

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences de l'ingénieur

Département de chimie industrielle

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Génie des procédés

**EFFET DE LA VALENCE DU SEL SUR LES PROPRIETES
RHEOLOGIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES DE SYSTEMES
COLLOIDAUX DE CASEINATE DE SODIUM ET DE
XANTHANE**

PAR

SALIMA TAIEB -SOLIMANE

Devant le jury composé de :

M ^f . M.Bezzina.	Professeur USD Blida	Président
M ^f . A. Aouabed.	Maître de conférence U S.D. Blida	Examineur
M ^f .A. Berber	Maître de conférence U S.D. Blida	Examineur
M ^f .N.Ayachi	Chargé de recherche, CRD Saidal	Examineur
M ^f .N. Moulai-Mostefa	Professeur, C.U.Médéa	Rapporteur
M ^f .A. Hadj-Sadok	Chargé de cours, U S.D. Blida	Invité

Blida, février 2006

RESUME

Dans ce travail, on s'est intéressé à l'étude de l'influence de la force ionique et de la valence du sel sur les interactions d'incompatibilité thermodynamique ou de floculation par déplétion entre deux biopolymères en solution : le caséinate de sodium et le xanthane en présence de sel. Notre intérêt a porté sur deux types de sels à savoir le KCl et le CaCl₂. De prime abord, on a étudié les deux biopolymères séparément, pour connaître l'effet que peut provoquer KCl et CaCl₂ sur les propriétés physico-chimiques, en terme d'effet écran ou d'adsorption sur les groupements anioniques (pyruvique et glucoronique) du xanthane et phosphosérines du caséinate de sodium moyennant la zetamétrie, en second lieu on a procédé à l'étude du mélange des deux biopolymères en solution aqueuse, en absence et en présence du sel. Cette étude s'est basée sur la détermination des propriétés physico-chimiques et rhéologiques ainsi que sur le comportement de phase du système (stabilité du système). Il a été démontré que les électrolytes peuvent modifier la conformation des protéines et des polysaccharides, par neutralisation de leur charge électrique, comme ils peuvent générer une coacervation complexe ou augmenter leur incompatibilité.

ABSTRACT

The aim of this work was the investigations of the ionic strength and the salt valence on the interaction caused by the thermodynamic incompatibility or the flocculation by depletion between two biopolymers, sodium caseinate and xanthan, in the absence and presence of salt.. Two types of salt were choused for the study: KCl and CaCl₂.

In the first, the biopolymers were studied separately, in order to deduce the influence of KCl and CaCl₂ on the physical-chemical properties, in terms of screen effect or the adsorption on the anionic groupments (pyruvic, glucuronic) of xanthan and phosphoserin of sodium caseinat using Zetametric analysis. Secondly, the properties of the mixture of the two biopolymers in aqueous solution, was investigated in the absence and presence of salt using rheology analysis where the stability of this system was examined using phase behavior

It has been demonstrated that electrolytes can modify the conformation of proteins and polysaccharides, by electric neutralization of their charge, as they can generate a complex coacervation or increase their incompatibility.

ملخص

ه الدراسة إهتمنا بتأثير القوة الأيونية و درجة التأين للملح على تفاعلات عدم التوافق الترموديناميكي أو ظاهرة في هذ .
التخثر بين كزينات الصوديوم و كزنتان. الملحين المختارين هما ملح كلورور البوتاسيوم و ملح ثاني كلورور الكالسيوم
أول الأمر درسنا المركبين مفترقين في الطور المائي لنرى تأثير الملح على الخصائص الفيزيوكيميائية، و نرى أيضا في
هل شحنات الملح تتفاعل حقا مع الشحنات السالبة لمتعدد السكر كزنتان و البروتين كزينات الصوديوم أو تمثل جدار عازل
. و ذلك باستعمال الزيتاميتري . فقط

. صببنا اهتمامنا على دراسة الخليط للمركبين في الطور المائي بدون ملح ثم بالملح ثانيا

ه الدراسة إرتكزت على إيجاد الخصائص الريولوجية و الفيزيوكيميائية و أيضا دراسة استقرار الخليط بعد إضافة هذ
. الملح

. إلكتروليات تستطيع تغيير شكل البروتين و متعدد السكر و ذلك بتعديل الشحنات و تستطيع زيادة عدم توافقهم

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire galénique au niveau de centre de recherche et de développement CRD / SAIDAL sous la direction de Monsieur N. MOULAI-MOSTEFA, professeur au centre universitaire de Médéa.

Au terme de ce modeste travail ; je tiens à remercier Allah pour m'avoir aidé à concrétiser ce travail.

Egalement je remercie mon mari pour le courage et la volonté sans lesquels mon travail n'aurait abouti.

Je remercie mes chers parents, ma belle mère, frères et sœurs, beaux frères et belles soeurs, pour leur encouragement, qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

Je remercie mon promoteur Monsieur N. MOULAI-MOSTEFA, professeur au centre universitaire de Médéa pour m'avoir encadré et guidé le long de ce projet, pour ses précieux conseils qui m'ont été d'une grande utilité.

Ma reconnaissance va vers, Monsieur A. HADJ-SADOK, co-promoteur, chargé de cours à l'université de Blida pour son dévouement, sa patience, sa générosité et sa disponibilité qui ont été de puissants facteurs pour la réalisation de ce modeste travail.

J'adresse mes vifs remerciements au Professeur M. BEZZINA, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Je remercie les membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'accepter la mission qui leur a été confiée ; Monsieur A. Aouabed Maître de Conférences à l'U.S.D.B, Monsieur A. Berber Maître de Conférences à l'U.S.D.B, et Madame N. Ayachi, chargée de recherche au CRD / SAIDAL.

Je remercie toutes mes amies (is), particulièrement M. REBIHA, F.ZERMANE .

J'exprime mes remerciements au Docteur CHAKOU, Directeur du CRD / SAIDAL, Madame N. AYACHI, Directrice du Laboratoire Galénique du CRD / SAIDAL pour m'avoir accueilli au sein de leur centre, et pour m'avoir permis de réaliser ce travail de recherche.

Je remercie tous les techniciens et toute l'équipe administrative du département de chimie industrielle (Rachid, Mouloud....) pour leur compréhension. Je remercie aussi mes collègues de la promotion pour leur soutien moral.

Sans oublier de dédier ce travail à, mes enfants, Hichem ,Fella et la petite Rania qui représentent la lumière de mon cœur.

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1. Formule développée du motif du xanthane.	14
Figure 1.2. structure d'un acide α aminé	19
Figure 1.3. Types d'interactions intervenant dans le repliement de la chaîne	20
Figure 1.4. Structure tertiaire de la protéine	21
Figure 1.5. Aperçu historique de quelques modèles de micelle de caséine	23
Figure 1.6. Modèle de structure III de la caséine α_{s1}	25
Figure 1.7. Modèle de structure III de la caséine β	27
Figure 1.8. Modèle de structure III de la caséine κ	28
Figure 1.9. Modèle de structure de micelle de caséines selon Ono et Obata confronté à celui de Holt.	29
Figure 1.10. Structure de la micelle de caseinate	31
Figure 2.1. Comportement d'un mélange de protéine et de polysaccharide	37
Figure 2.2. Représentation schématique du phénomène de déplétion entre polysaccharide et une protéine.	40
Figure 3.1. Différents types de cisaillement.	47
Figure 3.2. Schéma d'un mouvement laminaire de cisaillement présentant une symétrie plane	48
Figure 3.3. Écoulement en cisaillement simple entre deux plaques infinies	49
Figure 3.4 : Diagramme des fluides sans contrainte seuil .	54
Figure 3.5. Courbes d'écoulement d'une solution de polymère, $\eta = f(\dot{\gamma})$	57
Figure 3.6 Déphasage entre la contrainte et la déformation en écoulement sinusoïdal	58
Figure 3.7. Amplitude sweep.	61
Figure 3.8. $G'(\gamma)$ et $G''(\gamma)$.	61
Figure 3.9. Modèle de Gouy-Chapman montrant l'interface entre une surface chargée de potentiel ψ_0 et une solution électrolytique.	64
Figure 3.10. Modèle de Stern, montrant l'existence d'une distance d en deçà de laquelle les ions ne peuvent se loger.	65
Figure 3.11. Modèle triple couche.	66

Figure 3.12 : Evolution du potentiel zêta en fonction de la teneur en ions déterminant le potentiel.	69
Figure 4.1. Courbe de viscoélasticité du xanthane 0.3%.	74
Figure 4.2. Evolution de G_0' à différentes concentrations du xanthane	75
Figure 4.3. courbe d'écoulement à différentes concentrations de xanthane	76
Figure 4.4. Potentiel ζ à différentes concentrations du xanthane	77
Figure 4.5. Variation du module de conservation de la solution à 0.5 % de xanthane en fonction de KCl	78
Figure 4.6. Variation du module de perte de la solution à 0.5 % de xanthane en fonction de KCl	79
Figure 4.7. Variation du module de conservation de la solution à 0.5 % de xanthane en fonction de la variation de la concentration de CaCl_2	80
Figure 4.8-a-b-c. Courbes d'écoulements des solutions de xanthane en fonction de la variation de la concentration de KCl.	81
Figure 4.9-a. Courbe d'écoulement des solutions de xanthane à $d\gamma/dt$ faible	81
Figure 4.9-b. Courbe d'écoulement des solutions de xanthane à $d\gamma/dt$ fort	81
Figure 4.10-a. Courbe d'écoulement des solutions de xanthane à $d\gamma/dt$ faible	83
Figure 4.10-b. Courbe d'écoulement des solutions de xanthane à $d\gamma/dt$ fort	83
Figure 4.11. Variation du potentiel zêta en fonction de la force ionique : a : KCl, b : CaCl_2	84
Figure 4-12. Variation de ζ en fonction de la variation du pH à diverses [c] de KCl (a) et de CaCl_2 (b)	84
Figures 4-13-a et b. Variation du pI en fonction de la variation de la concentration du sel et du xanthane	85
Figure 4.14. Courbe de viscoélasticité de caséinate de sodium.	86
Figure 4.15. Courbe d'écoulement à différentes concentrations de caséinate.	87
Figure 4.16. Potentiel ζ à différentes concentrations du caséinate.	88
Figure 4.17. Variation du potentiel zêta en fonction de la variation de KCl des solutions de caséinate de sodium.	90
Figure 4.18. Variation du potentiel zêta en fonction de la variation de CaCl_2 des solutions de caséinate de sodium.	91

Figure 4.19. Variation du potentiel zêta en fonction du pH, en absence et en présence du sel.	92
Figure 4.20. courbe de viscoélasticité du mélange sans sel	93
Figure 4.21. courbe de viscoélasticité du mélange avec KCl	93
Figure 4.22. courbe de viscoélasticité du mélange avec CaCl ₂	94
Figure 4.23. variation de G ₀ ' en fonction de la concentration en caseinate avec le xanthane égale à 0.1%.	94
Figure 4.24.a, b.variation de G ₀ ' en fonction de la concentration en caseinate avec le xanthane égale à 0.3% et 0.5% respectivement	95
Figure 4.25 a b c. courbes d'écoulements associées aux mélanges sans sel, avec 6.31 mM de KCl et 0.63mM de CaCl ₂ respectivement avec le xanthane=0.1%	96
Figure 4-26. Variation de la viscosité apparente en fonction du Cn-Na, et du sel xanthane=0.1%	97
Figure 4- 27. Variation de la viscosité apparente du mélange en fonction du Cn-Na, à 0.3% de xanthane (a) et 0.5% de xanthane (b)	97
Figure 4.28 a-b. courbes d'écoulements avec 39.81 mM de KCl et 3.98 mM de CaCl ₂ respectivement avec le xanthane=0.3%.	98
Figure 4.29.Variation de la viscosité apparente du mélange dans le domaine d'adsorption en fonction du Cn-Na, à 0.3% de xanthane	99
Tableau 1.1 : application industrielle de la gomme xanthane	18
Tableau 4.1 Caractéristiques physico-chimiques du caséinate	72
Tableau 4.2 : Valeurs de G' ₀ et de G'' ₀ des solutions à base de 0.1% et de 0.3 % de xanthane, à diverses concentrations de KCl.	78
Tableau 4.3 : Valeurs des modules de conservation et de perte dans le domaine linéaire des solutions de caséinate de sodium.	86
Tableau 4.4 : Valeurs des modules de conservation et de perte dans le domaine linéaire des solution de caséinate de sodium à diverses concentrations de KCl.	89
Tableau 4.5 : Valeurs des modules de conservation et de perte dans le domaine linéaire des solutions de caséinate de sodium à diverses concentrations de CaCl ₂ .	90

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	10
1. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LES POLYSACCHARIDES ET LES PROTEINES	13
1.1. Généralités sur les polysaccharides	13
1.2. Protéines	18
2. INTERACTIONS PROTEINES/POLYSACCHARIDES/ELECTROLYTES	32
2.1. Introduction	32
2.2. Interactions moléculaires	32
2.3. Aspect thermodynamique des solutions de biopolymères	35
2.4. Phénomènes et mécanismes de floculation par déplétion	40
2.5. Interactions biopolymères/électrolytes en solution aqueuse	41
2.6. Effet du sel sur les interactions entre biopolymères	43
2.7. Conclusion	45
3. METHODES DE CARACTERISATION : RHEOLOGIE ET ZETAMETRIE	46
3.1. Caractérisation rhéologique	46
3.2. Caractérisation zétamétrique	63
4. ETUDE EXPERIMENTALE	71
4.1. Introduction	71
4.2. Matériels et méthodes	71
4.3. Résultats et discussions	74
CONCLUSION	100
Appendices	

A. Liste des symboles et abréviations

B. Les courbes viscoélastiques du xanthane .

C. les courbes d'écoulement des solutions de xanthane 0.1%, 0.3 % et 0.5% à diverses concentrations de CaCl₂.

D. les courbes d'écoulement des solutions de caséinate 0.5%, 1 %, 3% et 6% à diverses concentrations de CaCl₂ et KCl .

E. les courbes des viscosités apparentes du Cn-Na, associés à 10^{-3} s^{-1} et 10^3 s^{-1} .

F. courbes de viscoélasticité associées aux mélanges dépourvu de sel, en présence de 6.31% mM de Kcl et 0.63% de CaCl₂ respectivement, xanthane=0.1% et 0.3%.

G. Les courbes d'écoulements associées à des concentrations de xanthane 0.3 % et 0.5%.

REFERENCES

INTRODUCTION

Les propriétés fonctionnelles des protéines et des polysaccharides apportent une diversité de qualités organoleptiques aux aliments. Le comportement de ces macromolécules est grandement influencé par la présence d'autres constituants. Ceci s'illustre, entre autres, par les interactions entre les protéines et les polysaccharides présentes lorsque certaines conditions sont rencontrées. L'intensité et la nature des interactions varient selon la nature et la concentration des biopolymères et les conditions du milieu telles que le pH, la force ionique et la température.

Les interactions répulsives entre les protéines et les polysaccharides sont majoritairement dues à des effets de volume exclu et à des interactions électrostatiques. Ces interactions sont surtout rencontrées lorsque les biopolymères portent des charges nettes de même signe. Les interactions répulsives entre les protéines et les polysaccharides en mélange peuvent induire une séparation de phases où chacune des phases est enrichie en l'un ou l'autre des biopolymères. Cette immiscibilité peut être exploitée pour créer de nouvelles textures [1].

Par ailleurs, la plupart des produits alimentaires formulés à base de ces deux biopolymères nécessitent un enrichissement avec des sels minéraux, qui sont absolument nécessaires à la vie au même titre que les lipides, les glucides, les protides et les vitamines. Toutefois, la présence de ces sels peut affecter les propriétés rhéologiques et physico-chimiques ainsi que la stabilité de ces produits [2].

Des études sur l'influence des électrolytes sur la stabilité des systèmes colloïdaux ont démontré que selon la valence, la solubilité et le type d'ion du sel, les forces de répulsion

électrostatiques peuvent être réduites par la compression de la double couche électrique et de l'adsorption spécifique des ions [3,4]. Ainsi, l'ajout de sels à une solution de lactoglobuline (β -lg) favorise les interactions non polaires en neutralisant les charges de la protéine. Le calcium induit des distorsions structurales locales dans la protéine native en formant des ponts intramoléculaires [5]. Ces ponts calciques augmentent l'hydrophobicité de la protéine et la réactivité des groupements sulfhydryles. Selon SCHMIDT [6], l'association des monomères de caséine a été favorisée en augmentant la concentration ionique et en diminuant le pH. Ceci est vraisemblablement dû à la réduction des répulsions électrostatiques.

La viscosité des solutions diluées de xanthane et de caséinate de sodium varie linéairement avec l'inverse de la force ionique I . Elle décroît si la concentration en KCl augmente, comme on l'observe généralement pour les polyélectrolytes [7]. L'introduction d'un sel multivalent dans une solution de xanthane aura pour effet d'augmenter considérablement la force ionique I du milieu. A cet effet, s'ajoute les mécanismes de complexation pouvant impliquer les deux charges des chaînons latéraux du xanthane [7].

L'addition de chlorure de calcium diminue très fortement le potentiel zêta des micelles de caséines. Le chlorure de sodium affecte aussi le potentiel zêta, mais de manière moins marquée. Une addition de CaCl_2 peut finir par provoquer la fusion des micelles en supprimant les répulsions électrostatiques mais aussi en permettant l'établissement de ponts calciques.

L'addition de sels diminuerait les répulsions électrostatiques et augmenterait les associations protéine-protéine. L'eau liée aux protéines serait alors moins mobile, ce qui conduirait à une augmentation du taux de relaxation [8].

Le but de ce travail est d'étudier l'effet que peut provoquer le sel par sa valence et sa force ionique, sur les interactions d'incompatibilité thermodynamique ou de floculation par déplétion entre le caséinate de sodium et le xanthane.

Deux sels, à savoir le KCl et le CaCl_2 ont été choisis pour rendre compte des effets physicochimiques, en terme d'effet écran et d'adsorption sur les sites anioniques des deux biopolymères. Les techniques de caractérisation utilisées à cet effet, s'appuient sur la rhéologie dans le domaine linéaire et non linéaire ainsi que la zêtamétrie.

La présente étude est composée de deux parties, une partie théorique composée de trois chapitres :

- Dans le premier chapitre on donne un aperçu sur les polysaccharides et les protéines.
- Le second est consacré à une étude sur les interactions entre les deux biopolymères et les électrolytes.
- Dans le troisième, un aperçu sur les méthodes de caractérisations rhéologiques et zétamétrique est donné.

La partie expérimentale est composée de deux parties :

- Une étude physico-chimique et rhéologique des deux biopolymères séparément.
- Une étude physico-chimique et rhéologique du mélange.

On achèvera l'étude par une conclusion générale.

CHAPITRE 1

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LES POLYSACCHARIDES ET LES PROTEINES

1.1 Généralités sur les polysaccharides

1.1.1 Quelques éléments sur les carbohydrates

Les carbohydrates ont pour formule générale $-C_n (H_2O)_n-$ et sont scindés en trois sous-ensembles .

- Les oses (ou monosaccharides) : ce sont des polyalcools de 4 à 8 atomes de carbone, composés réducteurs, non hydrolysables. Ils comportent une fonction aldéhyde ou une fonction cétone.
 - les osides (ou oligosaccharides) : ce sont des enchaînements de 2 à 10 oses. Ces oses sont sous forme cyclique, reliés par des liaisons glycosidiques, c'est-à-dire des liaisons éthers entre deux carbones de deux cycles successifs. Ils donnent par hydrolyse un ou plusieurs oses.
 - Les polysaccharides (osides de haut poids moléculaire) : oses reliés en longues chaînes linéaires ou ramifiées, structurés en arrangements spatiaux particuliers (hélice, ruban...).
- L'hydrolyse acide des oligosaccharides ou des polysaccharides conduit à la libération d'homologues de masse inférieure et à des monosaccharides [7].

1.1.2 Origine du xanthane

Le xanthane est un polysaccharide exocellulaire produit par «Xanthomonas campestris» intervenant dans le métabolisme de certains végétaux. Il a été découvert en 1940 par des scientifiques américains cherchant la cause d'une maladie affectant les végétaux : un produit visqueux (le xanthane), secrété par ladite bactérie, obstruait les pores respiratoires de ces plantes [7].

De nombreuses industries exploitent les propriétés rhéologiques remarquables du xanthane. Il est utilisé comme épaississant dans l'agroalimentaire sous la dénomination E 415 (assaisonnements, sauces, crèmes, glaces). En cosmétique, il est présent dans les

dentifrices, les crèmes ou les gels. Il sert d'excipient pour le relargage contrôlé de principes actifs pharmaceutiques. L'industrie pétrolière l'utilise pour la récupération assistée du pétrole en tant qu'agent viscosant. La liste des applications est encore longue (peintures, vernis, explosifs...) et rend compte de l'importance de ce produit [7].

1.1.3 Structure chimique du motif du xanthane

La composition chimique de référence du motif a été établie par Jansson et al. en 1975 [9] et confirmée par Melton et al. en 1976 [10]. Il existe de multiples travaux antérieurs mais l'ensemble des références plus récentes semble s'accorder sur le motif décrit par Jansson représenté sur la figure 1.1

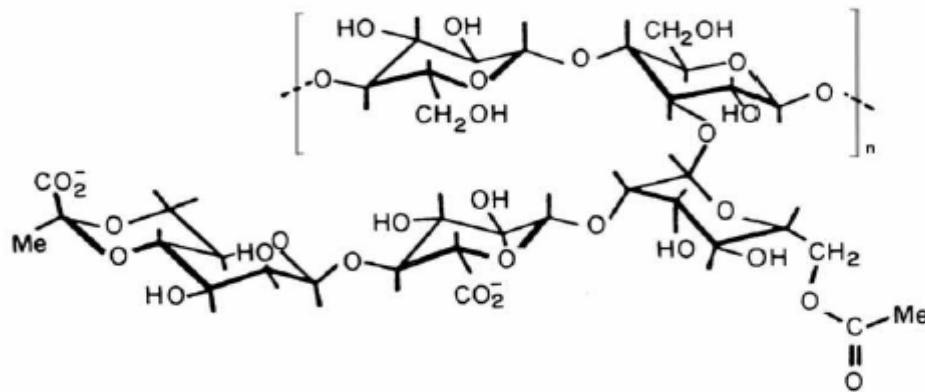


Figure 1.1 : Formule développée du motif du xanthane

Trois fonctions apparaissent sur les cycles de la chaîne latérale du motif :

- un groupement acétate sur le cycle le plus proche du squelette principal
- un acide glucuronique sur le cycle intermédiaire
- un acide pyruvique sur le cycle terminal.

Du fait de la présence des deux charges négatives (les deux acides), le xanthane devrait avoir théoriquement le comportement en solution d'un polyélectrolyte anionique.

1.1.4 Organisation moléculaire du xanthane en solution

Le xanthane est une molécule à haut poids moléculaire. Les masses couramment rencontrées pour ce polymère sont supérieures à 10^6 g/mol [10]. Les rayons de giration (R_g) déterminées par diffusion statique de la lumière pour ces molécules dépassent la centaine de nanomètres. Sato et al. [11] mesurèrent par exemple les R_g suivants dans 0,1

M NaCl : 378 nm pour une masse de $7,4 \cdot 10^6$ g/mol, 257 nm pour $3,9 \cdot 10^6$ g/mol, 208 nm pour $2,6 \cdot 10^6$ g/mol, 108 nm pour $1,0 \cdot 10^6$ g/mol.

Par ailleurs, la longueur de persistance des molécules de xanthane est aussi très élevée. Elle est la somme de deux contributions essentielles : une contribution intrinsèque L_0 liée à la chimie du motif (présence de cycles, encombrement stérique, liaisons hydrogène entre squelette principal et chaînons latéraux), et une contribution électrostatique L_e due à la répulsion des charges de la macromolécule.

$$L_p = L_0 + L_e \quad \text{Eq.1.1}$$

L_p est de l'ordre de 100 nm. On conçoit ainsi que les molécules individuelles de xanthane puissent être considérées comme semi-rigides pour les plus hautes masses moléculaires et comme des bâtonnets rigides pour les molécules de faible masse.

1.1.5 Conformations du xanthane à l'état dilué

1.1.5.1 Transition ordre-désordre

Les macromolécules de xanthane en solution aqueuse subissent une transition conformationnelle au-delà d'une certaine température T_m « melting temperature ».

