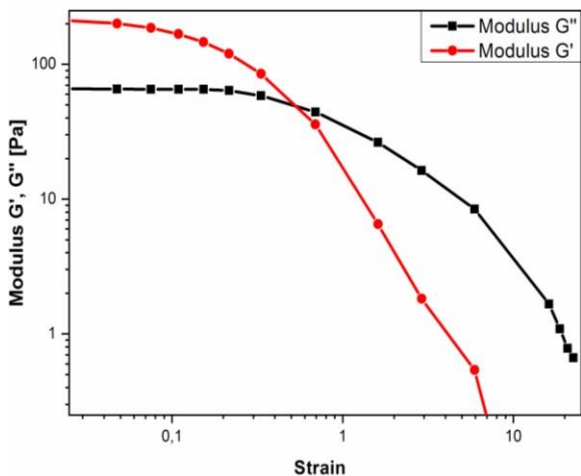


Fig. 9. Strain sweep, storage (G') and loss (G'') modulus as a function of strain.

In the strain sweep of Fig. 10, linear response for a strain below < 0.1 is observed, where both elastic modulus G' and viscous modulus G'' are independent of the strain and where G' is always greater than G'' (fluid-like behaviour). Further increase in strain amplitude results in a decrease in both G' and G'' up to ≈ 0.26 , above which (i.e. above a yield strain) both modulus drop precipitously indicating a marked strain thinning feature. A strain of around 0.69, $G' < G''$ and viscous behaviour of the gel is shown; thus at larger strains, the gel is no longer recoverable, indicating an irreversible breakage of bonds between clusters. At sufficiently large strain amplitude range, however, a viscous behaviour is revealed because the storage modulus demonstrates a

CONCLUSIONS:

In this research work, a number of ternary mixture gels of Chitosan/Carrageenan/Hydroxyethyl Cellulose (CS/AG/HEC) at different ratios (considering Chitosan as the main component) are synthesized, chemically identified and characterized. An optimal mixture ratio for a better gel with significantly higher viscoelastic properties is obtained by an Experimental Design using a model of Response Surface Methodology (RSM). The significant ANOVA statistical analysis results in an optimum ratio, with a desirability value of 0.968. And the optimized conditions are found for a given composition of weight ratio equals 51/42/07 of CS/AG/HEC respectively. CS blended gel FTIR spectrum results show a broader band at 3100–3600 cm^{-1} with stronger absorbance intensity, corresponding to $-$ (make $-$ with OH) vibrations of water and hydroxyls as well as $-$ NH stretching vibrations of free amino groups. The band that appears at 1652 cm^{-1} is an amide I resulting from hydrogen and hydroxyl group interactions. Results also show that bands at 1411 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} and at 1033 cm^{-1} that is obviously observed in the Chitosan and Cellulose as well as bands found at 1210–1260 cm^{-1} region of the Carrageenan (corresponding to the S=O of sulfate Esters) have disappeared in CS blended gel FTIR spectrum. Moreover, the FTIR spectrum of CS/AG/HEC ternary blended system gel showed an absorption band at 1625 cm^{-1} (though with lower absorbance value) which corresponds to $-$ NH $_3^+$ group. Thus, the FTIR spectroscopy of the blended gel comparing to those of each component (i.e. CS, AG and HEC) shows from chemical structures that there is an interaction between the three components. Thermo-Gravimetric analysis of the blended CS gel showed a two-stage weight loss. The first ranged up to 60°C, attributed to the vaporization of volatile components, which is of approximately 4% loss in weight. And the second stage of weight loss began at about 70°C and continued up to 200°C, with faster thermal degradation and a major weight loss (more than 95%). The greatest rate point of the weight loss change (revealed on the peak of the first derivative curve), is observed at a temperature of 112.42°C. This is responsible for the release of water bounded to the three polymers' functional groups, which was not completely removed in the first dehydration step, together with degradation of carboxylic groups. This stage can be attributed to the degradation of Chitosan and the decomposition of different structures in the graft copolymer, respectively. DSC run curve of the blended gel exhibited a broad endothermic peak centred at about 110.55°C corresponding to 315 mW of heating. The peak position situated at a higher temperature indicates a stronger interaction with water. Thus, these results

suggest that the interaction between Chitosan, Carrageenan, and Hydroxyethyl Cellulose may well occur to form a gel with more stability.

In this research study, detailed rheological profiling of Chitosan blended gel is carried out. After the linear viscoelastic region has been defined by strain sweeps, the CS blended gel structure is characterized using frequencies sweep below the critical strain. Since the storage modulus G' is higher than the loss modulus G'' in the whole frequency range of Linear Viscoelastic Region (LVER), the sample elastic behaviour predominates over its viscous behaviour and the blended gel exhibits a mechanical rigidity (solid-like behaviour). The storage modulus is about an order of magnitude larger than the loss modulus and has very weakly frequency dependence; this is dependable with the formation of a solid gel structure. The loss modulus is as well nearly independent of frequency exclusively at lower values. Thus, the data from frequency sweep experiments established the pseudo-plastic behaviour of Chitosan blended gel.