La valeur de T_m est fortement dépendante de la force ionique I de la solution. Milas et Rinaudo [12] obtiennent une variation linéaire de T_m en fonction du logarithme de la force ionique du milieu (somme de la contribution des contre-ions du polymère et de celle des ions d'un éventuel ajout de sel). T_m vaut 45°C pour une solution concentrée de xanthane (10 g/l, $M_w = 3,6 \cdot 10^6$ g/mol) sans addition de sel c'est-à-dire pour $I = 0,01$ M. Elle s'élève à 78°C si $I = 0,05$ M.

Au-dessous de T_m , la molécule est dans un état ordonné. Lorsque la température dépasse T_m , l'ordre conformationnel fond. Ainsi, la température et la salinité des solutions déterminent la conformation des molécules de xanthane dans le solvant. Dans des conditions peu salines et/ou à des températures élevées, la conformation adoptée par la macromolécule est celle d'une pelote désordonnée, flexible. A l'inverse, si la salinité est forte et/ou si l'on se place à température ambiante, la macromolécule adoptera une conformation ordonnée, semi-rigide ou rigide.

Il a été établi par ailleurs que le degré de substitution des fonctionnalités acétate et pyruvate de la chaîne latérale affecte aussi la température de transition. Le groupement pyruvate, porteur d'une charge, déstabilise la forme ordonnée du fait des répulsions

électrostatiques qu'il occasionne (il diminue T_m). Au contraire, le groupement acétate permet d'établir des liaisons hydrogène et participe donc à la stabilisation de la forme ordonnée (il augmente T_m).

De plus, cette transition semble ne pas être réversible [13] : un échantillon « natif » de xanthane transitera vers un état « dénaturé » au-delà de T_m (par abaissement de la force ionique ou par chauffage), puis lors du refroidissement, ne reprendra pas nécessairement sa conformation initiale et se trouvera dans un état dit « renaturé ».

1.1.5.2 Etat natif

L'état natif correspond à la conformation adoptée par la macromolécule après dissolution complète de la poudre de polymère dans l'eau à température ambiante. C'est une structure hélicoïdale (le diamètre de l'hélice est de quelques nanomètres) où les ramifications sont alignées le long du squelette principal et assurent la rigidité de la structure.

De plus, les macromolécules s'associent deux à deux en « double hélice » (à l'instar de l'ADN) pour former un état ordonné plus rigide encore. L'état ordonné peut résulter aussi de structures hybrides où une séquence ordonnée coexiste avec une séquence désordonnée au sein d'une même macromolécule.

1.1.5.3 Etat dénaturé

L'état dénaturé est observé à une température supérieure à T_m . Il résulte du déploiement des chaînes latérales du polymère. A température ambiante, les ramifications du polymère interagissent avec le squelette principal par des liaisons hydrogène qui créent un ordre local. L'agitation thermique (ou une baisse de force ionique) provoque la rupture de ces liaisons, permettant à la macromolécule de s'étendre. Il peut en résulter un découplage du double brin en deux simples brins. Cet état peut aussi être interprété comme une structure hybride où cette fois les portions ordonnées, rigides seraient largement minoritaires [14], de manière à former globalement des ensembles plus flexibles de type pelote expansée.

1.1.5.4 Etat renaturé

Lors du retour à la température ambiante (ou par l'augmentation de la force ionique), la nature de la structure adoptée n'est pas clairement établie. La molécule est semi-rigide et

en double brin même si la conformation diffère de celle de l'état initial : l'éventualité d'un processus d'association intramoléculaire par repliement d'un simple brin type « épingle à cheveux » n'est pas exclue. Il est probable aussi que des agrégats (micro gels) apparaissent (même en solution diluée).

1.1.6 Conformation à l'état concentré

En solution diluée, la dénaturation de la molécule de xanthane se traduit par une dissociation irréversible de la double hélice en deux monofilaments. Et la renaturation s'effectue probablement selon un processus intramoléculaire à masse macromoléculaire constante n'impliquant qu'un seul brin.

En solution plus concentrée, au-delà de 1 % en polymère, la dénaturation a lieu sans dissociation des deux brins de la double hélice ou avec dissociation partielle, limitée aux extrémités de chaînes [14]. La perte de l'ordre local par ouverture des chaînes latérales rend plus flexible l'ensemble, mais la structure de double hélice est globalement conservée.

L'enchevêtrement des chaînes est cependant rendu possible par le gain en flexibilité lors de la montée en température. Parallèlement, des zones de jonctions intermoléculaires apparaissent et créent un réseau tridimensionnel qui renforce le caractère de type « gel faible » (gel physique) de la solution [15]. La salinité favorise la création de ces ponts intermoléculaires lors de la montée en température, et à forte concentration en sel la forme ordonnée peut même être conservée : le sel diminue l'activité des molécules d'eau donc leur potentiel de coordination par liaisons H aux groupements latéraux.

1.1.7 Effet de sel monovalent en milieu dilué

La viscosité des solutions diluées de xanthane varie linéairement avec l'inverse de la force ionique I . Elle décroît si la concentration en sel augmente, comme on l'observe généralement pour les poly électrolytes.

1.1.8 Effet de sels bivalents

L'introduction d'un sel multivalent dans une solution de xanthane aura pour effet d'augmenter considérablement la force ionique I du milieu. Pour une concentration identique à celle d'un sel monovalent, I sera Z^2 fois plus grande si Z représente la valence de l'ion [7].

A cet effet s'ajoute les mécanismes de complexation pouvant impliquer les deux charges des chaînons latéraux du xanthane (portées par les deux dérivés du groupement carboxylique : acide glucoronique et acide pyruvique) et les cations du sel [7].

1.1.9 Application de la gomme xanthane

L'utilité de la gomme xanthane dans le domaine alimentaire n'a pas de limite, elle est employée intensivement comme additif pour les nourritures et des boissons. La liste des exemples est très longue à citer. Les applications industrielles du xanthane sont résumées dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1 : application industrielle de la gomme xanthane [16]

Secteurs d'applications	Doses d'utilisation	Fonctions du xanthane
-Crème, fromage -Nappages et fourrages	0.05% à 0.3%	-Evite la synérèse -Stabilise les mousses et les émulsions -Confère à la texture des propriétés rhéologiques d'écoulement
- Produits carnés (pâtés, saumures)	0.2% à 0.5%	-Liant de l'eau et des matières grasses - Evite la synérèse
- Produits diététique et de régime	0.1% à 0.5%	-Améliore la texture
- Produits de soin : crème et lotions, dentifrices.	0.2% à 1%	-Stabilise les émulsions -Améliore la texture
-Agrochimie	0.1% à 0.3%	- Contrôle de la sédimentation
-Agent de nettoyage	0.1% à 0.7%	- Agent liant -Stabilise le pH

1.2 Protéines

1.2.1 Introduction

Une protéine est un biopolymère constitué de plusieurs acides aminés (un poly peptide). Chaque acide aminé peut être schématisé par un atome de carbone (carbone α) sur lequel sont fixés un groupement carbonyle, un groupement amine et une chaîne latérale. Ces chaînes latérales sont généralement des chaînes ou des cycles de carbone,

comportant différents groupements fonctionnels [17]. La figure 1.2 montre la structure de base d'un acide α aminé.

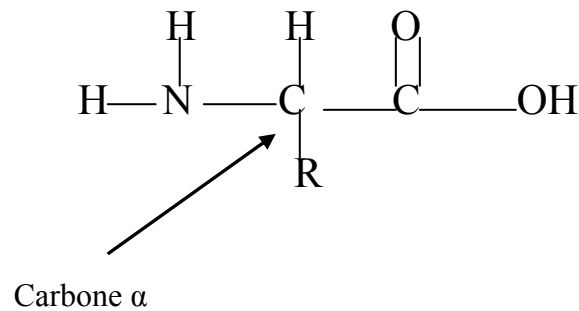


Figure 1.2 : structure d'un acide α aminé

Les radicaux des acides aminés ont des propriétés chimiques différentes. Il peut donc y avoir dans une chaîne d'acides aminés des interactions entre les radicaux. Certains se repoussent et d'autres se rapprochent et forment des liens chimiques. La chaîne d'acides aminés aura donc tendance à se replier sur elle-même pour adopter une structure tridimensionnelle précise. Quatre grands types d'interactions interviennent dans le repliement de la chaîne [18], comme le montre la figure 1.3.

- Effet hydrophobe

Les acides aminés dont les radicaux sont hydrophobes ont plus d'affinité entre eux qu'avec les molécules d'eau entourant la protéine. La chaîne a donc tendance à se replier de façon à les regrouper entre eux au centre de la molécule, sans contact direct avec l'eau. Inversement, les acides aminés hydrophiles ont tendance à se disposer à la périphérie de façon à être en contact avec l'eau.

- Les liaisons ioniques

Les radicaux qui s'ionisent positivement forment des liaisons ioniques avec ceux qui s'ionisent négativement.

- Les liaisons hydrogènes

- Les ponts disulfure

Deux des 20 acides aminés ont des radicaux contenant un atome de soufre. C'est le cas de

la cystéine. Deux cystéines peuvent former une liaison covalente entre elles par l'intermédiaire de l'atome de soufre de leur radical. Cette liaison covalente peut relier deux cystéines éloignées l'une de l'autre sur la chaîne [18].

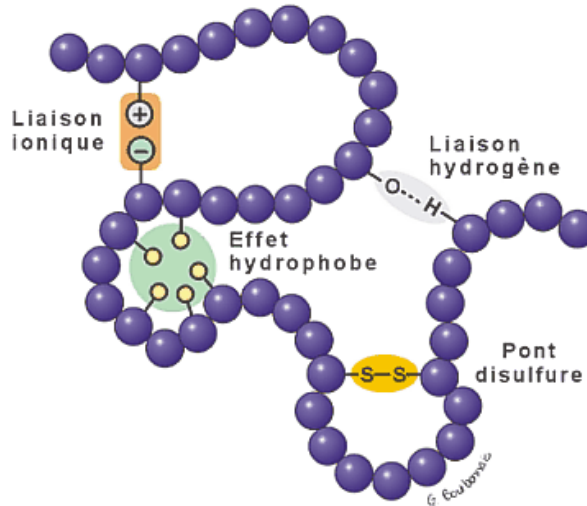


Figure 1.3 : Types d'interactions intervenant dans le repliement de la chaîne [18]

Certaines parties des chaînes d'acides aminés adoptent une structure régulière appelée structure secondaire. On reconnaît deux grands types de structure secondaire (figure 1.4)

- L'hélice alpha

Dans la structure dite en hélice alpha, la chaîne d'acides aminés prend la forme d'un tire-bouchon. Les différentes spires sont stabilisées par des liaisons hydrogène.

- Le feuillet bêta

Dans un feuillet bêta, il se forme des liaisons hydrogènes entre certains segments de la chaîne disposés parallèlement les uns par rapport aux autres. L'ensemble forme comme une membrane plissée.

La forme finale de la chaîne d'acides aminés, c'est à dire la structure tridimensionnelle finale qu'adopte la chaîne d'acides aminés, constitue la structure tertiaire de la protéine [18].

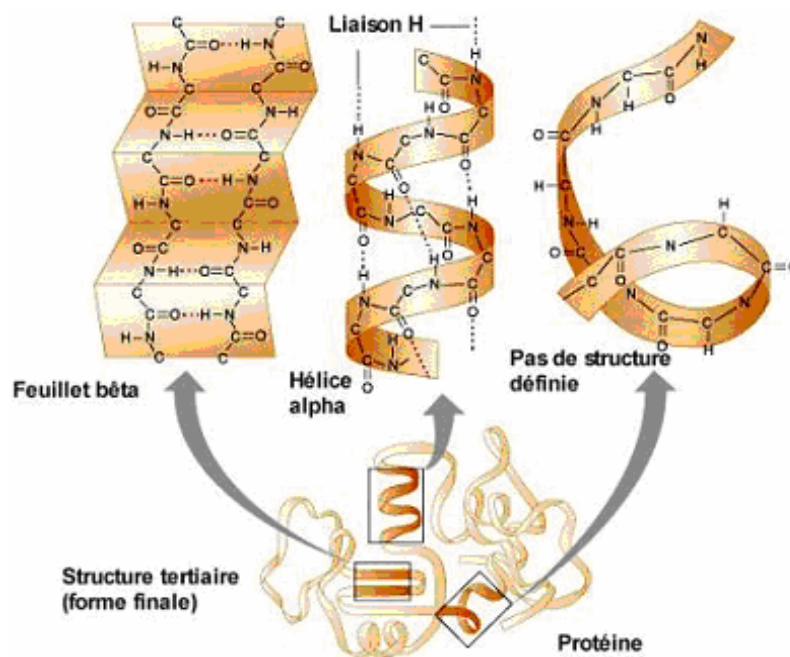


Figure 1.4 : Structure tertiaire de la protéine [18]

1.2.2 Caséines et caséinates

1.2.2.1 Introduction

Les protéines du lait sont largement évaluées pour leurs propriétés émulsifiantes. Le comportement et la stabilité des émulsions huile dans eau à base de protéines du lait sont liés à la structure et aux propriétés mécaniques des couches adsorbées à la surface des gouttelettes [19]. Indépendamment de leurs propriétés émulsifiantes, les protéines de lait sont des molécules polymériques et se comportent en tant que tels dans des systèmes alimentaires, particulièrement une fois mélangées à des polysaccharides [20].

1.2.2.2 Micelles de caséine

Actuellement deux techniques principales sont utilisées pour mesurer la taille de micelle:

- . Les méthodes granulométriques à diffraction de faisceaux laser.
- . Les méthodes de microscopie électronique à balayage avec analyse d'image.

La forme est considérée comme sphérique mais avec une surface granuleuse la faisant ressembler à une framboise, et qui traduirait la présence de submicelles. Le diamètre moyen généralement admis est voisin de 180 nm quelle que soit la technique d'analyse utilisée ; avec une distribution entre 100 et 500 nm [20]. D'après des mesures viscosimétriques ou de diffusion de lumière, on estime que la masse micellaire doit être

comprise entre 0.5 et 1.10^9 Da. La micelle contient environ 92 à 93% (m/m) de protéine, la proportion des différentes caséines étant variable. Le rapport moyen dans la micelle $\alpha_{s1} / \alpha_{s2} / \beta / \kappa$ est d'environ 4/1/3,7/1,4. La proportion de caséine κ serait plus forte dans les submicelles périphériques [8].

Les micelles contiennent une partie minérale (8% du poids sec) comportant 90% de phosphate de calcium, 10% d'ions citrate et de magnésium (2.9% de **Ca**, 0.1% de **Mg**, 3.4% d'ions phosphate, 0.5% d'ions citrate) [8].

1.2.2.3 Différents concepts de la structure micellaire

Trois modèles théoriques se sont toujours opposés sans pour autant s'exclure totalement :

❖ Modèle « cœur- enveloppe

Deux théories se sont affrontées [8]:

- Le modèle de Waugh et al. qui est basé sur la présence de complexes α_s et β caséiniques au cœur de la micelle en présence de calcium, leur précipitation est évitée par la formation de complexes caséine α_{s1} / caséine κ situées en mono couches à la surface de la micelle (enveloppe) ;
- Au contraire Parry et Carroll ne réussirent pas à localiser la caséine κ en surface de la micelle par immunochimie ; ils en conclurent que la caséine κ peut servir de point de nucléase sur lequel les caséinates de calcium insolubles peuvent être fixés et stabilisés.

❖ Modèle de structure interne uniforme

C'est le modèle de Garnier et Ribadeau-Dumas [8]. C'est un modèle basé sur les propriétés des monomères de caséine dont on venait d'élucider la séquence et leur répartition uniforme (en proportion constante) dans la micelle. Un trimère de caséine κ se lie à trois chaînes de caséine α_{s1} et β qui peuvent elles- même s'associer à d'autres caséines κ . Ce modèle de réseau a été proposé très ouvert et poreux car des macromolécules comme des protéases pouvant agir à l'intérieur de la micelle.

❖ Modèle à sous unités (submicelles)

Il fut proposé par Shimmin et Hill en 1964 et fut repris par Mon en 1967 [8]. Celui-ci suggère, à la suite d'observations en microscopie électronique, que la micelle est composée de submicelles structurées comme le modèle micellaire de Waugh mais reliées entre elles par du phosphate de calcium (figure 1.5).

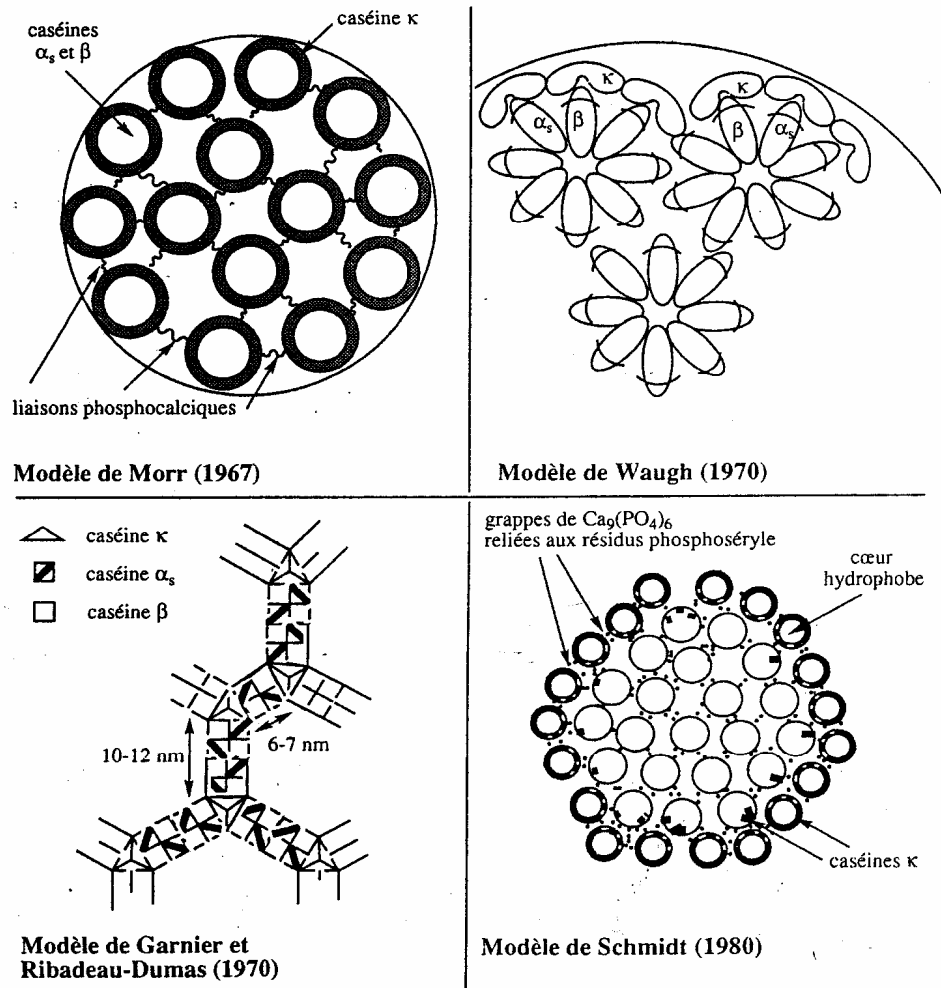


Figure 1.5 : Aperçu historique de quelques modèles de micelle de caséine [8]

I.2.3 Les unités protéiniques constituant la micelle de caséine

I.2.3.1 La caséine α_{s1}

La caséine α_{s1} est la protéine la plus abondante du lait : 10 g.l⁻¹ pour 26 g.l⁻¹ de caséine (α , β , κ et γ) et 33 g.l⁻¹ de protéine au total.

❖ La structure primaire de caséine α_{s1}

Composée de 199 résidus d'acides aminés, la caséine α_{s1} ne possède pas de résidu de cystéine. Cette protéine possède un point isoélectrique bas (pI = 4,97) et est chargée très négativement -20,9 mV à pH = 6,6. Riche en résidus hydrophobes, cette protéine possède une hydrophobicité global élevée (4,89 KJ /résidu) [8].

❖ La structure secondaire de la caséine α_{s1}

Il a été possible de déterminer par une méthode faisant appel à la spectrométrie laser Raman à haute résolution que la caséine α_{s1} est surtout structurée par des courbures β [21].

❖ La structure spatiale de la caséine α_{s1}

Sur les huit résidus de sérine phosphate, sept se trouvent regroupés dans une portion très « acide » (43–80) qui contient douze fonctions carboxyliques. La plupart des résidus phosphosérine sont situés sur une courbure β . Le segment 100–199 quant à lui est très hydrophobe (7 des 9 résidus de tyrosine de la caséine α_{s1} s'y trouvent) avec de nombreux feuilletts β . Il permettrait d'expliquer la forte propension des caséines α_{s1} à associer entre elles, probablement par des interactions inter-protéiniques entre feuilletts β . La zone 140 – 199 de la caséine α_{s1} et la zone 35 – 61 de la caséine κ sont à la fois si hydrophobes et si bien exposées que l'hypothèse d'interactions hydrophobes fortes entre ces régions de caséines semble la plus plausible pour expliquer l'association des caséines α_{s1} et κ en submicelles (figure 1.6) [8].

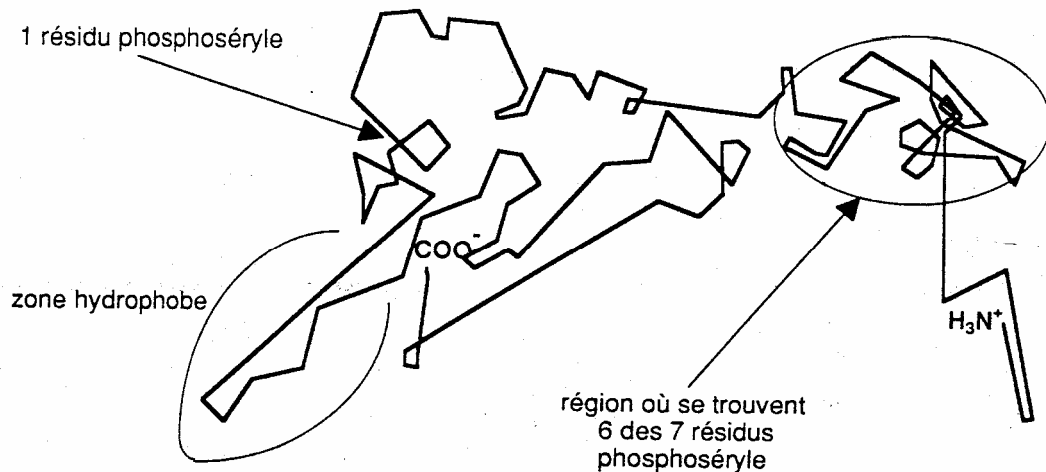


Figure 1.6 : Modèle de structure III de la caséine α_{s1} [8]

I.2.3.2 La caséine α_{s2}

Le lait contient en moyenne 2,6 g/l de caséine α_{s2} , sa masse moléculaire oscille entre 25 150 et 25 400 Da [8].

❖ La structure primaire de la caséine α_{s2} :

Ces caséines possèdent l'hydrophobicité moyenne la plus faible des caséines : $H\Phi_{\text{moyen}} = 4,64$ KJ/résidu, les régions hydrophobes comme la région 90 – 120 et les régions hydrophiles qui sont les séquences C – terminales et N – terminales sont très bien individualisées, ce qui se traduit par un bon équilibre entre l'hydrophilicité et l'hydrophobicité [8].

❖ La structure secondaire et spatiale de la caséine α_{s2} :

Peu d'études ont été réalisées pour dévoiler les structures II et III de la caséine α_{s2} . On sait seulement que la caséine α_{s2} existe sous forme de dimères ($\alpha_{s2} - \alpha_{s2}$) dans la micelle. Il n'existe visiblement pas de trimère de caséine α_{s2} .

I.2.3.3 La caséine β

La caséine β est présente en très forte proportion dans le lait (9,3 g/l en moyenne dans le lait sur les 26 g/l de caséine au total). Sa masse moléculaire est d'environ 24 000 Da [21].

Cette protéine a toutes les caractéristiques moléculaires essentielles d'un excellent agent émulsifiant et d'un stabilisant polymérique. C'est un polyélectrolyte linéaire flexible

avec une charge nette de (-15 e- à pH=7). La caséine bêta a une structure secondaire ordonnée et ne représente aucune réticulation covalente intramoléculaire. La distribution non uniforme des résidus hydrophiles et hydrophobes dans la bêta caséine, résulte une structure moléculaire distinctement amphiphilique qui ressemble à un agent tensioactif hydrosoluble [21].

❖ La structure primaire de la caséine β :

De toutes les caséines, la caséine β possède l'hydrophobicité moyenne la plus forte avec une valeur de 5,58 KJ/résidu. C'est aussi la protéine où la répartition en une zone hydrophobe (C-terminale) et une zone hydrophile (N-terminale) est la plus marquée.

En ce qui concerne la partie hydrophile, la région N-terminale 1-21 possède une charge nette à pH = 6,6 égale à -12 mV. Les cinq résidus de phosphosérine que possède la caséine β et qui sont situés sur la seule zone 1- 37, et la présence de 7 groupes carboxyliques sur cette zone 1-21 expliquent la forte électronégativité de la zone N-terminale et donc son caractère très hydrophile. Concernant la partie hydrophobe, la caséine β possède des zones sans charge (49-90 et 149-168). Au total, le segment 49-209 est très peu chargé et très hydrophobe [8].

❖ La structure spatiale de la caséine β :

Globalement de forme ellipsoïdale, cette protéine asymétrique est constituée de nombreuses circonvolutions qui laisseraient un espace libre pour les molécules d'eau (telle une éponge). Les enchaînements Pro-Pro, qui sont à l'origine de ces boucles, forment des segments hydrophobes rigides, tout à fait favorables à l'instauration d'interactions hydrophobes entre protéines (figure 1.7).

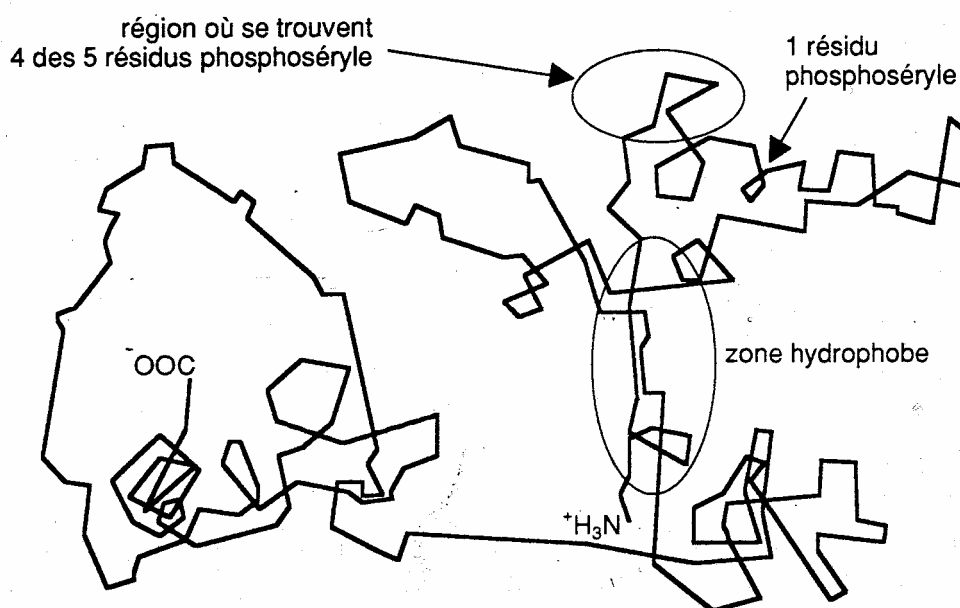


Figure 1.7 : Modèle de structure III de la caséine β [8].

I.2.3.4 La caséine κ et son rôle stabilisant

La caséine κ , bien que non majoritaire dans la micelle (3,3 g/l de lait), est la protéine laitière de loin la plus étudiée car elle détient le rôle clef dans la coagulation du lait par la présure.

Elle est l'un des constituants de la caséine entière le plus intéressant par sa composition et les propriétés qui en découlent. En présence de calcium (à 0.3M et à 25°C), on remarque qu'il y a une rupture du complexe de caséine. Les caséines Alpha -s et Bêta précipitent, tandis que la fraction Kappa reste en solution. Elle est pauvre en phosphore, en revanche, la teneur en serine et en thréonine est remarquable ainsi qu'en cystéine et les acides aminés soufrés. Une particularité de toutes les caséines, la caséine Kappa contient une fraction glycidique formée d'une ou plusieurs séquences d'acides sialiques fixées sur une seule chaîne peptidique (figure 1.8). De poids moléculaire égale à 19000, elle est formée par 169 résidus d'acide aminés [22].

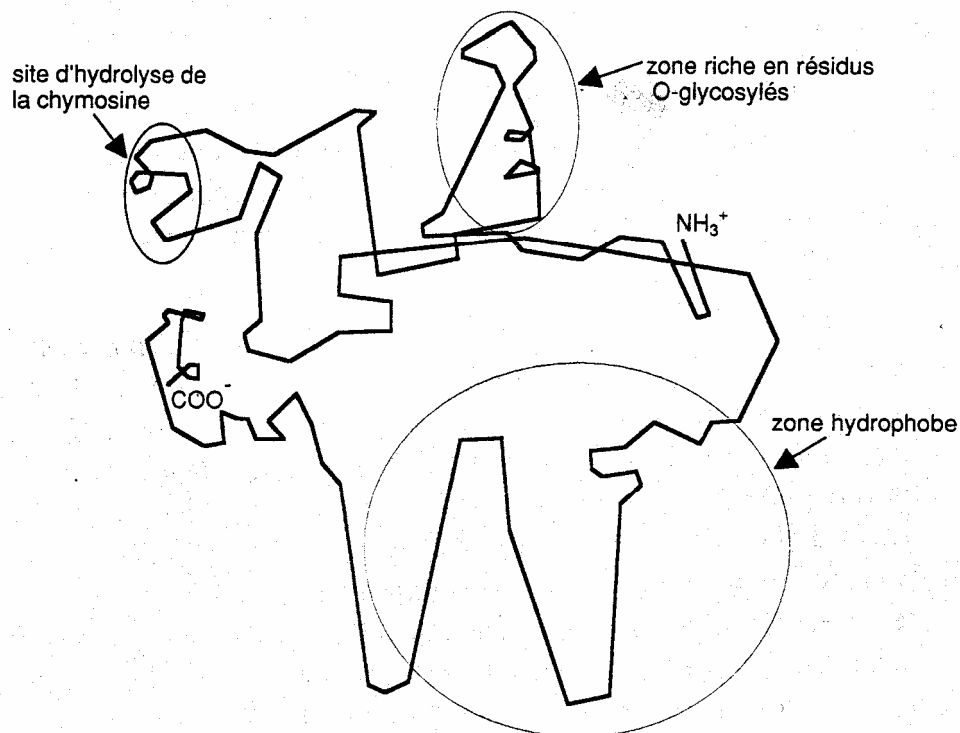


Figure 1.8: Modèle de structure III de la caséine κ [8]

I.2.4 Une architecture générale de la micelle très hiérarchisée [8]

La micelle serait constituée de submicelles de caséines β et α_{s1} au cœur et de submicelles de caséines α_{s1} , α_{s2} et κ en périphérie, exposées au solvant (figure 1.9). Les submicelles externes exposeraient les monomères et les polymères de caséines κ vers le milieu dispersant. Le côté intérieur de la submicelle, tourné vers le cœur de la micelle, serait constitué exclusivement de caséines α_{s1} et α_{s2} . Une faible quantité de caséine β cependant pourrait s'y trouver aussi. La position interne de la caséine α_{s2} semble être confirmée par son aptitude à l'hydrolyse par la chymosine quand elle est isolée en solution. Or, lors d'un emprésurage du lait, il semble bien que la chymosine n'hydrolyse pas la caséine α_{s2} , ce qui tend à démontrer son inaccessibilité.

Les submicelles internes seraient liées en partie par des compactages hydrophobes mais surtout grâce à des liaisons ioniques par l'intermédiaire de phosphate inorganique de calcium. Elles contiendraient essentiellement de la caséine α_{s1} et de la caséine β en quantités équimolaires. On trouverait cependant une faible quantité de caséine κ qui par sa partie C-terminale formerait une chevelure dont l'épaisseur varierait selon les caractéristiques de milieu.

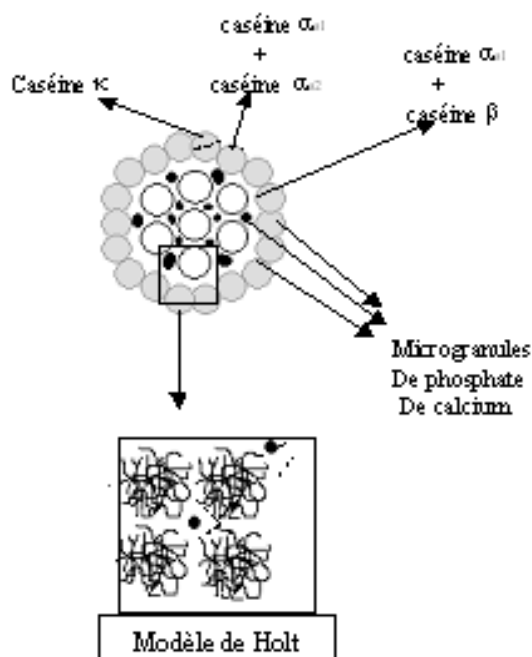


Figure 1.9 : Modèle de structure de micelle de caséines selon Ono et Obata confronté à celui de Holt [8]

1.2.5 Effet de l'addition de sels sur la micelle de caséine

L'addition de chlorure de calcium diminue très fortement le potentiel zêta des micelles. Le chlorure de sodium affecte aussi le potentiel zêta, mais de manière moins marquée. Une addition de CaCl_2 peut finir par provoquer la fusion des micelles en supprimant les répulsions électrostatiques mais aussi en permettant l'établissement de ponts calciques.

L'addition de sels diminuerait les répulsions électrostatiques et augmenterait les associations protéine-protéine. L'eau liée aux protéines serait alors moins mobile, ce qui conduirait à une augmentation du taux de relaxation [8].

1.2.6 Les caséinates

Les caséines sont des produits insolubles dans l'eau dans les conditions normales. A cet effet, les industriels ont cherché à avoir une forme soluble qui facilite leur utilisation. Plusieurs techniques ont été mises en œuvre, dans le but d'avoir des caséinates qui répondent aux exigences industrielles. Ces caséinates peuvent être obtenues à partir de la caillebotte, de la caséine sèche ou de la caséine acide [23, 24].

1.2.7 Les sels de caséinates

C'est en fonction de l'utilisation industrielle, que le fabricant a mis au point différentes caséinates qui répondent au mode de formulation en utilisant différents sels aux alcalis. Les caséinates utilisées couramment en industrie sont [25] :

- Caséinate de sodium (hydroxyde, bicarbonate, phosphate de sodium),
- Caséinate de potassium (hydroxyde, phosphate de potassium),
- Caséinate de calcium (hydroxyde, carbonate, phosphate de calcium),
- Caséinate de magnésium (hydroxyde, carbonate, phosphate de magnésium),
- Caséinate d'ammonium (hydroxyde d'ammonium).

On se limitera dans cette étude au caséinate de sodium qui fera l'objet de notre expérimentation.

Le caséinate de sodium est un mélange de plusieurs fractions, non seulement contenant les monomères principaux de la caséine (Alpha et Bêta), mais également d'autres fractions importantes tels que Kappa -caséine et Alpha s₂ -caséine, aussi bien que de petites quantités de sels minéraux (particulièrement les ions Ca²⁺). Les fractions de caséinates enrichies de la Bêta -caséine montrent une activité de surface et une capacité émulsifiante importante, mais réduisent la stabilité du film. Un comportement opposé est remarqué pour les fractions enrichies en Alpha-s et Kappa caséines [25].

Les solutions de caséinates de sodium contiennent des micelles secondaires avec un rayon hydrodynamique de 8.89 ± 1 nm et un assemblage supra moléculaire de 74 ± 4 nm et cela a été mis en évidence par le biais de la dispersion dynamique de la lumière (Dynamic Light Scattering) [26]. En utilisant de la dispersion de la lumière statique, Lucey et al. [27] ont montré que le rayon hydrodynamique des caséinates de sodium varie entre 20 et 70 nm. Cependant, une étude récente menée par Dickinson et al. [28] a montré que le rayon hydrodynamique était près de 100 nm. La taille ainsi que la forme exacte des molécules de caséinate de sodium restent à nos jours, en grande partie, inconnues [29] voir Figure 1.10.

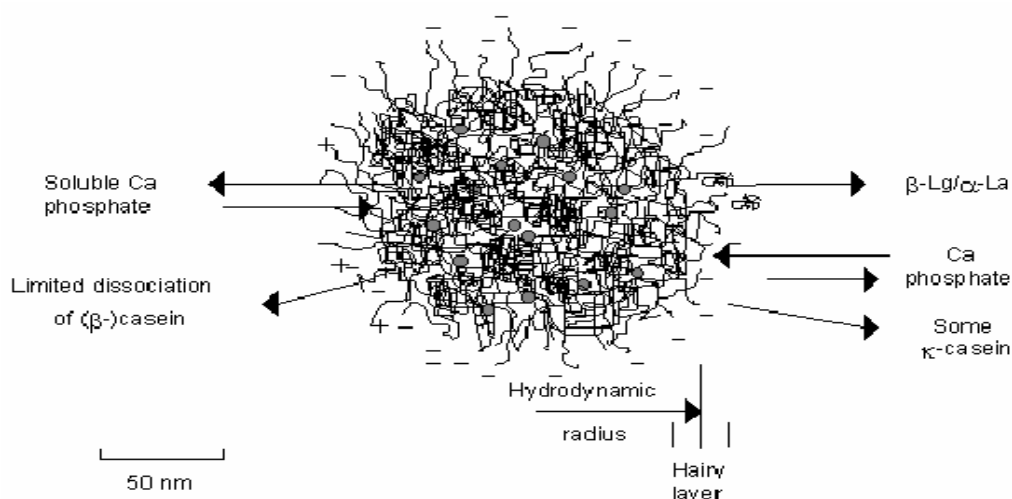


Figure 1.10: Structure de la micelle de caseinate

1.2. 8 Application des caséines et des caséinates

C'est par le passé, la principale utilisation de la caséine était la fabrication d'un plastique appelé galalithe, actuellement elle est employée dans les colles, les peintures, l'industrie du papier et des ciments à cause de son pouvoir liant. Dans l'industrie alimentaire, les caséines et caséinates sont utilisés pour leurs qualités nutritionnelles et fonctionnelles. Ainsi, la caséine est un ingrédient important dans les fromages fondus et des préparations diététiques [30].

Actuellement, l'utilisation de la caséine micellaire rentre comme celle de la caséine présure, presque exclusivement dans la fabrication fromagère afin d'augmenter le rendement.

Les caséinates ont une teneur en protéines sur extrait sec élevée (90 à 95%) et de très bonnes propriétés fonctionnelles. Ainsi, le caséinate de sodium est un bon émulsifiant et a une bonne capacité de rétention d'eau. Pour ces raisons, il est utilisé depuis fort longtemps en tant qu'émulsifiant dans l'industrie de la salaisonnerie. Les mêmes caractéristiques sont exploitées dans la préparation des plats cuisinés, des sauces et potages déshydratés, des crèmes glacées et fouettées. Les caséinates sont aussi utilisés, pour leur teneur élevée en protéines, dans la fabrication de biscuits protéinés, des imitations de fromage pour les pizzas et les plats cuisinés, en diététique, en nutrition clinique sous forme hydrolysée et dans l'industrie pharmaceutique [30].

CHAPITRE 2

INTERACTIONS PROTEINES/POLYSACCHARIDES/ELECTROLYTES

2.1 Introduction

Les solutions de biopolymères couvrent un très large spectre d'utilisation. La description de tels systèmes, repose sur trois termes essentiels qui sont la solubilité, la conformation et les interactions qui peuvent leur donner une structure macroscopique.

Les interactions entre biopolymères ont des effets très importants sur la stabilité et sur la texture des produits. Ils peuvent déterminer les propriétés rhéologiques et l'aspect du produit, aussi bien que son instabilité physique, reflétés dans les changements de l'uniformité ou la perte d'homogénéité. Beaucoup de facteurs, tels que la concentration en protéine, la gomme, la température, la vitesse de cisaillement, la force ionique peuvent induire de grosses interactions entre les particules et affecter la stabilité des systèmes colloïdaux alimentaires.

En effet, la catégorie de biopolymères considérée dans ce chapitre est basée essentiellement sur les protéines, et les polysaccharides qui sous certaines conditions physico-chimiques, vont interagir mutuellement en solution aqueuse [31].

2.2 Interactions moléculaires

Les interactions impliquées entre les molécules modifient leur comportement en solution. La force, la spécificité ainsi que la nature attractive ou répulsive des interactions sont variables. Les interactions moléculaires peuvent être classées de par leur nature covalente, électrostatique, due à des forces de van der Waals ou encore à des répulsions stériques [32]. Les interactions répulsives sont non spécifiques et proviennent de répulsions stériques ou d'interactions électrostatiques. Les interactions attractives peuvent être faibles ou fortes, spécifiques ou non spécifiques. Les liaisons covalentes sont spécifiques contrairement aux interactions électrostatiques, aux forces de van der Waals et aux interactions hydrophobes. Les interactions entre les molécules sont souvent exprimées sous la forme d'énergie potentielle [33]. L'énergie potentielle entre deux molécules dépend de leur position relative. La force nécessaire pour séparer deux molécules sphériques simples

d'une distance intermoléculaire r vers l'infini peut être exprimée par la différence d'énergie potentielle impliquée en fonction de la distance intermoléculaire .

$$F = - \frac{\partial \Gamma}{\partial r} \quad \text{Eq 2.1}$$

Où F est la force (N), Γ est l'énergie potentielle (J) et r la distance intermoléculaire (m).

Ainsi, plus les molécules sont éloignées, plus la force nécessaire à leur séparation est faible. La valeur négative d'énergie potentielle correspond au travail qui doit être effectué pour séparer ces deux molécules.

2.2.1 Liens covalents

Le lien covalent est permanent et spécifique. Il implique le partage d'électrons entre deux ou plusieurs atomes. Le lien covalent est court, entre 0,1 et 0,2 nm, et son énergie potentielle se situe entre 200 et 800 kJ·mol⁻¹ [34].

2.2.2 Interactions électrostatiques intermoléculaires

La connaissance de la polarisabilité et du moment dipolaire permanent d'une molécule, permet d'évaluer les interactions intermoléculaires. Comme ces interactions conditionnent un certain nombre de propriétés physiques couramment utilisées, pour la caractérisation des systèmes protéine- polysaccharides, il est nécessaire de rappeler l'origine de ces interactions.

2.2.2.1 Interactions d'orientation (Keesom)

Ces interactions sont dues, aux forces d'attraction entre dipôles électriques permanents, et conduisent à une énergie d'attraction (E) donnée par la relation (2.2), où μ_1 et μ_2 représentent les moments dipolaires des deux molécules [35]

$$E = - \frac{2}{3} \frac{\mu_1^2 \mu_2^2}{L^6} \frac{1}{KT} \quad \text{Eq 2.2}$$

Où L représente la distance entre les 2 dipôles, E , l'énergie, K , la constante de Boltzmann et T représente la température absolue.

2.2.2.2 Interactions d'induction (Debye)

Une molécule polarisable (de polarisabilité α_1), peut acquérir un dipôle induit sous l'influence d'une deuxième molécule de moment dipolaire (μ_2), ce qui conduit à une énergie d'attraction E , décrite par l'équation (2.3)

$$E = - \frac{\alpha_1 \mu_2^2 + \alpha_2 \mu_1^2}{L^6} \quad \text{Eq 2.3}$$

Où α_1 est la polarisabilité de la molécule 1, α_2 , la polarisabilité de la molécule 2, μ_2 , le moment dipolaire induit de la molécule 2, μ_1 , le moment dipolaire de la molécule 1 et L représente la distance entre les deux dipôles.

2.2.2.3 Répulsions stériques

Lorsque deux atomes sont proches l'un de l'autre, le recouvrement des nuages d'électrons crée une force répulsive les empêchant de s'approcher davantage. Cette force répulsive croît lorsque la distance entre les atomes devient inférieure à leur rayon. Les forces impliquées entre des molécules non sphériques dépendent aussi de leur orientation relative [33]. Par exemple, une molécule linéaire aura un point d'ébullition plus élevé qu'une molécule semblable mais ramifiée. Les ramifications diminuent les interactions intermoléculaires en empêchant l'alignement des molécules. De ce fait, l'énergie cinétique nécessaire à un changement de phases est moindre.

2.2.2.4 Interactions hydrophobes

Lorsque des molécules non polaires sont introduites dans un milieu aqueux, les molécules d'eau se réarrangent de manière à former des structures tétraédriques maintenues par des ponts hydrogènes polaires. En maximisant le nombre de ponts hydrogène, l'eau isole les molécules non polaires. Les interactions hydrophobes sont en fait des forces indirectes qui favorisent le regroupement des molécules non polaires suite à des interactions entre des molécules polaires. Les différents types d'interactions décrites dans cette section sont impliquées en proportions diverses dans les systèmes ternaires protéine/polysaccharide/eau [36].

2.2.3 Mouvement thermique brownien

Généralement dans les suspensions de macromolécules et de particules, le mouvement brownien a toujours lieu à des températures supérieures à 0 °K, où toutes les

particules ou molécules grandes ou petites, sont dotées d'une énergie libre du mouvement brownien.

2.3 Aspect thermodynamique des solutions de biopolymères

2.3.1 Solutions de biopolymères

La thermodynamique statistique est un puissant outil pour la description de telles solutions, et cela en se basant sur le calcul des grandeurs de mélange. La première loi de la thermodynamique démontre que l'énergie d'un système est conservée sous une forme ou une autre et ce peu importe les réactions impliquées. La deuxième loi de la thermodynamique exprime la tendance d'un système vers une augmentation d'entropie. L'énergie libre de Gibbs (G) est une équation d'état qui met en relation les deux premières lois de la thermodynamique lorsqu'une réaction se produit à température et pression constantes. L'énergie molaire libre de Gibbs correspond au potentiel chimique pour les substances pures et les gaz parfaits. Lorsque la température et le volume d'un système sont constants, l'énergie de Gibbs peut être remplacée par l'énergie libre de Helmholtz (A) [36].

L'énergie libre de Gibbs est la propriété thermodynamique la plus utilisée lors de l'étude de la stabilité de solutions composées de solvants et de solutés de nature alimentaire. La loi de Raoult est la première approche empirique développée pour des solutions simplifiées. Ces solutions dites idéales doivent avoir une enthalpie de mélange nulle. Elles doivent être composées d'un solvant et d'un soluté ayant des molécules de même taille. Le volume total des solutions doit être égal à la somme des volumes individuels des composés.

A cet effet, le calcul de ces grandeurs thermodynamique nous permet de classer les solution de biopolymères qu'on rencontre souvent comme suit :

- Solution idéale : Elle se caractérise par un $\Delta H_m = 0$ et $\Delta S_m = \Delta S_c$, où le terme ΔS_c représente l'entropie conformationnelle du biopolymère. C'est le cas idéal d'une solution de biopolymère où l'entropie de mélange (ΔS_m) est égale à l'entropie conformationnelle (ΔS_c).
- Solution athermique : Dans ce cas, on a l'enthalpie de mélange nulle d'une part, et d'autre part l'entropie de mélange est supérieure à l'entropie conformationnelle. Cet écart est du à l'existence d'un terme d'excès qui traduit les interactions entre les deux biopolymères $\Delta H_m = 0$ et $\Delta S_m > \Delta S_c$.

- Solution régulière : Dans ce cas, l'enthalpie de mélange n'est pas nulle, mais l'entropie de mélange est égale à l'entropie conformationnelle ($\Delta H_m \neq 0$ et $\Delta S_m = \Delta S_c$).

- Solution réelle : Dans ce cas on a $\Delta H_m \neq 0$ et ΔS_m contient un autre terme d'excès qui ne traduit par le terme conformationnel, ce terme d'excès traduit les interactions entre les biopolymères.

2.3.2 Incompatibilité et compatibilité thermodynamique

Lorsqu'une protéine et un polysaccharide anionique sont dans une même solution, trois types de comportement peuvent être observés (Figure 2.1). Premièrement, les deux polymères peuvent être en deux phases distinctes sans interagir, où chacune des phases est enrichie en l'un ou l'autre des polymères. Cet état, appelé incompatibilité thermodynamique ou séparation de phases ségrégative, existe lorsque les interactions entre polymères d'une même nature sont favorisées au détriment de celles entre polymères de natures différentes. L'incompatibilité dépend des charges relatives sur chaque polymère, du pH, de la flexibilité des chaînes du polysaccharide, du poids moléculaire des polymères, de la concentration en sels ainsi que de la concentration en solides totaux [37].