Rheological curves at different temperatures show that shear stress increases with increasing shear rate especially for higher temperatures (at 40°C and 50°C), though it is nearly constant at a temperature of 30°C and slightly reduces at 25°C. Therefore, the ternary blended CS gel behaves as a viscoplastic fluid (yielded stress fluid); and a notable shear stress/shear rate dependence is only observed at higher shear rate values.

Flow curve measurements also show that shear rates/temperatures variations have an effect on the blended CS gel viscosity. Thus, higher viscosities are found for lower temperatures, in addition, a non-Newtonian behaviour is observed at all temperatures. Furthermore, the viscosity increase associated with temperature is less important at high shear rates. It is also shown that this type of fluid displays increases in the shear rate with decreasing viscosity, suggesting pseudo-plastic non-Newtonian behaviour. Negative slopes indicate the destruction of internal structure by overcoming the internal forces. Thus a shear-thinning process of the blended gel is observed. Moreover, the absence of a second Newtonian plateau indicates the absence of a complete loss of internal forces, so it may well be assumed that the gel still retains its internal structure in the applied shear rate regime.

In the strain sweep tests, a linear response is observed for a lower strain (below < 0.1), where both elastic modulus G' and viscous modulus G'' are independent of the strain and where G' is always greater than G'' (solid-like behaviour). Further increase in strain amplitude results in a decrease in both G' and G'' (up to ≈ 0.26), above which (i.e. above a yield strain) both modulus

drop precipitously indicating a marked strain thinning feature. At a sufficiently larger strain amplitude range, however, a viscous behaviour is revealed because the storage modulus demonstrates a sharper decrease with increasing strain amplitude than does the loss modulus.

The present study unveiling many of aspects of Chitosan blended gel. The application of various characterization methods also helped in identifying its properties. The study results obtained could be employed in developing Chitosan blended gel with better properties.

ACKNOWLEDGMENT:

The present work is supported by the Laboratory of Industrial Analysis and Material Engineering (LAIGM), University 8 Mai Guelma Algeria.

REFERENCES:

1. Khor E, Lim LYJB. Implantable applications of chitin and chitosan. 2003;24(13):2339-2349.
2. Xin-Yuan S, Tian-Wei TJJob, polymers c. New contact lens based on chitosan/gelatin composites. 2004;19(6):467-479.
3. Crini GJBt. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review. 2006;97(9):1061-1085.
4. Araki C, Arai K, Hirase SJBotCSof. Studies on the chemical constitution of agar-agar. XXIII. Isolation of D-xylose, 6-O- methyl-D-galactose, 4-O-methyl-L-galactose and O- methylpentose. 1967;40(4):959-962.
5. Stephen AM, Phillips GO. Food polysaccharides and their applications: CRC press; 2016.
6. Grinshpan D, Gonchar A, Savitskaya T, Tsygankova N, Makarevich SJPSSA. Rheological properties of cellulose-chitosan-phosphoric acid systems in different phase states. 2014;56(2):137- 145.
7. El-Hefian EA, Nasef MM, Yahaya Ahjicsp. Chitosan-based polymer blends: Current status and applications. 2014;36(1):11.
8. El-Hefian EA, Nasef M, Yahaya AH, Khan Rajjotccs. Preparation and characterization of chitosan/agar blends: Rheological and Thermal Studies. 2010;55(1):130-136.
9. Ye Y, Dan W, Zeng R, Lin H, Dan N, Guan L, Mi ZJEpj. Miscibility studies on the blends of collagen/chitosan by dilute solution viscometry. 2007;43(5):2066-2071.
10. Phillips GO, Williams PA. Handbook of Hydrocolloids: CRC press Boca Raton, FL; 2000.
11. Madera-Santana T, Misra M, Drzal L, Robledo D, Freile-Pelegrin YJPE, Science. Preparation and characterization of biodegradable agar/poly (butylene adipate-co-terephthalate) composites. 2009; 49(6): 1117-1126.
12. Seghir BB, Benhamza MJJoFM. Characterization. Preparation, optimization and characterization of chitosan polymer from shrimps shells. 2017;11(3):1137-1147.
13. Khuri AI, Mukhopadhyay Sjwircs. Response surface Methodology. 2010;2(2):128-149.
14. Machado AS, Martins VdCA, Plepis AMdGJJoTA, Calorimetry. Thermal and rheological behavior of collagen. Chitosan Blends. 2002;67(2):491-498.
15. Essawy HA, Ghazy MB, El-Hai FA, Mohamed MFJJobm. Superabsorbent hydrogels via graft polymerization of acrylic acid from chitosan-cellulose hybrid and their potential in controlled Release of Soil Nutrients. 2016;89: 144-151.
16. Ramakrishna P. Preparation and in vitro evaluation of chitosan carrageenan crosslinked blend microspheres for controlled release of nateglinid. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2017;6(9):1704-171.