Le deuxième cas, rarement observé, se produit lorsque les macromolécules forment un mélange homogène spontané sans interagir. Cet état de co-solubilité est en constante compétition avec celui d'incompatibilité thermodynamique. Plus l'écart entre les poids moléculaires des macromolécules augmente, plus le déséquilibre entre les forces attractives et répulsives s'accroît, et plus il y a de risques de voir une incompatibilité entre les polymères. Seuls quelques exemples de co-solubilité ont été rapportés dans la littérature, dont le cas de l'albumine de sérum bovin (BSA) et de la pectine [38], ce système est stable de pH 3 à 8 et de 0,1 à 1,0 M de NaCl, et devient instable en présence de 6 M d'urée. Les deux polymères sont maintenus non seulement par des interactions électrostatiques, mais aussi par des liaisons hydrogène.

Troisièmement, il peut y avoir présence de deux phases où les polymères de charges opposées se retrouvent principalement dans la même phase. Cette compatibilité thermodynamique, ou séparation de phases associative, est caractérisée par la formation d'un complexe protéine/polysaccharide, aussi appelé coacervat, maintenu majoritairement par des interactions électrostatiques. Dans ce cas, les polysaccharides s'adsorbent sur les

surfaces des protéines. Si la quantité de polymère n'est pas assez grande pour couvrir complètement la protéine, un polysaccharide peut s'adsorber sur plus d'une protéine extérieure, liant de ce fait deux particules ou plus de protéines. Un tel processus s'appelle également le coacervation complexe [39]. C'est un phénomène qui se produit souvent dans le mélange de biopolymères dans lesquels, ces derniers ont des charges opposées.

En résumé, les polysaccharides adsorbés sur les protéines induisent des attractions efficaces entre les protéines et les particules colloïdales. L'attraction entre les protéines induites par les polysaccharides non-adsorbés conduisent à une séparation de phases. Les interactions entre polysaccharides et protéines ont fait l'objet d'études visant à mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la formation de complexes et leurs applications possibles.

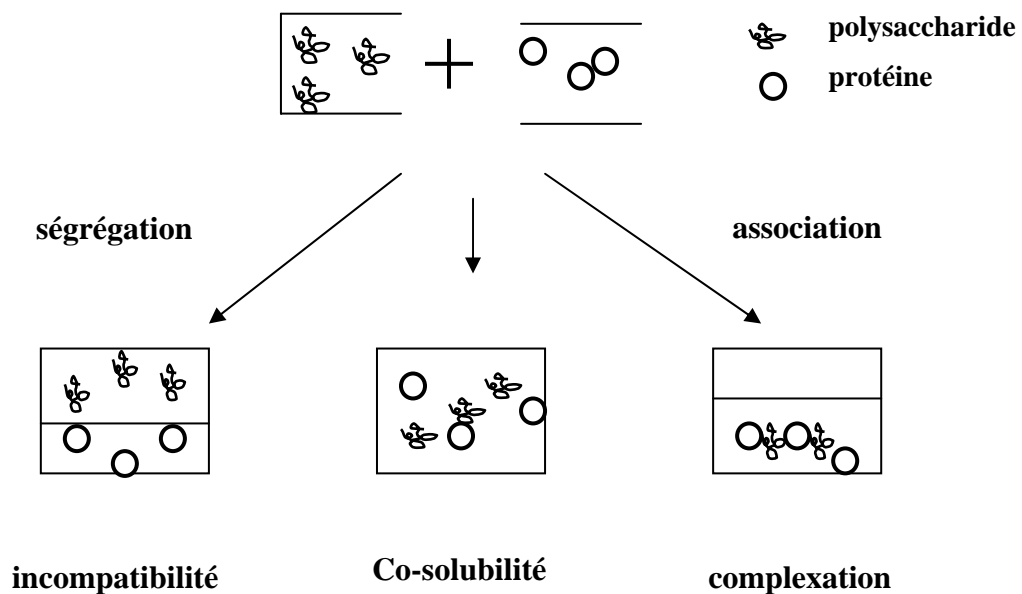


Figure 2.1 : Comportement d'un mélange de protéine et de polysaccharide

2.3.3 Formation de complexes proteines/polysaccharides

La formation de complexes entre une protéine et un polysaccharide est un cas particulier des interactions macromoléculaires en solution. Les interactions impliquées entre ces biopolymères peuvent être répulsives et non spécifiques et provenir de l'effet d'interactions électrostatiques et/ou de volume exclu. Le volume exclu désigne la diminution de l'espace occupé dans la solution par l'un et l'autre des polymères et ce, lorsque les interactions entre les molécules de même nature sont favorisées au dépend des

interactions entre des molécules différentes. Les interactions attractives peuvent être faibles ou fortes, spécifiques ou non spécifiques. Les liaisons covalentes sont spécifiques contrairement aux liaisons ioniques, aux forces de van der Waals, aux interactions hydrophobes et aux liaisons hydrogène. Il peut y avoir une interaction électrostatique entre des macromolécules d'une charge nette de même signe par l'intermédiaire de zones portant des charges de signe opposé [40].

Bien que les interactions électrostatiques soient majoritaires lors de la formation des complexes [41], des forces d'autres natures sont impliquées dans certains systèmes. Par exemple, la formation de complexes pectine/gélatine à un pH supérieur au pI de la protéine et à une force ionique supérieure 0,2 pouvait s'expliquer uniquement par la présence d'interactions électrostatiques. En fait, la présence d'une température critique de miscibilité (20°C) du système gélatine/pectine a permis de détecter la présence de liens hydrogène, favorisés à basse température [42]. D'autre part, le traitement thermique des complexes protéine/polysaccharide a permis d'améliorer leur stabilité lors de variations de pH ou de force ionique, et cette amélioration a été associée à des interactions hydrophobes. Les observations effectuées dans le cadre de telles études restent à confirmer par la caractérisation des interactions protéine/polysaccharide impliquées.

2.3.4 Facteurs influençant la nature des complexes

2.3.4.1 Charge des macromolécules

La formation de complexes est influencée majoritairement par la nature et la densité des charges présentes sur les deux macromolécules. Une faible densité de charges inhibe la formation des complexes, alors qu'une forte densité peut induire une précipitation ou une gélification. La charge résiduelle nette influence la solubilité des complexes obtenus. Les complexes sont solubles lorsque la charge d'une des macromolécules en excès permet d'interagir avec le solvant. Les complexes sont insolubles lorsque les charges des macromolécules sont égales et opposées; ils peuvent être solubilisés par un titrage acide, effectué à faible force ionique [43].

2.3.4.2 Le pH

Le pH agit sur la charge des complexes en influençant le degré d'ionisation des groupes amines et carboxyliques. Une forte concentration en sels inhibe la formation de complexes en créant un effet d'écran électrostatique. De même, une force ionique insuffisante inhibe la complexation. En effet, la forte charge portée par les macromolécules

induit une modification de leur configuration de manière à favoriser la formation d'agrégats et ce, au détriment des complexes. Le ratio protéine/polysaccharide est un troisième facteur influençant la charge nette et les propriétés du complexe obtenu. Ce ratio est le facteur ayant le plus d'influence sur la solubilité des complexes[44].

2.3.4.3 Nature du polysaccharide

Les polysaccharides anioniques n'ont pas tous le même degré de compatibilité avec les protéines. Les polysaccharides sulfatés se lient plus fortement à une protéine au dessus de son point isoélectrique, que les polysaccharides carboxylés. Ceci s'explique par la force de l'interaction entre les groupes **OSO₃⁻** et **NH₃⁺** qui permet la formation de complexes même lorsque la protéine et le polysaccharide sont tous deux chargés négativement. Les polysaccharides qui possèdent des groupes carboxylés ne complexent pas les protéines globulaires à une force ionique supérieure à 0,2, ou encore à des valeurs de pH largement supérieures au point isoélectrique des protéines. L'action de ces polysaccharides se caractérise principalement par la diminution des interactions protéine/protéine[44].

2.3.4.4 Poids moléculaire

Lorsque les interactions électrostatiques entre protéine et polysaccharide sont très fortes, l'effet du poids moléculaire du polysaccharide sur la quantité de protéines complexées est négligeable [45]. Lorsque ces interactions sont faibles, un polysaccharide de poids moléculaire élevé complexe une plus grande quantité de protéines; le plus grand espace occupé dans la solution favorise alors le contact avec la protéine. Les protéines d'un grand poids moléculaire ont tendance à former des gels ou des précipités plutôt que des complexes. Les molécules de faible poids moléculaire interagissent par appariement ionique, plutôt que par complexation, conduisant à la formation d'agrégats moléculaires[46].

2.3.4.5 Influence du milieu sur la structure

La température influence la formation de complexes en favorisant les interactions hydrophobes et covalentes à haute température et les liens hydrogène à basse température. L'application d'une pression hydrostatique facilite aussi la formation de complexes. En effet, ce traitement mène à la dénaturation partielle des protéines et permet l'exposition de sites réactifs, initialement enfouis dans la molécule [47]. Dans le cas des hautes pressions dynamiques, elles réduisent la taille des complexes par l'action de forces de turbulence, de

cavitation et de cisaillement . La durée d'un traitement de cisaillement influence également la taille des complexes. Plus il est long, plus les probabilités de collisions augmentent et plus les complexes auront une grande taille [47].

2.4 Phénomènes et mécanismes de floculation par déplétion

Pour les mélanges de biopolymères, la séparation de phase ségrégative conduit à une réduction de la concentration d'un biopolymère au près des particules de l'autre en solution aqueuse, cette réduction de la concentration à l'interface est due à une perte de l'entropie conformation (ΔS_c). Cette réduction est dite la déplétion [38]. Dans ce cas, l'agrégation des particules est causée par l'exclusion des macromolécules de la protéine entre l'espace des particules du polysaccharide, et résultant alors à une différence de concentration entre les régions interparticules et les régions extérieures qui les entourent [48] et par conséquent la pression osmotique de la région extérieure devient grande comparée à celle des régions interparticules. A cet effet, une force attractive supplémentaire s'ajoute entre les particules qui favorise d'une manière remarquable la floculation, notons que cette force d'attraction entre les particules dépend nettement de la taille, de la forme et de la concentration du biopolymères et des particules. Une illustration schématique du phénomène est détaillée dans la figure 2.2

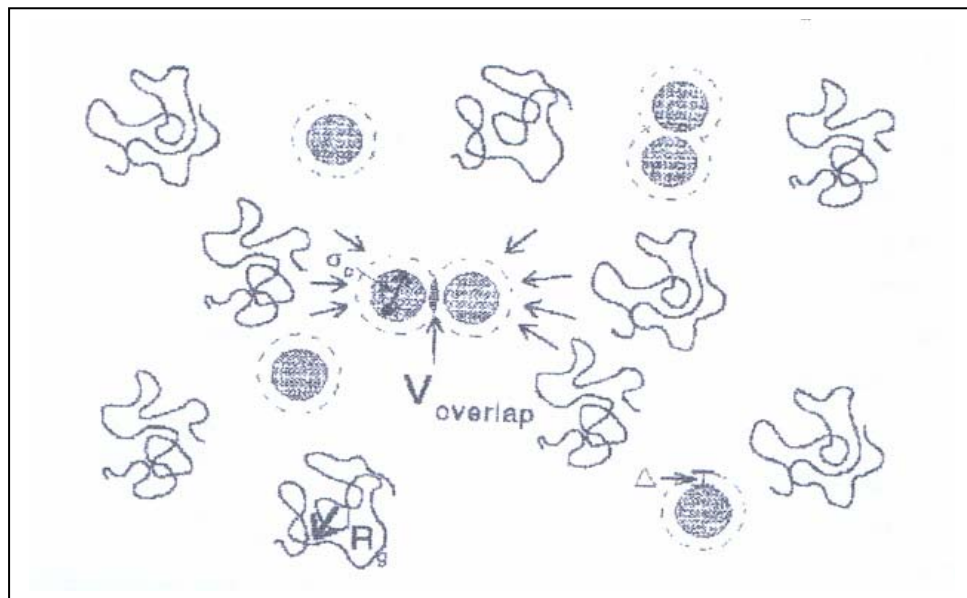


Figure 2.2 : Représentation schématique du phénomène de déplétion entre polysaccharide et une protéine, R_g : rayon de giration du polysaccharide ; σ diamètre de la protéine [48].

2.5 Interactions biopolymères/électrolytes en solution aqueuse

Les interactions biopolymère/protéine ont fait l'objet de plusieurs travaux dont certains concluants et d'autres ont postulé des hypothèses qu'il faut toujours développer. Ces études sur les interactions dans les systèmes de biopolymères ont été réalisées avec différentes méthodes physico-chimiques de caractérisation des interactions.

Cependant, beaucoup de produits à base de protéines et de polysaccharides (boissons pour athlètes, formule infantile...) nécessitent un enrichissement avec des sels minéraux. Il est donc important de comprendre comment l'addition de ces sels modifie les propriétés rhéologiques et physico-chimiques et affectent la stabilité de ces produits.

L'ajout de sels à une solution de lactoglobuline (β -lg) favorise les interactions non polaires en neutralisant les charges de la protéine. Le calcium induit des distorsions structurales locales dans la protéine native en formant des ponts intramoléculaires [5]. Ces ponts calciques augmentent l'hydrophobicité de la protéine et la réactivité des groupements sulfhydryles.

L'ajout de calcium dans une solution de β -lg partiellement dénaturée induit la formation d'un gel maintenu par des ponts calciques intermoléculaires. La valence des ions incorporés à la solution de β -lg joue un rôle important dans le mécanisme de gélification. Le chlorure de sodium modifie peu l'hydrophobicité de la β -lg et la réactivité des groupements sulfhydryles. La gélification d'une solution de β -lg en présence de chlorure de sodium est plus lente que celle observée avec le chlorure de calcium [49].

Selon SCHMIDT [6], l'association des monomères de caséine a été favorisée en augmentant la concentration ionique et en diminuant le pH. Ceci est vraisemblablement dû à la réduction de la répulsion électrostatique.

L'agrégation et la dispersibilité sont souvent étudiés en littérature [3]. Par exemple, la solubilité de la protéine de soja diminue avec l'augmentation de la force ionique jusqu'à 0,01 M et augmente alors à une force ionique plus élevée. Discutant ce résultat sur la base de l'effet des ions sur les interactions hydrophobes, DAMODARAN et KINSELLA [50] ont conclu que la diminution de la répulsion électrostatique entre les protéines peut augmenter les interactions hydrophobes entre leurs surfaces non polaires et mener à la formation d'un agrégat insoluble. C'est sur la base de la connaissance de l'agrégation de monomères que les protéines agrègent dans une masse insoluble au point isoélectrique parce que la répulsion électrostatique entre les particules diminue pendant que la charge nette tend vers zéro.

Lorsque les particules deviennent plus étroites, les forces coulombiennes entre les charges positives et négatives des résidus de protéine, les attractions de VAN DER WAALS et la liaison d'hydrogène tiendraient alors la masse ensemble contre les forces de dispersion.

En général, dans les solutions concentrées d'électrolyte, les ions occupent une fraction significative de tout le volume de la solution. Les molécules de protéine sont si étroites ensemble que des ions sont exclus de la région entre les particules de protéines. Ceci cause un déséquilibre dans la pression osmotique locale exercée par les ions sur les protéines. En plus Les ions monovalents (Na^+ , Li^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+) forment une matrice gélifiée lorsque les forces ioniques sont de l'ordre de 100 mM alors que pour les ions divalents (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+}) il suffit de faibles concentrations (10 -20 mM) [51]

Nash et al. [29] ont fait une étude sur les mélanges de caséinate de sodium et le xanthane. L'utilisation de la dispersion de la lumière DLS (Dynamic Light Scattering) et à pH=7 et en présence de 0.1M de NaCl , montre une distribution bi nodale du taux de relaxation avec un pic d'agrégation prédominante (pour des concentrations de caséinate de sodium entre 0.02% et 0.1%). Les solutions de xanthane ont montré une distribution simple pour des concentrations $\leq 0.06\%$ et une distribution bi nodale à des concentrations supérieures. Les mélanges de caséinate de sodium –xanthane ont montré des modes qui sont indépendants de la concentration totale des deux biopolymères. En conclusion, les auteurs ont démontré par l'utilisation de la DLS qu'il n'existe pas d'interactions entre le caseinate de sodium et le xanthane dans la marge des concentrations considérées.

Hemar et al. [52] ont fait une étude viscosimétrique sur plusieurs protéines mélangées avec le xanthane. L'utilisation de la microscopie confocale a été utilisée pour visualiser la microstructure et le comportement de phases des mélanges en solution aqueuse. Les résultats ainsi obtenus ont montré que le mécanisme de floculation par déplétion dans la séparation de phases dépend nettement de la taille du biopolymère et de sa forme ainsi que de la taille des particules dispersées ; d'autre part, la présence des molécules de caseinate de sodium augmente l'association des molécules de xanthane entre elles due à des interactions de répulsions entre les macromolécules du xanthane qui est chargé négativement et celles de caséinate de sodium qui est chargée négativement à pH=7. En conclusion, les résultats expérimentaux ont montré que le mécanisme de floculation par déplétion est responsable de la séparation de phases dans les systèmes protéine du

lait/xanthane, mais l'incompatibilité thermodynamique est responsable de la séparation de phases dans le système caseinate de sodium/xanthane.

L'incompatibilité des protéines avec tous les types de polysaccharides devient plus prononcée avec l'augmentation de la concentration en sel. Les systèmes contenant les polysaccharides neutres et sulfatés ont un bas point critique. Ceci correspond à une concentration c^* en sel de $0,1 \text{ mol/dm}^3$ pour le neutre et de $0,3 \text{ mol/dm}^3$ pour les polysaccharides sulfatés [53]. Les polysaccharides sont complètement compatibles avec les protéines aux concentrations en sel au-dessous de c^* . Dans ces conditions, les polysaccharides neutres et sulfatés peuvent former des composés solubles avec les protéines [54]. La dissociation de ces composés avec l'augmentation de la force ionique a comme conséquence l'incompatibilité des biopolymères. On devrait également noter qu'il y a un autre argument à caractère plus général pour expliquer les effets ioniques sur l'incompatibilité des protéines avec des polysaccharides neutres à pH différents de pH_i .

2.6 Effet du sel sur les interactions entre biopolymères

Les interactions stériques sont l'un des mécanismes stabilisants les plus importants dans les émulsions alimentaires. Cependant, certaines émulsions sont stabilisées par des combinaisons stériques et électrostatiques et de leurs interactions. La présence de **NaCl** dans la phase aqueuse des émulsions stabilisées par des émulsifiants (protéines) peut influencer les interactions entre les gouttelettes par les mécanismes suivants :

- ✓ En présence de l'électrolyte, l'épaisseur de la double couche électrique est réduite. Dans ce cas, la répulsion électrostatique entre les gouttelettes diminue jusqu'au point où elle ne pourrait plus empêcher la floculation. En d'autres termes, la neutralisation de la charge extérieure se produit à des distances plus courtes quand la concentration de la charge opposée dans la solution augmente, permettant de ce fait l'aggrégation des gouttelettes.

- ✓ Le potentiel zêta diminue en présence de **NaCl**, ce qui peut être expliqué par le mécanisme d'interaction électrostatique.

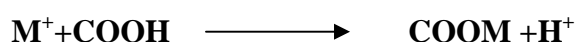
- ✓ Les sels changent l'organisation structurale de l'eau en influençant la force des associations hydrophobes modifiant par conséquent la manière dont les agents tensioactifs s'adsorbent sur une interface mélangée [55].

✓ DEMETRIADES et MC CLEMENT [4] ont montré que le **NaCl** réduit la viscosité de la phase aqueuse et accélère la vitesse de crémage à des fortes concentrations. Ils ont montré aussi que les émulsions à base de protéines sont plus sensibles au sel que celles à base d'un tensioactif synthétique (tween 20) parce que les forces ioniques déstabilisent les émulsions à base de protéines.

✓ KULMYRZAEV et SCHUBERT [56] ont étudié l'influence du **KCl** sur les propriétés physico-chimiques d'une émulsion stabilisée avec du petit lait. Cette étude a prouvé que les ions K^+ et de Cl^- sont les ions indifférents dans les émulsions, parce que l'augmentation de la force ionique n'a pas changé le point isoélectrique de la protéine. La réduction du potentiel zêta avec l'augmentation de la force ionique est provoquée seulement par la réduction de la double couche électrique. On lui a également montré que l'agrégation des gouttelettes des émulsions stabilisées par les protéine de petit lait dépend fortement du pH et de la concentration en chlorure de potassium; l'émulsion était fortement instable à l'agrégation près du point isoélectrique en raison de la charge extérieure relativement basse des gouttelettes. Ces résultats sont très importantes pour la production des émulsions de nourriture enrichies par le potassium, qui peuvent être également employées pour empêcher l'insuffisance de potassium dans le corps humain. Pour produire une émulsion qui est stable à l'agrégation, il est important d'ajuster le pH à 4 ou à 6. A ces conditions, les émulsions restent stables à l'agrégation quand la concentration en **KCl** est aux environs de 100 mM [57].

✓ Le sel a également un effet sur le pH. Ce dernier diminue lorsque la concentration du sel augmente [58]. Ceci est dû à plusieurs facteurs:

- Le sel modifie la constante d'équilibre de l'eau.
- Les charges positives des ions du sel peuvent déplacer les ions des groupements acides des protéines.



✓ Le potentiel d'interaction entre les couches de β -caseine est prédit comme fortement répulsif à toutes les forces ioniques, ce qui conduit à une bonne stabilité stérique et électrostatique des gouttelettes de l'émulsion couvertes par la β -caseine. En revanche, le potentiel d'interaction entre les couches de α_s -caseine est prévu d'être attractif aux séparations intermédiaires au dessus d'une certaine concentration ionique, qui est

conformée à une stabilité plus faible des gouttelettes couvertes de α_s -caseine vis à vis de la floculation par de simple électrolytes [**NaCl** ou **KCl**].

2.7 Conclusion

Des études sur l'influence des électrolytes sur la stabilité des systèmes colloïdaux ont démontré que selon la valence, la solubilité et le type d'ion de sel, les forces de répulsions électrostatiques peuvent être réduites par la compression de la double couche électrique et de l'adsorption spécifique des ions. En effet, les électrolytes peuvent modifier la conformation des protéines et des polysaccharides, par neutralisation de leur charge électrique. Ils peuvent également générer une coacervation complexe ou augmenter leur incompatibilité. Ces interactions électrostatiques et d'incompatibilité sont liées étroitement, entre autres, aux propriétés rhéologiques et électrocinétiques de la solution polymérique.

Les caractéristiques rhéologiques et électrocinétiques des solutions polymériques sont mises en évidence par deux appareils à savoir le rhéomètre et le zetasièser qui sont les moyens de caractérisation étudiés dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 3

METHODES DE CARACTERISATION

RHEOLOGIE ET ZETAMETRIE

3.1 Caractérisation rhéologique

3.1.1 Introduction à la rhéologie

La rhéologie a pour finalité l'étude de l'écoulement et de la déformation de la matière [59]. La naissance de la rhéologie en tant que branche spécialisée de la physique est souvent datée de 1928, lorsque Bingham invente le terme et dispense aux USA le premier enseignement universitaire. On peut donc estimer que la rhéologie est une science contemporaine. Cependant, dès le 18^{ème} siècle, de grands savants lui apportaient ses premiers fondements [60].

La vie courante nous montre que certains colloïdes alimentaires sont liquides, c'est le cas du lait, des crèmes liqueurs, d'autres sont solides, le beurre, le fromage, d'autres en fin sont dans un état intermédiaire ; la mayonnaise et le yaourt. Cette classification est basée sur le comportement rhéologique des produits alimentaires lors de leur manipulation, de leur préparation et bien sur de leur consommation [19].

Donc on peut définir la rhéologie comme une discipline qui traite l'écoulement et/ou la déformation des fluides sous l'action de la contrainte [61]. Son intérêt est rendu chaque jour plus évident par l'apparition de nombreuses substances au comportement complexe : pâtes, boues, émulsions, suspensions, dispersions.

La détermination des propriétés rhéologiques d'un fluide sert non seulement à identifier le fluide, mais aussi à deviner son emploi dans les formulations [62]. De plus, le comportement rhéologique des colloïdes alimentaires a un intérêt intrinsèque, et dans beaucoup de cas, c'est une propriété au moins aussi importante que la stabilité de ces colloïdes.

3.1.2 Notions de rhéologie

a. Cisaillement

En rhéologie, le cisaillement d'une substance est l'élément déterminant pour connaître son écoulement et sa structure. On obtient un flux cisailé par l'écoulement entre les plans parallèles, l'écoulement rationnel entre cylindres coaxiaux, ou l'un des cylindres est fixe et l'autre rotatif, l'écoulement télescopique par tubes capillaires et tuyaux, l'écoulement de torsion entre plaques parallèles (figure 3.1).

Pour étudier la viscosité d'une matière, le cisaillement doit induire un flux stationnaire de la matière. Pour qu'il y ait écoulement, il doit y avoir réorganisation et déformation des particules et rupture des liaisons dans la structure de la matière [59].

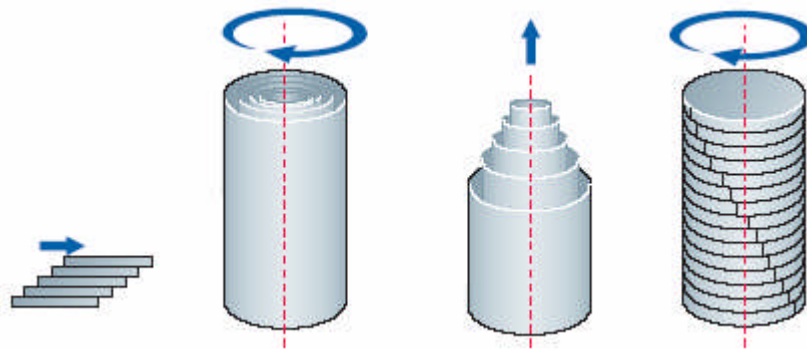


Figure 3.1 : *Différents types de cisaillement* [59].

b. Contrainte, déformation et vitesse de cisaillement

Dans un matériau au repos, un élément de volume cubique $dx \, dy \, dz$ subit une contrainte sur chacune de ses faces, dirigée de façon normale aux faces et dont la norme est indépendante de l'orientation de la face : il s'agit de la pression hydrostatique exercée sur cet élément de volume.

Lorsque le matériau est soumis à un mouvement laminaire de cisaillement, des contraintes tangentielles aux faces de l'élément de volume apparaissent. Ce sont ces contraintes (notées $\tau = \frac{dF}{dS}$) qui sont déterminées par l'expérience. Ces contraintes induites sont indépendantes de la position de l'élément de volume à l'intérieur d'une même couche [61]. Nous définirons la déformation de cisaillement dans le cas précis d'un cisaillement simple avec une symétrie plane, schématiquement représenté par la figure 3.2.

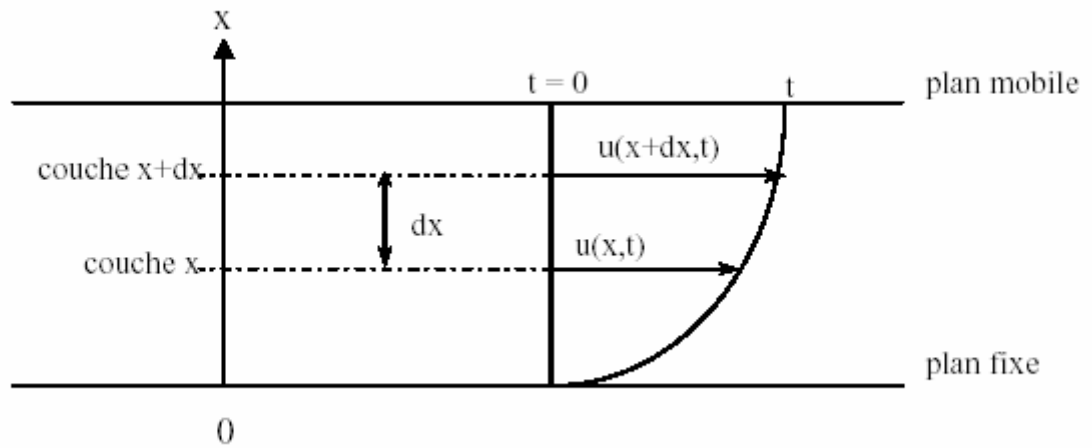


Figure 3.2. Schéma d'un mouvement laminaire de cisaillement présentant une symétrie plane

Le fluide est contenu entre deux plans infinis et parallèles, l'un immobile, l'autre se déplaçant à une vitesse donnée. A l'instant t , chaque particule initialement dans une section droite (indexée $t = 0$) aura parcouru la distance $u(x, t)$. La déformation est définie par :

$$\gamma(x, t) = \frac{du(x, t)}{dx} \quad \text{Eq 3.1}$$

La déformation dépend de la variation de déplacement $u(x, t)$ en fonction de x , c'est-à-dire lorsque l'on passe d'une couche à l'autre. Si l'on considère le cas particulier où la courbe joignant les extrémités des vecteurs déplacements $u(x, t)$ est un segment de droite, alors γ (qui est en fait la pente en x de cette courbe) peut s'exprimer de façon simple :

$$\gamma = \frac{du(x, t)}{dx} = \tan \alpha(x, t) = \tan \alpha(t) \quad [61] \quad \text{Eq 3.2}$$

La déformation ne dépend plus que de l'instant t . En dérivant γ par rapport au temps, on introduit la notion de vitesse de cisaillement

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \frac{d}{dt} \frac{du}{dx} = \frac{d}{dx} \frac{du}{dt} = \frac{dv}{dx} = \text{grad} \vec{v} \cdot \vec{e}_x \quad \text{Eq. 3.3}$$

La vitesse de cisaillement est donc, dans le cas d'une symétrie plane représentée sur la figure 3.3, le gradient de vitesse lorsque l'on passe de la couche x à la couche $x+dx$.

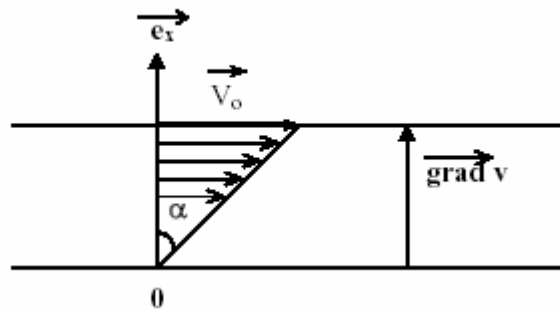


Figure 3.3. Écoulement en cisaillement simple entre deux plaques infinies

(v_0 : vitesse du plan mobile)

c. Viscosité

Les coefficients de viscosité sont des grandeurs physiques qui jouent un rôle essentiel en rhéologie, leur connaissance suffit parfois à caractériser de façon précise le comportement rhéologique du matériau. On peut dire aussi que la viscosité décrit la propriété physique de la résistance d'un liquide à l'écoulement [63].

d. Les Coefficients de viscosité

* Viscosité absolue η

Elle est définie par la relation de Newton:

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad \text{Eq.3.4}$$

η : n'est fonction que de la température et de la pression extérieure. Son unité est le Pascal seconde (Pa.s) dans le système MSKA.

* Viscosité apparente

Par analogie avec les fluides Newtoniens, la viscosité apparente est introduite comme étant le rapport entre la contrainte de cisaillement et la vitesse de cisaillement correspondante, elle dépend de la température et de la pression extérieure.

* Viscosité cinématique

Elle est définie par la relation suivante :

$$\nu = \frac{\mu}{\rho} \quad \text{Eq.3.5}$$

Où ρ est la masse volumique du fluide.

Son unité est le m^2 / s dans le système MSKA.

* Viscosité relative

Elle est donnée par la relation

$$\mu_r = \frac{\mu}{\mu_s} \quad \text{Eq.3.6}$$

Avec :

μ : Viscosité apparente.

μ_s : Viscosité du solvant.

Elle est définie comme étant la viscosité d'un liquide donné par rapport à celle d'un autre liquide de référence.

3.1.3 Equation rhéologique d'état, rhéogrammes

3.1.3.1 Equation rhéologique d'état

Tout système mécanique obéit à une équation fondamentale qui établit une relation entre les grandeurs cinématiques décrivant ce mouvement et les grandeurs dynamiques. Il existe en rhéologie une relation entre la déformation de cisaillement γ et la contrainte de cisaillement τ , c'est la relation qui dépend des propriétés et de la nature du matériau; cette relation s'écrit :

$$\gamma = f(\tau) \quad \text{Eq.3.7}$$

Cette équation ne dépend pas seulement de la nature et des propriétés des matériaux, elle dépend aussi de la température T et de la pression extérieure P . Il serait donc plus correct d'écrire:

$$\gamma = f(\tau, P, T) \quad \text{Eq.3.8}$$

3.1.3.2 Rhéogrammes

Les courbes qui traduisent graphiquement l'équation rhéologique d'état sont appelées rhéogrammes. Le comportement d'un fluide peut être différent si on change la façon de cisailer. Ces derniers peuvent exprimer les relations entre :

- ♠ La contrainte de cisaillement τ et la déformation de cisaillement γ .
- ♠ La contrainte de cisaillement τ et la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$
- ♠ La déformation de cisaillement γ et le temps (expérience de fluage).
- ♠ La contrainte de cisaillement τ et le temps (expérience de relaxation).

Toutes ces expériences sont données à T et P constants [60].

3.1.4 Classification des fluides réels en fonction de leur comportement rhéologique

L'état fluide est caractérisé par deux principaux types de comportement rhéologique, suivant la nature des paramètres qui influent sur l'aspect de la courbe d'écoulement :

- Les fluides «indépendants du temps».
- Les fluides «dépendants du temps».

3.1.4.1 Fluides indépendants du temps

Ce sont les fluides pour lesquels il existe une relation biunivoque entre la contrainte de cisaillement τ et la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$. Leur comportement rhéologique est indépendant de la durée d'application de la contrainte [64]. Cette catégorie de fluides est subdivisée en :

- Fluides newtoniens.
- Fluides non newtoniens.

- Fluides newtoniens

Ces fluides sont caractérisés par une relation proportionnelle entre la contrainte de cisaillement τ et la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$. Cette relation de Newton s'écrit :

$$\tau = \mu \times \dot{\gamma} \quad \text{Eq}$$

3.9

Où, μ est la viscosité dynamique du fluide (Pa.s). La viscosité dynamique est indépendante de la vitesse de cisaillement. Elle ne dépend que de la température, de la pression et de la nature du fluide. [65]

- Fluides non newtoniens

Les fluides non Newtoniens au comportement indépendant du temps sont caractérisés par une relation générale de type:

$$\tau = \mu_a \dot{\gamma} \quad \text{Eq 3.10}$$

Où, μ_a est la viscosité apparente dépendante de la vitesse de cisaillement (Pa.s).

Les raisons du caractère non newtonien d'un fluide sont liées à la taille des particules, leur concentration dans la phase continue, leur forme, leur nature et leur aptitude à la déformation ou bien la réactivité physico-chimique de la phase continue notamment dans le cas des suspensions colloïdales. On distingue deux catégories principales de fluides non newtoniens au comportement indépendant du temps : les fluides à contrainte seuil et les fluides sans contrainte seuil.

A. Fluides à contrainte seuil (fluide plastique)

Le comportement plastique caractérise les fluides pseudo plastiques présentant en plus un seuil de plasticité. Il est possible d'expliquer qualitativement ce comportement en supposant que ce dernier présente au repos une structure tridimensionnelle rigide susceptible de résister à des contraintes inférieures à la contrainte seuil. Dès que l'on dépasse cette contrainte, la structure se détruit et le comportement du fluide devient Newtonien [65].

De nombreux fluides présentent un comportement plastique, on peut citer quelques uns dans l'industrie agro-alimentaire tel que la mayonnaise, la moutarde, le chocolat..., ainsi que dans l'industrie chimique ou l'industrie pétrolière tels que la peinture, la pâte à papier.

Plusieurs lois rhéologiques sont utilisées pour décrire le comportement des fluides plastiques [61], on cite:

➤ Loi de Bingham

$$\tau = \tau_0 + \mu_p \dot{\gamma} \quad \text{si } \tau > \tau_0 \quad \text{Eq.3.11}$$

$$\dot{\gamma} = 0 \quad \text{si } \tau < \tau_0$$

Où τ_0 est la contrainte seuil (Pa) et, μ_p la viscosité plastique (Pa.s).

➤ Loi de Casson

$$\tau^{1/2} = \tau_0^{1/2} + \mu_0^{1/2} \dot{\gamma}^{1/2} \quad \text{si } \tau > \tau_0 \quad \text{Eq.3.12}$$

$$\dot{\gamma} = 0 \quad \text{si } \tau < \tau_0$$

➤ Loi de Casson généralisée

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma} + \mu_\infty \dot{\gamma} \quad \text{si } \tau > \tau_0 \quad \text{Eq.3.13}$$

$$\dot{\gamma} = 0 \quad \text{si } \tau < \tau_0$$

➤ Loi de Herchel-Bulkley

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad \text{si } \tau > \tau_0 \quad \text{Eq.3.14}$$

$$\dot{\gamma} = 0 \quad \text{si } \tau < \tau_0$$

Où K est l'indice de consistance et n , l'indice de comportement (structure).

B. Les fluides sans contrainte seuil :

Les fluides sans contrainte critique sont définis par la relation d'**Ostwald**, appelée également loi en puissance :

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad \text{Eq. 3.15}$$

Où K est l'indice de consistance et n , l'indice de courbure.

Selon la valeur de n , ces fluides peuvent être divisés en deux groupes [65].

- Les fluides pseudo-plastiques ou rhéofluidifiants $0 < n < 1$

- Les fluides dilatants ou rhéoépaississants $n > 1$

Ils sont représentés en terme de contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement comme la montre la figure 3.4.

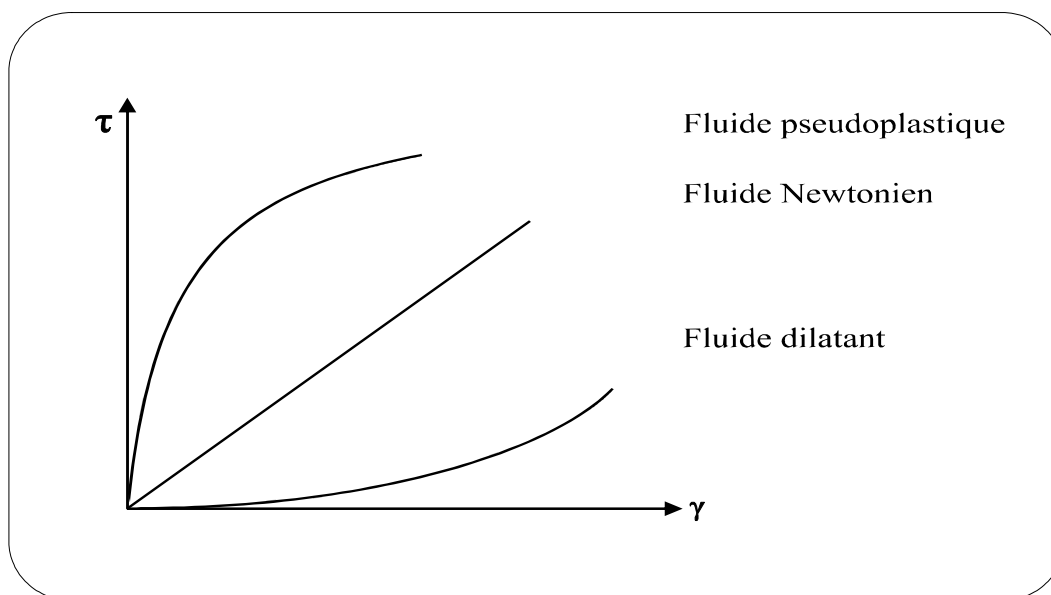


Figure 3.4 : Diagramme des fluides sans contrainte seuil [65]

Dans le cas de fluide rhéofluidifiant, la viscosité diminue lorsque la vitesse de cisaillement augmente pour atteindre finalement une valeur minimale constante à la vitesse élevée (figure 3.4.). Beaucoup de colloïdes alimentaires présentent un comportement rhéofluidifiant dû à la destruction de la structure sous l'effet de cisaillement. On note que dans la plupart des cas, l'effet rhéofluidifiant est réversible, les fluides reprennent alors leur viscosité originale quand l'effet de cisaillement s'atténue ou alors qu'il s'arrête.

Le phénomène inverse est le comportement rhéoépaississant qui est moins fréquent, il correspond à une augmentation de la viscosité lorsque la vitesse de déformation augmente [66]. Ce type de comportement a été initialement mis en évidence sur des suspensions de forte teneur en solide. Au repos, le volume libre entre les suspendants qui enrobent chaque particule d'une fine pellicule joue le rôle de lubrifiant. Au fur et à mesure que la vitesse de cisaillement augmente, le liquide est insuffisant pour combler tout le volume interstitiel. Les tensions de cisaillement provoquent peu à peu la rupture de ces films, et aux frottements solides liquides initiaux, se substituent alors des frottements solide-solide qui entraînent une augmentation de la viscosité apparente de la suspension.

3.1.4.2 Les fluides dépendants du temps

Ce comportement rhéologique des fluides dépendants du temps, a été expliqué par des modifications de leur structure interne. Ces modifications peuvent être rapides. Dans ce

cas, le temps n'intervient pas de manière apparente dans les équations d'écoulement, la viscosité apparente est alors fixée uniquement pour une valeur donnée de la contrainte ou de la vitesse de cisaillement. Par contre, si les modifications de la structure interne du fluide sont lentes, les caractéristiques de l'écoulement du fluide seront influencées par les traitements antérieurs et la viscosité apparente dépendra dans ce cas d'un autre paramètre, le temps ; alors on distinguera trois catégories de fluides dépendants du temps :

- ♣ Le fluide thixotrope
- ♣ Le fluide rhéopexe
- ♣ Le fluide viscoélastique

A. Fluide thixotropes

Lorsqu'un fluide thixotrope est soumis à un cisaillement constant après une période de repos, sa structure se désorganise peu à peu et sa viscosité apparente décroît avec le temps. Au fur et à mesure que le nombre de liaisons détruites augmente, la vitesse de décroissance de la viscosité apparente diminue et la structure tend à se réorganiser à une vitesse qui varie selon le nombre de liaisons détruites. On pourra même souvent observer un état d'équilibre dynamique lorsque la vitesse de désorganisation sera égale à la vitesse de réorganisation, bien entendu, cet équilibre dépendra de la vitesse de cisaillement [63].

B. Fluides rhéopexes

La rhéopexie est le phénomène inverse de la thixotropie pour une contrainte donnée (ou cisaillement donné) ; la viscosité apparente varie avec le temps. On peut citer comme exemples les suspensions de bentonite, les émulsions eau dans huile, et certains dérivés de la cellulose (solution de méthylcellulose) [61].

C. Fluides viscoélastiques

La thixotropie n'est pas le seul type de comportement instationnaire. Dans la mesure où le matériau possède une certaine rigidité, on peut observer un comportement viscoélastique [61]. Tous les matériaux présentent, à des degrés divers, des propriétés viscoélastiques ; leur comportement s'apparente à la fois au comportement du solide parfaitement élastique et du liquide newtonien visqueux. L'étude de ces propriétés est donc tout à fait essentielle.

3.1.5 Viscoélasticité des solutions de polymères

Certains matériaux ne peuvent pas être assimilés à des solides parfaits ou bien à des liquides purs. Leurs propriétés s'avèrent être une composition de celles des deux catégories citées précédemment. Le solide parfait (solide de Hooke) stocke l'énergie de façon élastique lorsqu'il est soumis à une contrainte mécanique, et la restitue intégralement dès qu'il cesse d'être sollicité. Il garde la mémoire de son état initial et y retourne dès que la contrainte s'arrête. La loi de Hooke caractérise ce comportement :

$$\tau = G \times \gamma \quad \text{Eq. 3.16}$$

Où G est le module élastique du solide considéré

Il existe ici une relation de linéarité entre γ et τ . Le solide de Hooke est dit « linéaire ». Il est représenté schématiquement par un ressort de raideur G .

Le liquide pur, c'est-à-dire purement visqueux, s'écoule indéfiniment tant qu'une contrainte lui est appliquée. La déformation induite persiste irréversiblement lorsque la contrainte s'arrête. Son comportement est caractérisé par la loi de Newton :

$$\tau = \eta \times \dot{\gamma} \quad \text{Eq.3.17}$$

Où η est la viscosité du liquide considéré

Le liquide newtonien est symbolisé par un amortisseur de coefficient de viscosité η . Les liquides caractérisés par la relation de Newton sont aussi dits linéaires car ils vérifient une équation différentielle linéaire à coefficients constants.

Même si la majorité des systèmes obéissent à des lois plus complexes, on peut toutefois modéliser leur comportement expérimental par des associations en série ou en parallèle des deux constituants élémentaires précédents, le ressort et l'amortisseur. Ces fluides complexes sont dits viscoélastiques car ils bénéficient à la fois d'un caractère dissipatif associé au milieu visqueux et d'une capacité de stockage de l'énergie associée au comportement du solide élastique. Mais les fluides complexes sont linéaires seulement dans le cas de déformations très petites. Pour des déformations inférieures à 10^{-2} , on admet que la majorité des matériaux peuvent être considérés comme linéaires c'est-à-dire que la linéarité entre la contrainte et la déformation est vérifiée. Le cas général $\tau = A \times \gamma + B \times \gamma^2 + C \times \gamma^3 + \dots$ se réduit à $\tau = A \times \gamma$ si $\gamma < 0,01$, les termes d'ordre supérieur à 1 étant négligeables dans ces conditions.

Les expériences en écoulement ne satisfont généralement pas cette condition et ne permettent pas de sonder l'organisation microscopique du matériau. Elles apportent toutefois des informations pratiques intéressantes sur son comportement lorsqu'il est soumis à de fortes contraintes [67].

3.1.6 Propriétés des solutions de polymère sous écoulement

Les caractéristiques rhéologiques non linéaires des solutions de polymère sont mises en évidence par des représentations de type $\eta = f(\dot{\gamma})$. Elles comportent de façon générale trois grands domaines :

- Un plateau newtonien à très faible vitesse de cisaillement : η indépendant de $\dot{\gamma}$
- Un régime rhéofluidifiant : η diminue selon une loi de puissance lorsque $\dot{\gamma}$ augmente
- Un deuxième plateau newtonien pour les fortes valeurs de $\dot{\gamma}$

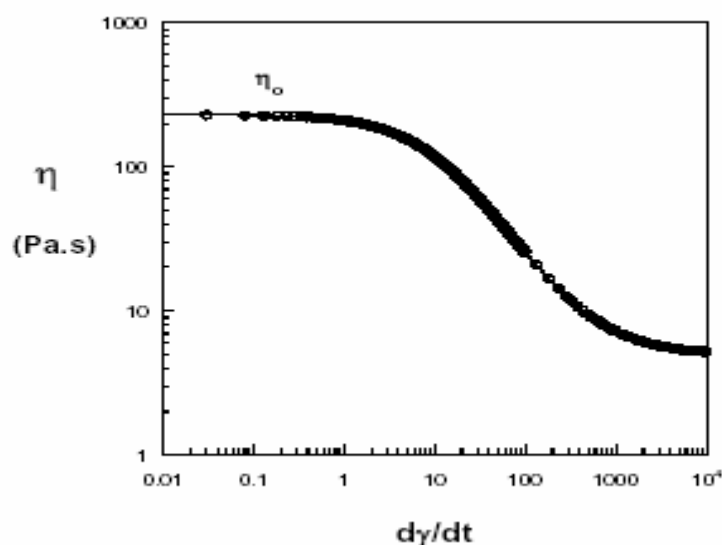


Figure 3.5. Courbes d'écoulement d'une solution de polymère, $\eta = f(\dot{\gamma})$

La première phase correspond à un milieu enchevêtré de macromolécules déformé si faiblement que la viscosité apparente de la solution ne varie pas avec $\dot{\gamma}$. La diminution de la viscosité apparente avec $\dot{\gamma}$ dans le deuxième temps traduit l'alignement des chaînes dans la direction du cisaillement. Le deuxième plateau newtonien correspond à l'orientation totale des macromolécules. L'étape rhéoépaississante aux très fortes valeurs de $\dot{\gamma}$ résulte de frictions entre les chaînes qui accroissent la viscosité. Ce phénomène peut

conduire à la formation de paquets ou de domaines cristallisés observables par diffraction X [67].

Cette description est très générale et certaines étapes ne sont pas toujours observables, soit parce qu'elles sont si réduites qu'elles échappent à l'expérimentation soit parce que les limites de l'appareillage sont dépassées. La plupart des solutions de polymères en régime semi dilué sont rhéofluidifiantes.

3.1.7 Étude des propriétés viscoélastiques en régime dynamique

Il existe, en viscoélasticité linéaire, un autre type d'expérience qui présente un intérêt fondamental et qui consiste à étudier le matériau de façon dynamique, en lui imposant une contrainte (déformation) qui varie sinusoidalement au cours du temps avec la fréquence f . Le fluide ayant un comportement linéaire, la déformation (contrainte) varie aussi sinusoidalement et à la même fréquence mais avec un déphasage δ . L'amplitude de la contrainte est proportionnelle à l'amplitude de la déformation. La contrainte peut alors être décomposée, comme le montre la figure 3.6, en une composante en phase avec la déformation et une composante en quadrature de phase avec la déformation. La contrainte et la déformation sont représentées par les relations :

$$\tau = \tau_0 \sin(\omega t + \delta) \quad \text{Eq.3.18}$$

$$\gamma = \gamma_0 \sin \omega t \quad \text{Eq.3.19}$$

Où, τ_0 et γ_0 représentent l'amplitude maximale de la contrainte et de la déformation, δ représente le déphasage de la contrainte par rapport à la déformation.

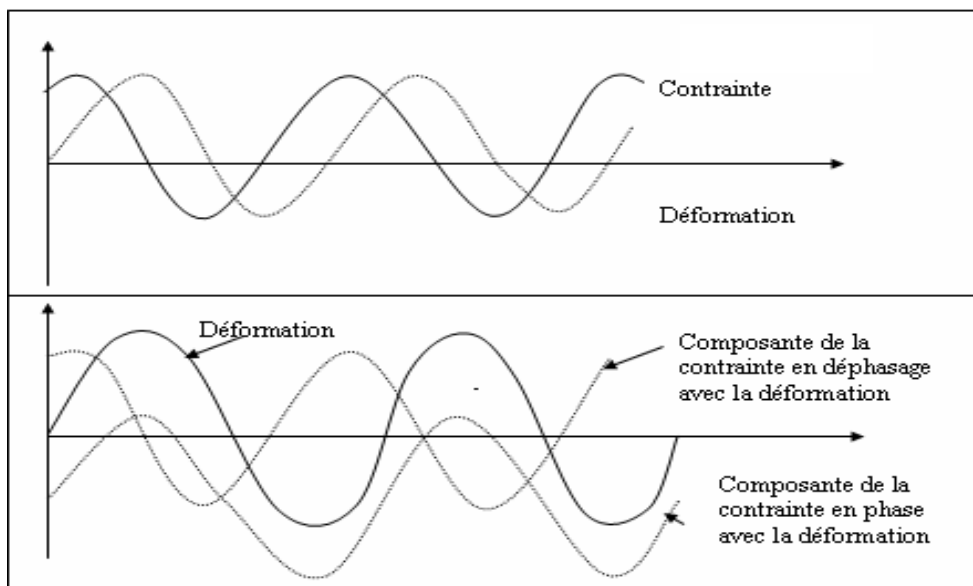


Figure 3.6 : Déphasage entre la contrainte et la déformation en écoulement sinusoidal

On introduit les nombres complexes en faisant correspondre aux grandeurs réelles τ et γ les grandeurs complexes τ^* , γ^* :

$$\tau^* = \tau_0 \exp[i(\omega t + \delta)] \quad \text{Eq.3.20}$$

$$J^* = \frac{1}{G^*} = \frac{\gamma^*}{\tau^*} \quad \text{Eq.3.21}$$

Où, G^* est le module de rigidité complexe ou module élastique complexe, J^* représente la complaisance élastique complexe.

Ces grandeurs complexes (G^* et J^*) sont indépendantes du temps et leurs expressions dépendent évidemment des propriétés du matériau. La connaissance d'une seule de ces fonctions est suffisante pour caractériser complètement le matériau.

τ^* Peut s'écrire également de la manière suivante [68]:

$$\begin{aligned} \tau^* &= \tau_0 \sin(\omega t + \delta) = \tau_0 \sin \omega t \cos \delta + \tau_0 \cos \omega t \sin \delta \\ &= G'(\omega) \gamma_0 \sin \omega t + G''(\omega) \gamma_0 \sin(\omega t + \frac{\pi}{2}) \end{aligned} \quad \text{Eq.3.22}$$

$$\text{Avec : } G'(\omega) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad \text{Eq.3.23}$$

$$G''(\omega) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad \text{Eq.3.24}$$

$G'(\omega)$ est la composante du module en phase avec la déformation, appelé module de conservation, car il caractérise l'énergie emmagasinée dans l'échantillon sous forme élastique,

$G''(\omega)$ est la composante du module en quadrature de phase avec la déformation, appelé module de perte, car il caractérise l'énergie dissipée dans l'échantillon sous forme visqueuse.

On pose alors:

$$\text{Tan}\delta = \frac{G''(\omega)}{G'(\omega)} \quad \text{Eq.3.25}$$

où δ est l'angle de perte.

Et on peut écrire également:

$$G^* = \sqrt{G'^2 + G''^2} \quad \text{Eq.3.26}$$

D'un point de vue physique, le concept de viscoélasticité linéaire sous-entend que l'état du système observé n'évolue pas au cours de la déformation ; on suppose, en particulier, que les effets d'orientation des chaînes macromoléculaires (dans le cas des polymères) sont négligeables et ne modifient pas les propriétés du milieu. Cela revient en fait à dire qu'on observe le comportement moléculaire du matériau en ne modifiant pas significativement la position des molécules par rapport à l'équilibre. Les mesures doivent donc impérativement être effectuées dans ces conditions. La détermination du domaine linéaire s'effectue par l'observation de l'évolution des modules G' et G'' lors d'une augmentation de la déformation ; une diminution de ces paramètres indique la limite de déformation acceptable. Ce domaine dépend de la fréquence et sa détermination devrait donc être menée à chaque fréquence de travail ; toutefois son étendue augmente lorsque la fréquence diminue ; aussi, un domaine déterminé à haute fréquence est valable à plus basse fréquence.

Un champ de contrainte ou de déformation, conduit en changeant l'amplitude du signal d'entrée à une fréquence constante (figure 3.7), est employé pour déterminer les limites du comportement viscoélastique linéaire en identifiant une valeur critique du paramètre de champ [69]. Dans la région linéaire (figure 3.8), les propriétés rhéologiques ne dépendent pas de la contrainte (ni de la déformation). Les modules de conservation et de perte en fonction de la déformation sont tracés dans la figure 3.8.

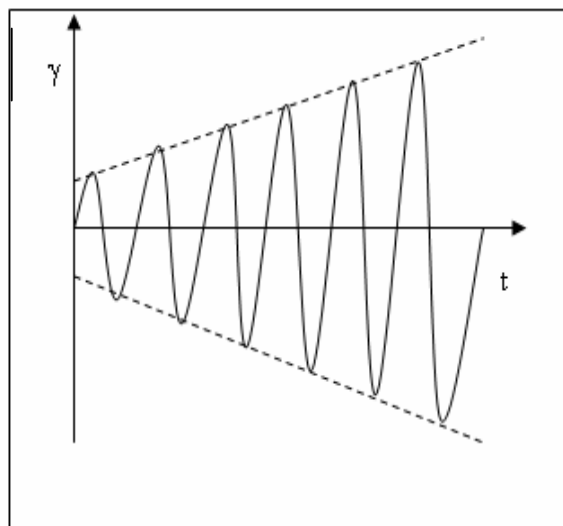
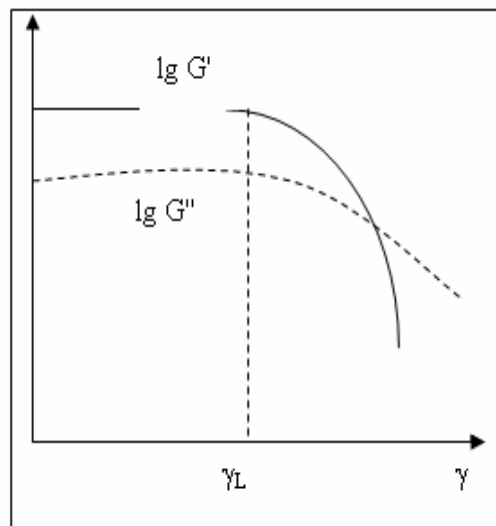


Figure 3.7 : Amplitude sweep [63]

Figure 3.8 : $G'(\gamma)$ et $G''(\gamma)$ [63]

Dans l'intervalle viscoélastique linéaire aux basses déformations, chacune des fonctions $G'(\gamma)$ et $G''(\gamma)$ enregistre un plateau de valeur constante.

❖ Un caractère de gel, si $G' > G''$:

Ici, le comportement élastique domine le comportement visqueux. La structure montre une certaine rigidité. Ce n'est pas une surprise pour les solides ou les pâtes. Cependant, si des dispersions telles que les lotions pharmaceutiques ou les produits alimentaires, qui ont une basse viscosité à des vitesses de cisaillement élevées, montrent un module de conservation supérieur au module de perte dans le plateau linéaire, alors elles ont une structure de gel, et donc une certaine forme de stabilité [70].

❖ Un caractère liquide, si $G'' > G'$:

Dans ce cas-ci, le comportement visqueux domine le comportement élastique. L'échantillon montre le caractère d'un liquide dans le plateau linéaire. Même les matériaux fortement visqueux avec les chaînes de molécules enchevêtrées montrent ce comportement. Ces matériaux ne sont pas stables. Parmi les fluides qui montrent un tel comportement au repos, on cite par exemple les polymères fondus et les solutions ou le caoutchouc de silicone [70].

Aussi longtemps que la déformation demeure au-dessous de la valeur limite γ_L , G' et G'' demeurent constants, c'est-à-dire que la structure de l'échantillon est stable dans ce

domaine de déformation. Au-dessus de γ_L , les paliers de G' et G'' enregistrent une chute, la structure l'échantillon est irréversiblement modifiée ou même complètement détruite [70].

A cet effet s'ajoute les mécanismes de complexation pouvant impliquer les deux charges des chaînons latéraux du xanthane (portées par les deux dérivés du groupement carboxylique : acide glucoronique et acide pyruvique) et les cations du sel.

3.1.8 Intérêt de l'étude rhéologique

Les mesures rhéologiques, à partir des quelles on établit la réponse mécanique d'un matériau soumis à une contrainte ou déformation, fournissent les paramètres nécessaires à la caractérisation des fluides. Elles permettent en particulier de différencier par exemple un gel d'une solution concentrée de polymères ou il n'existe pas de jonction entre les molécules.

Donc, l'étude rhéologique devrait permettre de mieux comprendre les relations entre les propriétés d'un matériau et sa structure, et de faire face aux situations pratiques mettant en oeuvre ce type de fluide [71].

3.1.9 Domaines d'application de la rhéologie

Le champs privilégié de la rhéologie est l'analyse des comportements qui ne sont pas ceux des liquides Newtoniens ou des fluides élastiques linéaires et à ce titre, la plupart des denrées alimentaires offrent un terrain expérimental de choix, cela explique sans doute que l'un des pionniers de la rhéologie Scott Blair ait étudié il y a près de 60 ans les propriétés, particulièrement complexes des pâtes de farine de blé.

Les techniques rhéologiques constituent maintenant un outil essentiel en science et technologie alimentaire. Leurs applications sont donc très nombreuses :

- ✓ Connaissance des matières premières, produits semi-finis et notamment, l'étude des relations entre composition, structure chimique et propriétés rhéologiques.
- ✓ L'appréciation de la valeur industrielle d'une matière première ou des propriétés fonctionnelles d'un constituant alimentaire, exemple : valeur boulangère d'une farine, pouvoir épaississant d'un hypocyloïde.
- ✓ L'analyse de mécanismes physico-chimiques conduit à des modifications des propriétés rhéologiques comme celles que l'on observe au cours de la coagulation du lait ou du pétrissage des pâtes de farine.
- ✓ L'évaluation instrumentale de la texture des aliments, dureté, friabilité, consistance, adhésion.

- ✓ Dans le domaine biologique, l'étude rhéologique des mélanges de tensioactifs et de polymères de charges opposées suscite de plus en plus d'intérêt, surtout les solutions de structures lamellaires, qui font l'objet de plusieurs travaux sur l'ADN où l'on a montré que le polymère confiné entre les bicouches des tensioactifs favorise la formation d'une structure bien organisée [71].

3.2 Caractérisation zétamétrique

3.2.1 Généralités sur la zétamétrie

La mesure du potentiel zêta des particules présentes dans les dispersions, suspensions, émulsions est de plus en plus évoquée tant en recherche industrielle ou médicale qu'en contrôle de production. De nombreux procédés impliquent une connaissance précise des caractéristiques de charge électrique et de potentiel de surface des interfaces. Quelques appareils de mesures ont été développés à cet effet, les plus récents sont entièrement automatisés et la plupart font appel à des techniques telles que la vélocimétrie Doppler optique. En dépit des progrès réalisés, les systèmes automatiques ne remplacent pas encore totalement les procédés de microélectrophorèse (observation microscopique du déplacement électrophorétique) en veine liquide qui permettent de différencier les particules dont on désire mesurer la charge dans des mélanges. Cette possibilité demeure essentielle notamment lors de l'étude de particules en suspension dans des milieux naturels. Les ressources de la microscopie (contraste de phase, fluorescence...) associées à l'analyse d'images électrophorétiques permettent d'étendre les possibilités des prototypes d'appareils en cours de développement [72].

La détermination du potentiel zêta permet d'appréhender la contribution électrostatique et électrocinétique à la stabilisation des dispersions. La répulsion électrostatique inter particulaire peut empêcher l'agrégation des particules dispersées et s'opposer à des phénomènes tels que la coagulation et la floculation. Les phénomènes électrocinétiques ralentissent la vitesse de sédimentation des particules et sont responsables de l'effet électro-visqueux.

La composante électrostatique de l'électrisation interfaciale représentée par le potentiel de surface Ψ_0 ne peut pas être mesurée directement. Il faut donc avoir recours à une mesure indirecte par le biais des phénomènes électrocinétiques (électrophorèse) qui rendent compte partiellement de la contribution électrostatique de la charge des interfaces.

La mesure du potentiel zêta des particules dispersées s'avère donc indispensable pour définir le rôle de l'électrisation intégrable dans le comportement des systèmes dispersés [72].

3.2.2 Double couche électrique

A l'interface entre une surface chargée et une solution électrolytique, il existe une couche de solution, notée "double couche", possédant des propriétés différentes de celles du réservoir. Plusieurs modèles successifs ont été élaborés pour décrire cette double couche.

A. Modèle de Gouy-Chapman

La théorie de la double couche électrique a été proposée initialement par Gouy et Chapman en 1910 [34]. Elle repose sur l'existence, à proximité d'une surface chargée, d'une couche dite diffuse possédant des propriétés différentes de celles du réservoir et qui, au-delà d'une certaine distance (longueur de Debye), récupère les propriétés du réservoir électrolytique (potentiel nul, concentrations en ions identiques à celles du réservoir). Dans cette couche diffuse, la distribution des contre-ions et des coions est déterminée à la fois par les interactions électrostatiques avec la surface, et par les mécanismes de diffusion liés à l'agitation thermique, qui tendent à rétablir l'équilibre avec le réservoir (Figure 3.9). Dans ce modèle, les ions sont considérés comme ponctuels et le solvant comme un continuum diélectrique, hypothèses non satisfaisantes surtout lorsqu'on se trouve à proximité de la surface chargée. Il a donc été indispensable de définir un nouveau modèle permettant de rendre compte de la taille finie des ions [34].

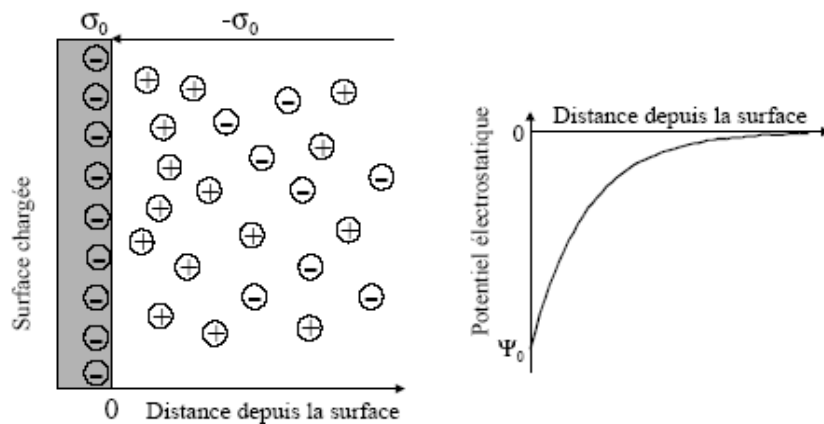


Figure 3.9 : Modèle de Gouy-Chapman montrant l'interface entre une surface chargée de potentiel ψ_0 et une solution électrolytique

B. Modèle de Stern

Ce modèle a été introduit en 1924 [34]. L'interface solide - solution se décompose encore en deux parties (Figure 3.10). La première partie est une couche dite compacte (couche de Stern) d'épaisseur d matérialisant la distance minimum d'approche des ions, hydratés ou non. Cette couche est donc exempte d'ions et peut être identifiée comme un condensateur de capacité C_s . La deuxième partie de l'interface est constituée par la couche diffuse, dont les caractéristiques sont les mêmes que dans le modèle précédent. Le plan séparant la couche compacte de la couche diffuse est noté plan de Stern.

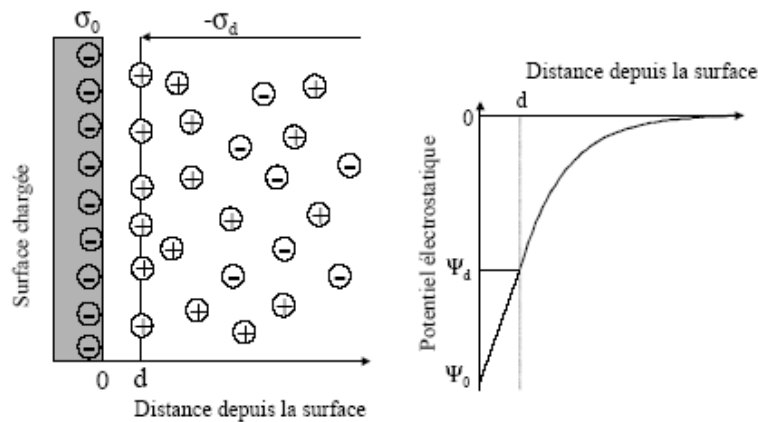


Figure 3.10 : Modèle de Stern, montrant l'existence d'une distance d en deçà de laquelle les ions ne peuvent se loger.

C. Modèle triple couche

Dans ce modèle, introduit en 1947 [34], la couche de Stern est elle-même subdivisée en deux parties (Figure 3.11). La première est située entre la surface et le plan interne de Helmholtz (PIH). C'est une couche où seuls les ions présentant une interaction forte avec la surface (ions spécifiquement adsorbés) peuvent se loger, en perdant partiellement ou totalement leur sphère d'hydratation (complexes de sphère interne). Le centre de ces ions est localisé au niveau du PIH, et cette couche peut être définie comme un condensateur de capacité C_i . La deuxième partie est comprise entre le PIH et le plan externe de Helmholtz (PEH), confondu avec le plan de Stern. Elle prend en compte, comme la couche de Stern, les ions hydratés retenus par les forces électrostatiques. Du point de vue électrique, cette couche se comporte comme un deuxième condensateur de capacité C_e .

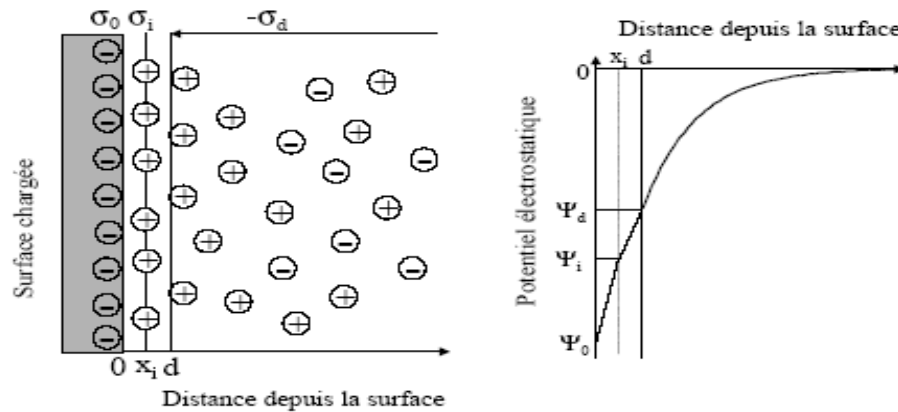


Figure 3.11: Modèle triple couche. Le plan interne de Helmholtz est localisé à la distance x_i de la surface alors que le plan externe de Helmholtz est localisé à la distance d .

Dans ces trois modèles, l'épaisseur de la couche diffuse apparaît comme un paramètre essentiel, permettant de caractériser la décroissance du potentiel. Cette épaisseur, appelée longueur de Debye et notée κ^{-1} , dépend de la force ionique de la solution. Elle diminue lorsque la force ionique augmente.

L'expression de la longueur réciproque de Debye est la suivante :

$$\kappa = \sqrt{\frac{\sum_i \rho_i^\infty e^2 z_i^2}{\epsilon \epsilon_0 kT}} \text{ en m}^{-1} \quad \text{Eq.3.27}$$

Où ρ_i^∞ est la concentration de l'ion i dans le réservoir et z_i , la charge de l'ion i .

Par ailleurs, dans chacun de ces modèles, le plan de la surface accueille lui-même les ions déterminant le potentiel, comme H^+ et OH^- en général, ou des ions participant à la structure du minéral. Pour chacun des ions déterminant le potentiel, peut être définie une loi d'action de masse décrivant son association avec un site de surface. La charge de surface est alors calculée en tenant compte de ces équilibres d'association, et dépend par conséquent à la fois des constantes d'équilibre, des concentrations en ions déterminant le potentiel dans la solution, et du nombre total de sites de surface.

3.2.3 Potentiel zêta

Lorsqu'on applique un champ électrique dans une suspension contenant des particules chargées, les particules acquièrent une certaine mobilité dépendant de leur charge et de leur cortège ionique. Il existe alors au sein de la double couche un plan délimitant deux

comportements d'ions différents. Les ions présentant une affinité spécifique pour la surface accompagnent la particule dans son mouvement, alors que les ions ayant une attraction plus faible se séparent progressivement de la surface. Ce plan, appelé plan de cisaillement, est défini à partir de considérations hydrodynamiques. Cependant, il est possible de le relier à la description chimique de la double couche. En effet, il est généralement très proche du plan délimitant la couche compacte de la couche diffuse, dit plan externe de Helmholtz. Le potentiel au plan de cisaillement est couramment noté potentiel zéta ou ζ . Il dépend principalement de deux paramètres : le potentiel au plan interne de Helmholtz, qui peut être du signe opposé au potentiel de surface dans le cas d'une adsorption spécifique, et la force ionique de la solution, comprimant plus ou moins la double couche électrique. Le potentiel zéta est accessible expérimentalement par des mesures électrocinétiques [34].

3.2.4 Principe des mesures électrocinétiques

Le principe de mesure repose sur la mobilité électrophorétique des particules chargées en suspension dans un réservoir électrolytique. L'application d'un champ électrique entraîne les particules chargées vers l'électrode de charge opposée. C'est le phénomène d'électrophorèse. Simultanément à l'électrophorèse intervient le phénomène d'électroosmose. Les parois de la cellule étant chargées, il en résulte, sous l'effet du champ électrique appliqué, un déplacement du fluide dans son ensemble, selon un profil parabolique.

La mobilité u des particules se définit comme le rapport entre la vitesse v de ces particules et le champ électrique E appliqué : $u = v/E$. La mobilité électrophorétique permet d'accéder à la valeur du potentiel zéta, selon la relation de Henry :

$$u = \frac{2\varepsilon\varepsilon_0\zeta}{3\eta} \times f(\kappa a) \quad \text{Eq.3.28}$$

où η est la viscosité du liquide, $\varepsilon\varepsilon_0$ est la constante diélectrique du liquide, κ^{-1} est la longueur de Debye et a , le rayon de la particule.

Le facteur $f(\kappa a)$ dépend de la forme de la particule. Dans le cas d'une particule sphérique, et si κa est très supérieur à 1 (double couche mince devant la taille des particules), la relation se simplifie selon l'équation de Smoluchowski où $f(\kappa a) = 3/2$

$$u = \frac{\varepsilon\varepsilon_0\zeta}{\eta} \quad \text{Eq.3.29}$$

Cette relation simple permet, à partir des mobilités électrophorétiques, d'accéder au potentiel zêta lorsque le champ électrique appliqué est connu [73].

3.2.5 Les informations fournies par ce type de mesures [73]

Comme il a été dit précédemment, le potentiel zêta dépend du potentiel au plan interne de Helmholtz, lui-même révélateur du comportement des ions interagissant avec la surface. Il existe trois types de comportements possibles pour ces ions, représentés sur la figure 3.12

- Ions déterminant le potentiel

Ce sont des ions constitutifs de la structure du solide, qui fixent la charge de surface de celui-ci. Dans le cas des oxydes, ce sont les ions H^+ et OH^- . Le potentiel de surface, calculé à partir de la charge de surface, tient donc compte de la fixation de ces ions.

- Ions indifférents

Ce sont des ions n'ayant qu'une interaction purement électrostatique avec la surface. Tous les ions de même signe et de même valence ont le même comportement vis-à-vis de la surface.

- Ions spécifiquement adsorbés

Ce sont des ions possédant une affinité pour la surface, de nature chimique et non électrostatique. Ils peuvent donc s'adsorber sur une surface non chargée ou de signe opposé. Cette interaction dépend alors de la nature de l'ion adsorbé

Le potentiel zêta est généralement déterminé en fonction de la concentration en ions déterminant le potentiel. La concentration pour laquelle le potentiel zêta s'annule est appelée point de charge nulle, dans le cas où aucun autre ion n'est présent dans la solution. C'est également le point où le potentiel de surface s'annule. La charge de surface du solide est alors globalement neutralisée.

Les ions indifférents ont la propriété de ne pas modifier le point de charge nul du solide. Leur seule influence sur le potentiel zêta est d'abaisser sa valeur absolue, par compression de la double couche, lorsque leur concentration en solution augmente (Figure 3.12). Plus la concentration est élevée, plus l'épaisseur de la couche diffuse est petite et plus la décroissance du potentiel est rapide, conduisant à des valeurs de potentiel zêta plus faibles. En revanche, les ions spécifiquement adsorbés déplacent la valeur de la

concentration en ions déterminant le potentiel pour laquelle le potentiel zêta s'annule. Cette concentration est alors appelée point isoélectrique [73].

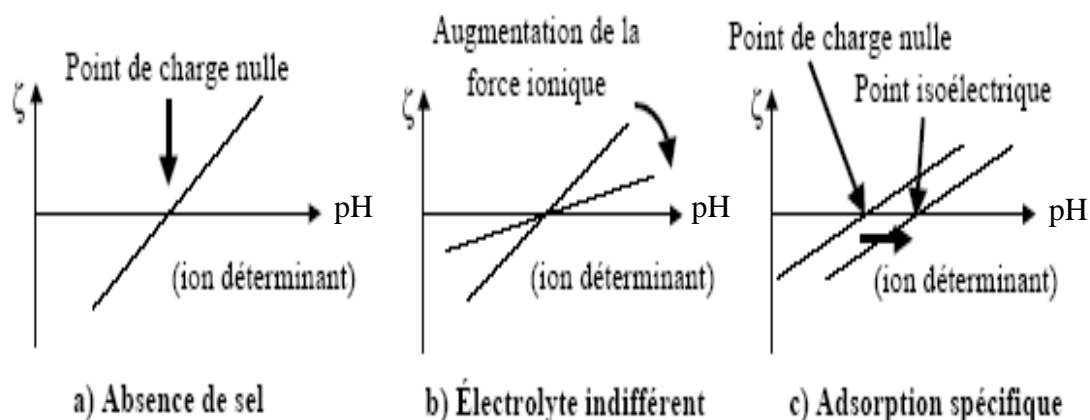


Figure 3.12 : Evolution du potentiel zêta en fonction de la teneur en ions déterminant le potentiel.

Le seul effet des ions indifférents est d'abaisser la valeur absolue du potentiel zêta. En ce qui concerne les ions spécifiquement adsorbés, leur effet est de modifier la valeur du point isoélectrique par rapport au point de charge nulle. Cependant, le schéma représenté sur cette figure est simplifié, car il est évident que l'augmentation de la force ionique va également induire une diminution de la valeur absolue du potentiel zêta.

3.2.6 Applications

La mesure du potentiel zêta concerne de très nombreuses applications notamment [72]

- En médecine, biologie, pharmacie

- Mesure des charges électriques membranaires, microrhéologie.
 - Etude des mécanismes électrocinétiques et électrostatiques de fixation des médicaments.
 - Influence de la charge électrique sur les dispersions biologiques (sang).
 - Etude de l'influence de la charge sur la biocompatibilité.
- En formulation et contrôle de la stabilité des dispersions en phase liquide
- Emulsions, suspensions, surfactifs, détergents.
 - Médicaments, produits cosmétiques, peintures.

- En mise au point et contrôle de process industriels

- Coagulation, décantation, filtration, cataphorèse, séchage.

- Electrocinétique, détergence.

- Enrobage (bitumes...), traitements des eaux et des effluents, biotechnologies.

- Industrie papetière, agro-alimentaire.

- En chimie

- Polymérisation en phase émulsion.

- Electrisation photochimique.

- En géologie

- Influence des phénomènes électrocinétiques sur la nature et le mouvement des sols.

CHAPITRE 4

PARTIE EXPERIMENTALE

4.1 Introduction

De prime abord, on s'intéresse aux propriétés physico-chimiques des solutions à base de xanthane et de caséinate de sodium, séparément, et voir l'effet que peuvent générer deux types de sel, à savoir, **KCl** et **CaCl₂** sur les caractéristiques à l'échelle macroscopique, notamment rhéologique et zétamétrique et déduire par la même l'état conformationnel de ces deux biopolymères. Cette étape sera suivie de l'étude expérimentale du mélange polysaccharide - protéine dans la solution avec et sans le sel, en déterminant les propriétés rhéologiques et physico-chimiques ainsi que le comportement de phase du système, en fonction de la variation de la concentration simultanée des deux biopolymères et de la force ionique.

4.2 Matériels et méthodes

4.2.1 Produits utilisés

Le caséinate de Sodium est une protéine anionique équilibrée, qui se présente sous forme de poudre blanche soluble dans l'eau à pH neutre. Elle a des propriétés émulsifiantes et de liaison. Elle est fournie par ARMOR Protéines, France. Le tableau 4.1 représente la fiche technique du caséinate utilisée.

Tableau 4.1 Caractéristiques physico-chimiques du caséinate

• <u>Caractéristique physique</u>		
Aspect	Poudre	
Couleur	Crème	
Goût	Typique	
² pH	6.5-7.0	
• <u>Composition chimique</u>		
Protéines	88% min	96% sur sec.
Humidité	6% max.	
Cendre+ Matière grasse	6% max.	
Lactose	0.2% max.	
Sodium	1.3%	
• <u>Analyse microbiologiques</u>		
Flore aérobie mésophile	30 000/g max.	5 000g/ max.
Flore aérobie thermophile	5 000 g max.	
Coliformes	absence/ 0.1 g	
Levures+moisissures	100 g max.	
Staphylococcus Aureus	absence/ 0.1 g	
Salmonelles	absence/ 25 g	

La gomme xanthane est un bio polysaccharide anionique naturel. Elle est produite par *Xanthomonas campestris* et est composée de différents monosaccharides, de mannose, de glucose, et d'acides glucuronique. La distribution du poids moléculaire varie de 2×10^6 à 20×10^6 Da. Cette distribution dépend de l'association entre les chaînes, formant des agrégats de plusieurs chaînes différentes. Les variations des conditions de fermentation utilisées dans la production sont des facteurs qui peuvent influencer le poids moléculaire du xanthane. Elle est soluble dans l'eau mais pas dans les solvants organiques. Les enzymes qui dégradent généralement d'autres polymères naturels, tels que la cellulose, n'affectent pas le xanthane, ceci a été attribué à la structure uniforme du polymère. Elle est fournie par la société RHODIA.

L'azidure de Sodium (N_3Na) est utilisé à 0.01%, comme agent de conservation, pour protéger les solutions des contaminations microbiennes.

Les solutions ont été préparées en faisant dissoudre les quantités appropriées des deux espèces polymériques dans l'eau distillée, en présence de 0.01% d'azidure de sodium. La dissolution des constituants est assurée à l'aide d'agitateurs magnétiques, pendant 20 heures, à température ambiante.

4.2.2 Méthodes d'analyses

4.2.2.1 Analyse rhéologique

L'étude rhéologique des solutions de polymère a été traitée expérimentalement selon deux types d'expérience : une analyse de la viscoélasticité des solutions en régime linéaire et une analyse sous écoulement en dehors du régime linéaire. Le rhéomètre utilisé, à cet effet, est de type Couette (PAAR Physica RHEOLAB MCR 300) qui est relié à un thermostat et est piloté par un micro-ordinateur utilisant le logiciel US 200, pour l'acquisition et le traitement des données expérimentales

Les solutions à base de protéine et de polysaccharide sont généralement viscoélastiques : elles ont un comportement intermédiaire entre le solide élastique et le liquide visqueux. Sous cisaillement, elles stockent une partie de l'énergie sous forme élastique, caractérisé par le module de conservation élastique G' , et en, dissipent une partie sous forme visqueuse, caractérisé par le module de perte G'' . Lorsque le cisaillement s'arrête, seule la contribution élastique de l'énergie est restituée de sorte qu'une partie des déformations de la configuration macromolécule persiste en solution.

Aussi, le test de la viscoélasticité des solutions en régime linéaire renseigne sur l'état structural de l'échantillon en évaluant notamment sa rigidité et le caractère de la solution.

Pour ce qui est des expériences sous écoulement, hors régime linéaire, les déformations sont trop fortes pour que le système puisse conserver sa structure microscopique initiale. Le cisaillement provoque des phénomènes de rupture des liens physiques dont les cinétiques gouvernent l'évolution de la structure globale du système. Ce test est nécessaire pour faire ressortir des informations concernant la viscosité et sa variation au cisaillement.

4.2.2.2 Test de zetamétrie

Ce test est basé sur la mesure du potentiel ζ , déterminé suite au mouvement électrophorétique des particules chargées, sous l'action d'un champ électrique E . Cette analyse est réalisée à l'aide d'un zétamètre de marque « ZETASIZER 2000 » de MALVERN, piloté par microordinateur. A noter que les échantillons n'ont pas nécessité une dilution pour les rendre limpides et la mesure s'effectue trois fois, pour obtenir finalement, une valeur moyenne.

4.3 Résultats et discussions

4.3.1 Etude des solutions à base de xanthane en absence de sel

Le domaine de variation de la concentration du xanthane est de [0.1% à 0.5%]. Dans ce domaine les solutions sont considérées semi-diluées, et les interactions intramoléculaires sont dominantes et gouvernent largement la variation des propriétés macroscopiques rhéologiques et électrocinétiques.

A. Test de viscoélasticité en rampe de déformation

Pour ce type de test, on maintient une fréquence constante $W= 1\text{HZ}$ et on fait varier le pourcentage de déformation γ de 1 % à 10^{-4} % en rampe logarithmique. On prélève ainsi des valeurs du module de conservation G' et des valeurs du module de perte G'' ainsi que le « facteur Damping » où tangente de l'angle de perte qui est $\tan \delta = \frac{G''}{G'}$, enfin des valeurs du module de rigidité G^* . On représente un graphe type de cette analyse, associé à la concentration du xanthane qui est égale à 0.3 % (figure 4.1).

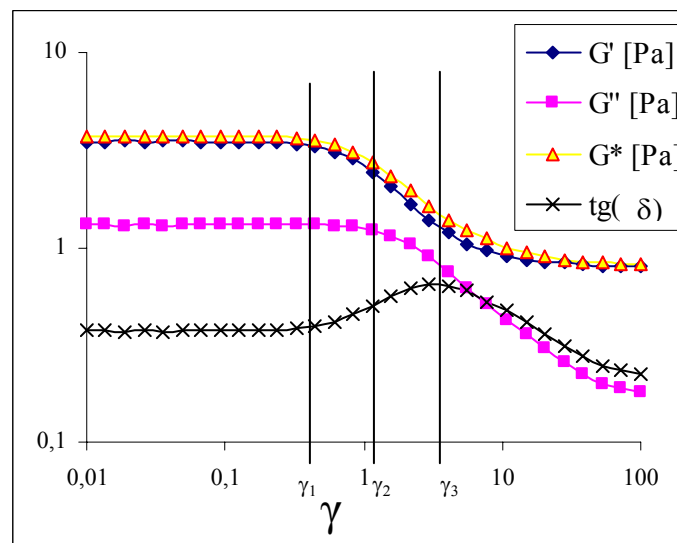


Figure 4.1 : Courbe de viscoélasticité du xanthane 0.3%

Dans tous le domaine balayé la courbe de viscoélasticité du xanthane $G' > G''$ ce qui confère à notre solution la caractère « Gel ».

- Dans le domaine de déformation compris entre 0.01 % et γ_1 G' et G'' sont constants ce qui correspond au domaine de viscoélasticité linéaire.

- Entre γ_1 et γ_2 , le module de perte G'' reste constante mais G' accuse une perte, dans ce cas, on remarque que la rigidité par son module G^* diminue et $\tan \delta = \frac{G''}{G'}$ augmente.

On peut dire que le matériau devient relativement plus dissipatif avec une rigidité plus faible.

- Entre γ_2 et γ_3 , les deux modules G' et G'' diminuent avec γ , toute fois $\tan \delta$ augmente dans ce domaine, ce qui montre que le matériau tend à devenir plus dissipatif.

- Au delà de γ_3 , G' se stabilise et G'' diminue toujours, ceci se traduit alors par une diminution de $\tan \delta$, et donc le matériau, dans ce domaine à tendance à devenir moins dissipatif. A noter que la rigidité est stable dans ce domaine aussi dans tous les cas de figure le module de rigidité évolue de la même manière que G' .

Par ailleurs on représente sur la figure 4.2, l'ensemble des courbes de G_0' en fonction de la déformation et cela à diverses concentrations de xanthane.

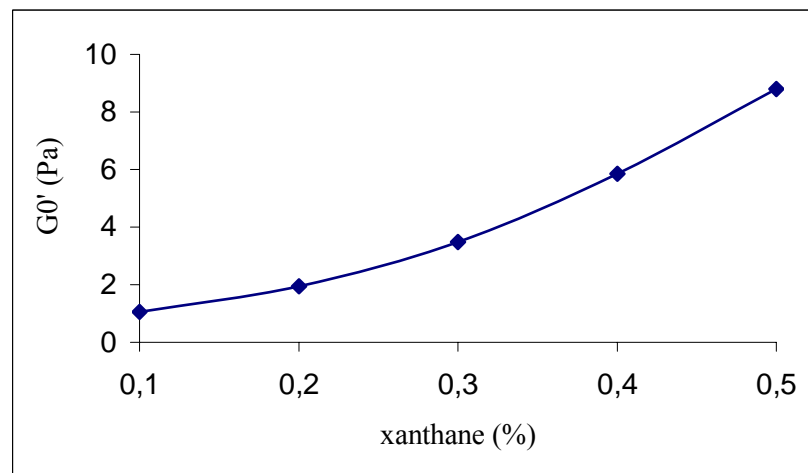


Figure 4.2 : Evolution de G_0' à différentes concentrations du xanthane

A la lumière de cette figure il apparaît que le module de conservation et par la même la rigidité est d'autant importante que la concentration soit élevée. Ceci est plausible du fait que l'augmentation des macromolécules du xanthane fait que le réseau polymérique devient plus renforcé par enchevêtrement de ses macromolécules.

B. Test d'écoulement

Lors de ce test on étudie la variation de la viscosité en fonction de la variation de la vitesse de déformation ; pour cela on fait varier le $\dot{\gamma}$ de 0.001 à 1000 s^{-1}

On trace la courbe de η en fonction de $\dot{\gamma}$ à diverses concentrations de xanthane figure 4.3

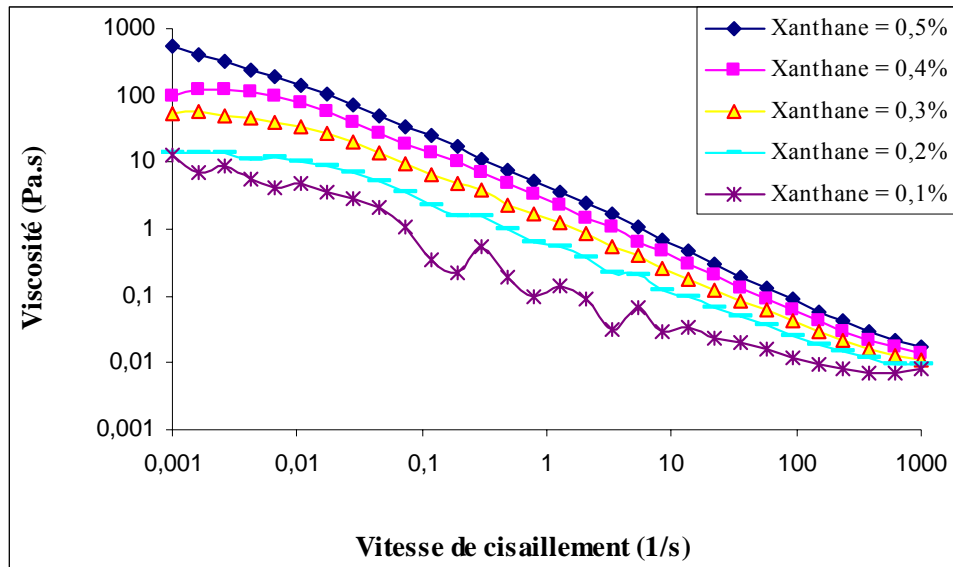


Figure 4.3 : courbe d'écoulement à différentes concentrations de xanthane

Au regard de l'allure de ces différentes courbes on remarque que :

- aux très faibles cisaillements, la viscosité est quasiment constante à l'exception de celle associée à 0.5% en xanthane, ceci correspond à la 1^{ère} région Newtonienne, auquel cas les macromolécules du xanthane sont soumises partiellement aux interactions d'attractions notamment de Van Der Waals et d'hydrogène et répulsives de cisaillement. La résultante de ces interactions est nulle et donc ces macromolécules sont dans un état d'équilibre dynamique où la cinétique d'agrégation et de désagrégation est nulle la viscosité dans ce cas est constante (système agrégé au delà de 0.07% massique) [74].

Dans le domaine de cisaillement moyen, la viscosité apparente diminue en fonction de $\dot{\gamma}$ ce qui laisse supposer les forces de répulsion de cisaillement deviennent importantes si bien que les macromolécules se dispersent et s'alignent partiellement suivant le sens de l'écoulement affaiblissant par la même leur résistance à cet écoulement. Dans ce cas le fluide est rheofluidifiant.

- Aux très forts cisaillements, les macromolécules sont complètement dispersées et orientées suivant l'écoulement et leur résistance devienne constante et par la même la viscosité, ce domaine est associé à la 2^{ème} région Newtonienne.

Il apparaît par ailleurs que la viscosité augmente avec l'ajout de xanthane, ce qui est normal quant à la fonction hydrocolloïdale du xanthane.

C. Analyse zétamétrique

Les échantillons étant quasiment transparents, donc ne nécessitent pas une dilution préalable. Les résultats sont présentés dans la figure 4.4

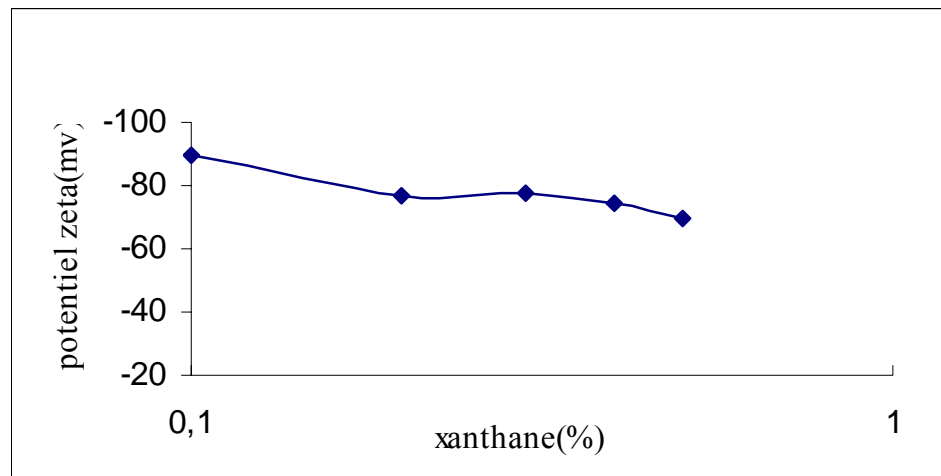


Figure 4.4 : Potentiel ζ à différentes concentrations du xanthane

Au vu de cette figure le potentiel ζ semble diminuer en fonction de l'augmentation de la concentration du polyelectrolyte ceci est dû probablement au déplacement devenant difficile et lent des macro ions anioniques du xanthane vers la cathode et cela en dépit de l'augmentation des charges, en conséquence la vitesse électrophorétique diminue et par la même la mobilité μ et le potentiel ζ .

4.3.2 Etude des solutions à base de xanthane en présence de sel

Le domaine de **KCl** utilisé est de [1mM, 100mM] et celui de **CaCl₂** est de [0.1mM jusqu'à 10mM]

A. Test de viscoélasticité

Il apparaît que pour des concentrations de 0.1% et 0.3% en xanthane en présence de **KCl** que les deux modules de conservation et de perte dans le domaine linéaire de viscoélasticité ne subissent pas une modification notable par ajout de sel (Tableau 4.2), en revanche pour une concentration de 0.5% en xanthane G'_0 enregistre une petite diminution associée à une faible quantité en sel puis on enregistre un palier quelle que soit la quantité de **KCl** ajouté figure 4.5

Tableau 4.2 : Valeurs de G'_0 et de G''_0 des solutions à base de 0.1% et de 0.3 % de xanthane, à diverses concentration de **KCl**.

Concentration en KCl (mM)	xanthane 0.1 %		xanthane 0.3%	
	$G'_0(\text{Pa}) \times 10$	$G''_0(\text{Pa})$	$G'_0(\text{Pa})$	$G''_0(\text{Pa})$
0	1.05	3.27	3.48	1.30
1	1.06	3.3	3.48	1.38
2.51	1.04	3.4	3.6	1.4
6.31	1.04	3.2	3.58	1.34
15.8	1.04	3.23	3.49	1.38
39.81	1.06	3.25	3.6	1.32
100	1.05	3.2	3.47	1.42

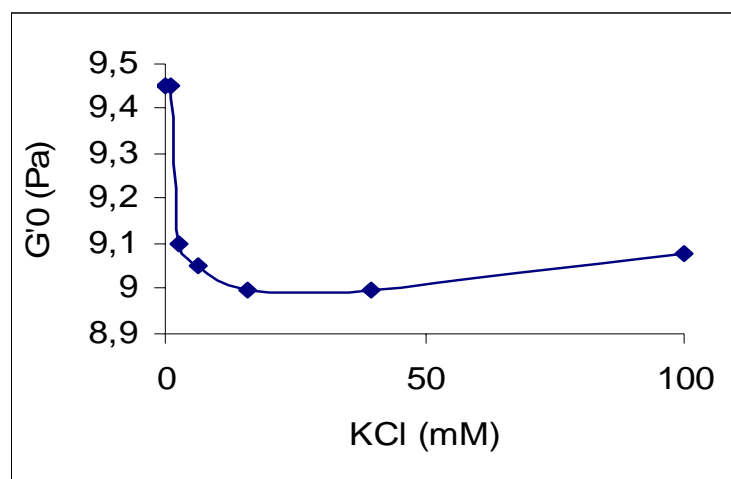


Figure 4.5 : Variation du module de conservation de la solution à 0.5 % de xanthane en fonction de **KCl**

Ce résultat paraît contradictoire par rapport à celui trouvé par Emmanuel Rouy [7] où il a trouvé plutôt une légère augmentation de G'_0 aux faibles concentrations de KCl mais associée à 1 % de xanthane (solution concentrée).

La différence entre les deux résultats paraît probable du fait que pour 0.5% de xanthane la solution est semi diluée, et les interactions inter macromoléculaires sont minimales. Par contre les interactions attractives intra macromoléculaires, essentiellement entre chaînons latéraux et squelette principale prennent naissance en présence du sel ce qui réduit les enchevêtrement inter macromoléculaires et par la même la fragilisation de la rigidité de la structure.

Talukdar et AL [75] ont déjà observé un seuil en quantité de sel à partir duquel G' n'évolue plus.

- Par contre G''_0 enregistre un palier au vu de la figure 4.6.

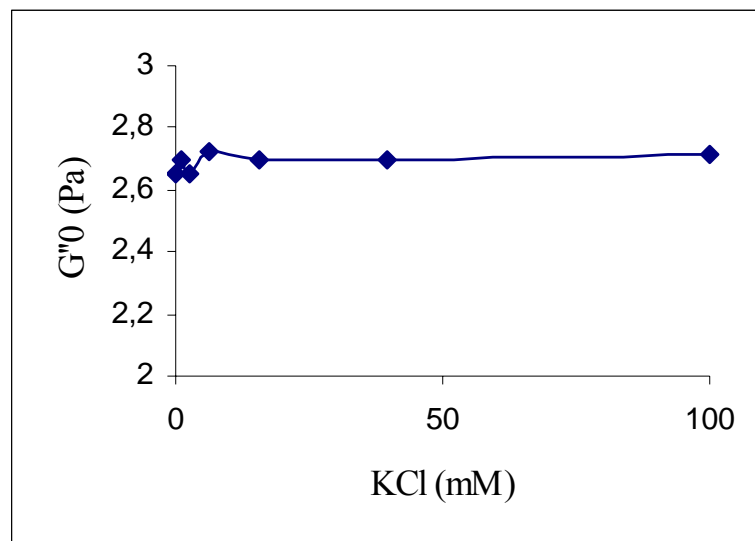


Figure 4.6 : Variation du module de perte de la solution à 0.5 % de xanthane en fonction de **KCl**

Pour le **CaCl₂** on remarque une similitude au niveau de l'évolution de G' et G'' par rapport au cas de **KCl**, c'est à dire qu'aux concentrations 0.1% et 0.3% en xanthane il n'y a pas de changement avant et après ajout de sel (voir appendice B). Ce n'est qu'à la concentration associée à 0.5% en xanthane qu'il y'a eu une légère diminution de **CaCl₂**. (Voir figure 4.7)

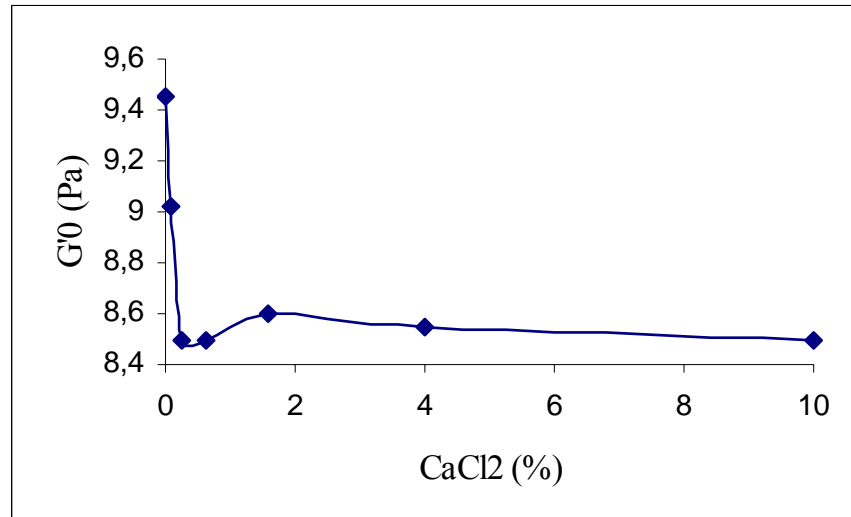
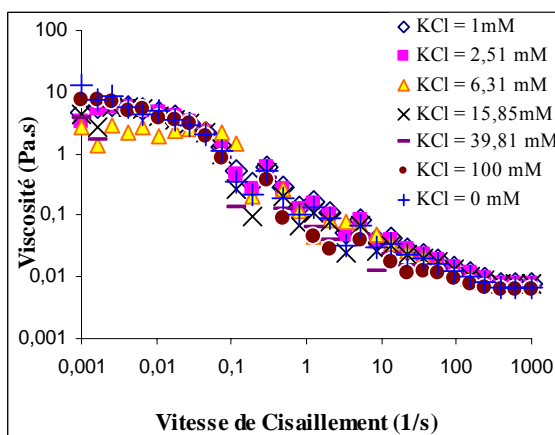


Figure 4.7 : Variation du module de conservation de la solution à 0.5 % de xanthane en fonction de la variation de la concentration de CaCl_2

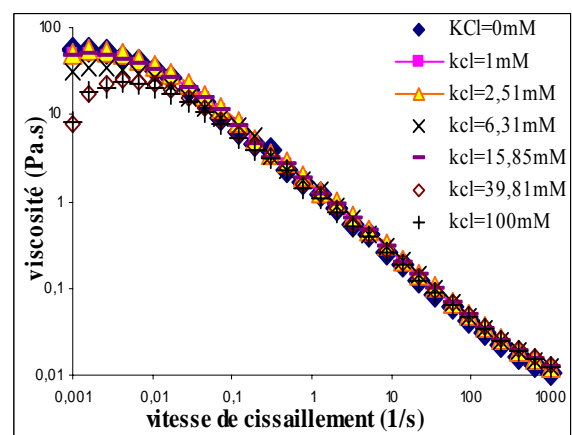
Cette diminution de $G'0$, aux faibles concentrations de CaCl_2 , serait due soit à l'écrantage des contre ions Ca^{++} des sites anioniques du xanthane ou carrément à une complexation intra-macromoléculaires des cations Ca^{++} .

B. test d'écoulement :

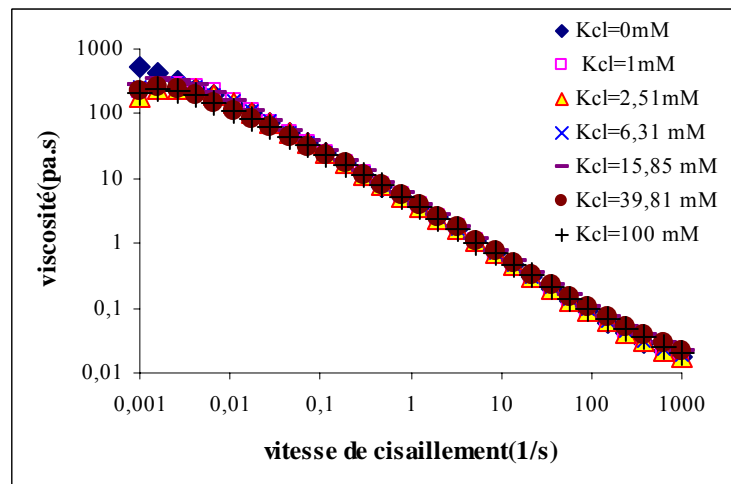
On détermine les courbes d'écoulement des solutions de xanthane 0.1%, 0.3% et 0.5% à diverses concentrations de **KCl** les résultats sont représentés sous forme de graphique donnant la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement (Figure 4.8 –a-b-c).



a : 0.1% de xanthane



b : 0.3% de xanthane



c : 0.5% de xanthane

Figure 4.8-a-b-c : Courbes d'écoulements des solutions de xanthane en fonction de la variation de la concentration de **KCl**.

Aussi on remarque que la 1^{ère} région Newtonienne associée au très faibles cisaillement est d'autant mise en évidence que la concentration en xanthane est faible, la même remarque peut être faite pour la 2^{ème} région Newtonienne.

A noter qu'au regard de ces trois figures l'effet de **KCl** sur la viscosité apparente n'apparaît pas et donc il est judicieux de faire un zoom particulièrement dans le domaine de très faible et très fort cisaillement associé à $\dot{\gamma} = 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ et $\dot{\gamma} = 10^3 \text{ s}^{-1}$ respectivement.

De prime abord, on remarque que l'ajout de sel fait abaisser la viscosité des solutions du xanthane (Figure 4.9-a)

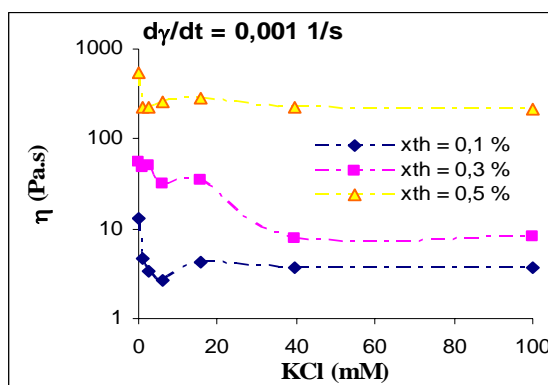


Figure 4.9-a : Courbe d'écoulement des solutions de xanthane à $d\gamma/dt$ faible .

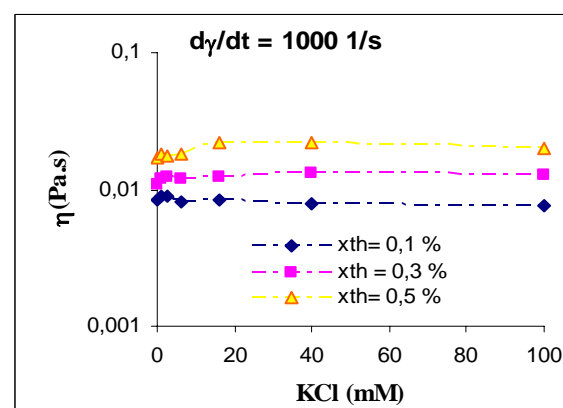


Figure 4.9-b : Courbe d'écoulement des solutions de xanthane à $d\gamma/dt$ fort.

-En effet en milieu salin les charges anioniques du motif du xanthane (groupement pyruvate et glucuronique) sont écrantées ou éventuellement adsorbées, ce qui contribue à réduire le volume hydrodynamique des macromolécules (contraction de la macromolécule), les interactions répulsives intra-macromoléculaires diminuent au dépend des interactions macromoléculaires attractives. Les chaînons latéraux se replient et s'alignent le long du squelette principal en provoquant l'abaissement de la viscosité

En outre la variation de **KCl** génère une variation non monotone de la viscosité apparente puis elle atteint une valeur constante.

Pour ce qui est de la stabilité de la viscosité au delà d'une certaine concentration de **KCl**, Talukdar et Al ont déjà observé un seuil en quantité de sel à partir duquel la viscosité n'évolue plus [75].

L'explication la plus plausible, quant à la stabilité de la viscosité, est que les sites anioniques sont complètement contractés si bien que le rajout de sel ne modifie plus la viscosité.

Pour ce qui est de la figure 4.9-b associé à $\dot{\gamma} = 10^3 \text{ s}^{-1}$ la viscosité est visiblement constante et cela dans tous les cas de figure (avec ou sans sel).

Ceci est vraisemblable, car les interactions de cisaillement sont si importantes que les chaînons latéraux et le squelette principal s'alignent et s'orientent suivant le sens de l'écoulement, le volume hydrodynamique des macromolécules est le plus faible.

De la même manière, on détermine expérimentalement les courbes d'écoulement des solutions de xanthane 0.1%, 0.3 % et 0.5% à diverses concentrations de **CaCl₂**, (voir appendice C), puis de ces figures, on fait ressortir les valeurs de viscosité apparentes associées aux très faible et très fort cisaillements, qu'on représente sur les figures 4-10 a et b. Il apparaît ainsi à la lumière de ces courbes que la présence de **CaCl₂** dans les solutions du xanthane abaisse la viscosité, ceci laisse supposer que les cations **Ca⁺⁺** ne forment pas de pont intermacromoléculaire, mais peuvent développer des interactions attractives intra macromoléculaires, vu que la viscosité a diminué.

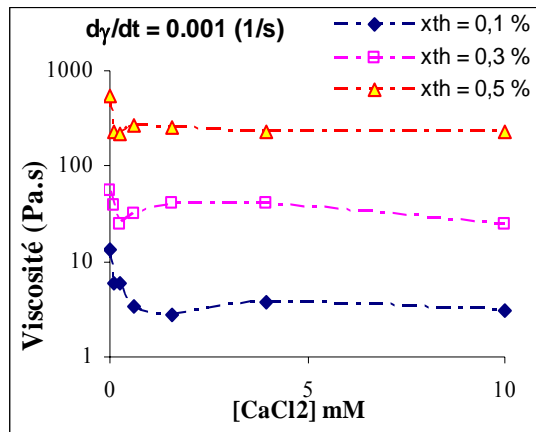


Figure 4.10-a : Courbe d'écoulement des solutions de xanthane à $d\gamma/dt$ faible .

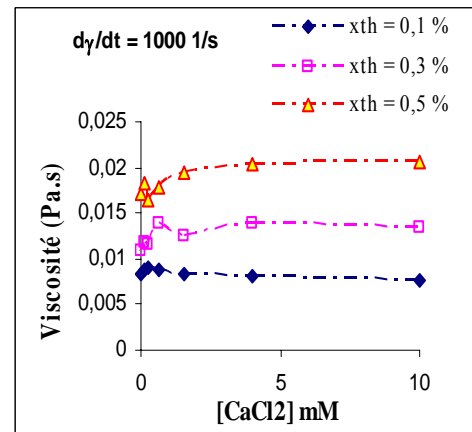


Figure 4.10-b : Courbe d'écoulement des solutions de xanthane à $d\gamma/dt$ fort.

Quant à la figure 4-10- b associé à $\dot{\gamma} = 10^3 \text{ s}^{-1}$ la viscosité est visiblement constante et cela dans tous les cas de figure (avec ou sans sel). Ceci est vraisemblable, car les interactions de cisaillement sont si importantes que les chaînons latéraux et le squelette principal se déploient, s'alignent et s'orientent complètement suivant le sens de l'écoulement.

Dans le cas de CaCl_2 , on retrouve pratiquement le même effet que KCl , quant à la variation de la viscosité apparente dans les deux domaines extrêmes, à savoir pour des cisaillements très faibles et très forts.

C. Test de zétamétrie

Une étude électrocinétique des solutions polymériques à diverses concentrations de KCl et de CaCl_2 , figures 4.11-a et 4.11-b, montre que ζ chute en fonction de l'augmentation de la force ionique.

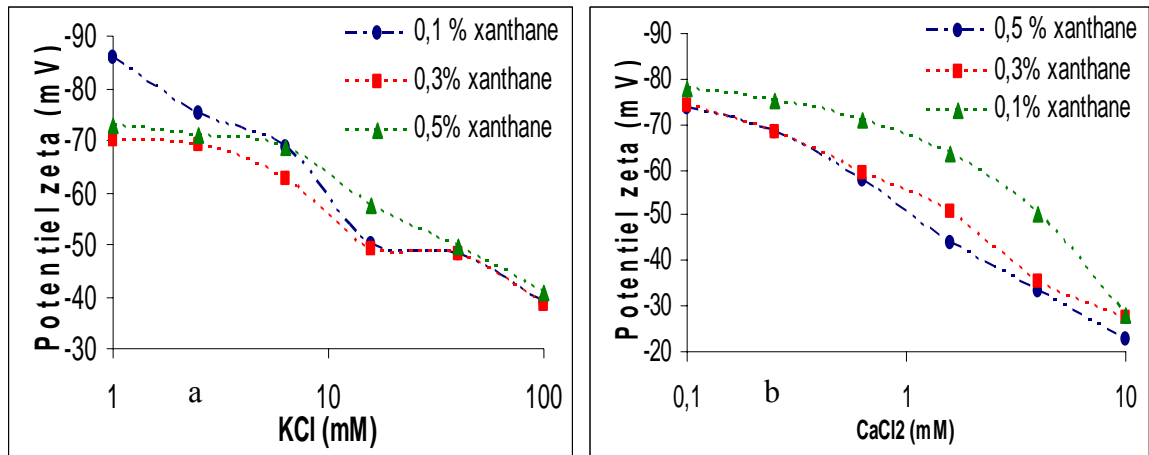


Figure 4.11 : Variation du potentiel zêta en fonction de la force ionique : a : KCl , b : CaCl_2 .

Cette chute est due soit à la compression de la double couche électrique, si les ions de KCl et de CaCl_2 se comportent comme des ions indifférents, en écrantant les sites anioniques. L'autre possibilité envisageable, est que les contre ions K^+ et Ca^{++} s'adsorbent sur les sites anioniques du xanthane. On peut avoir également la combinaison des deux mécanismes proposés, du fait que la viscosité à très faible cisaillement a diminué. Aussi, est-il important de connaître, avec précision, si les cations K^+ et Ca^{++} s'écrantent ou s'adsorbent sur les sites anioniques des macromolécules du xanthane. Ce faisant, on effectue une analyse du potentiel zêta en fonction de la variation du pH et de la force ionique des deux sels figures 4.12-a et b. Le but recherché de cette étude est la détermination du potentiel isoélectrique, pI, ($\text{pH} = \text{pI}$ associé au potentiel zêta nul).

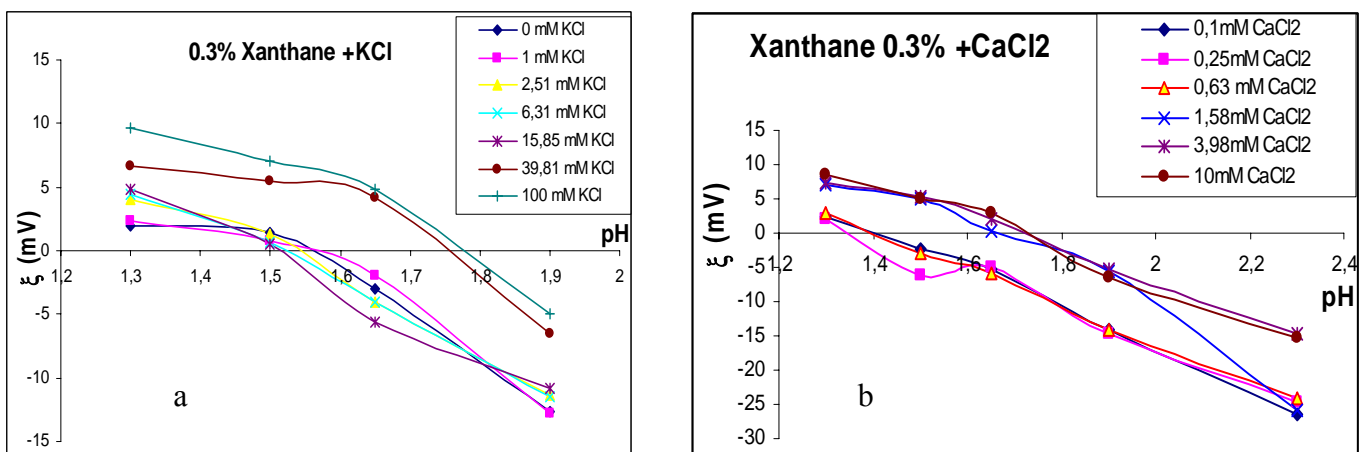
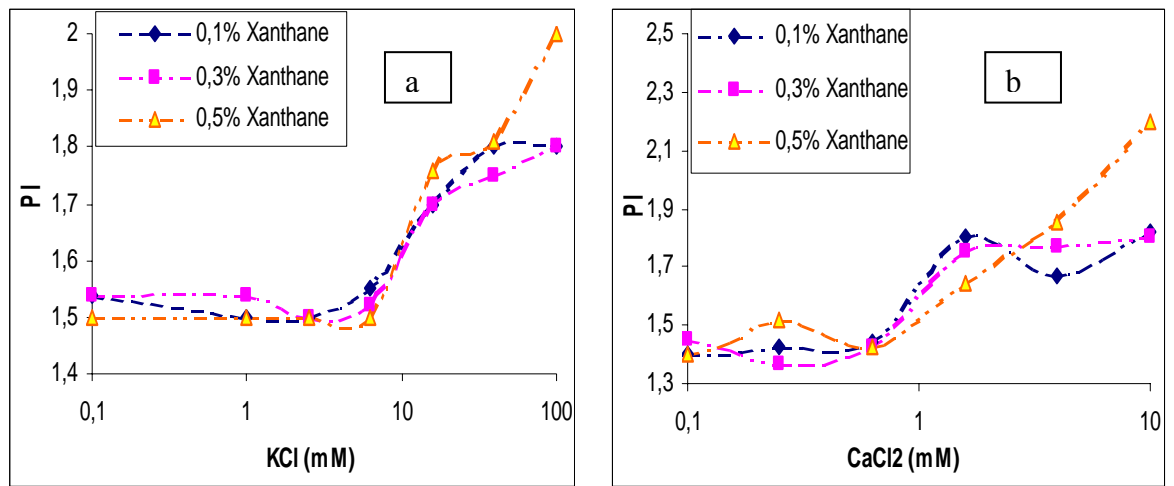


Figure 4.12 : Variation de ζ en fonction de la variation du pH à diverses [c] de KCl (a) et de CaCl_2 (b).

A la lumière de ces graphes, on observe qu'effectivement le pI se déplace pour des concentrations élevées en sel. Aussi, est-il probable que ce déplacement dépend également de la concentration mise en jeu du xanthane. On se propose alors, de représenter sur les deux graphes, figures 4.13-a et b la variation du pI en fonction des variations simultanées des concentrations du sel et du xanthane. On remarque que le pI enregistre un palier pour des concentrations inférieures à 15,85 pour **KCl** et 1,58 pour **CaCl₂**. Dans ce domaine le pI ne subit aucun déplacement, malgré la variation de la concentration du xanthane. Au-delà de ces deux concentrations seuils, pI augmente, ce qui laisse supposer que les cations se sont adsorbés. Il faut noter, par ailleurs l'augmentation particulière du pI, lorsque le xanthane est à sa concentration maximale.



Figures 4.13-a et b : Variation du pI en fonction de la variation de la concentration du sel et du xanthane.

4.3.3. Etude des solutions à base de caseinate de sodium en absence de sel

Le domaine de variation de concentration **Cn-Na** est (0,5% - 6%).

A. test de viscoélasticité en rampe de déformation :

On fixe la fréquence à 1 Hz et on fait varier γ de 1% à 10 000% on représente dans la figure 4.14 l'évolution de G' et de G'' en fonction de γ pour la solution 3% de Cn-Na.

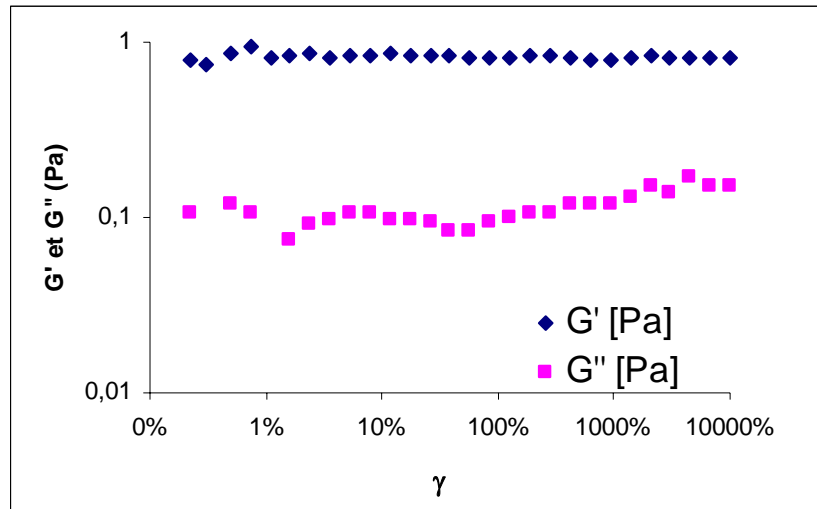


Figure 4.14 : Courbe de viscoélasticité de caséinate de sodium.

Aussi, il est clair que le domaine non linéaire de viscoélasticité n'apparaît pas, vue que G' et G'' sont constants dans tous le domaine de γ . On se propose alors de regrouper les valeurs de G'_0 G''_0 dans le tableau 4-3.

Tableau 4.3 : Valeurs des modules de conservation et de perte dans le domaine linéaire des solutions de caséinate de sodium.

Concentration en Cn-Na (%)	0.5	1	2	3	4	5	6
G'_0 (Pa)	1	1	1.06	0.99	1.03	1.05	1
G''_0 (Pa) *10	1.3	1.2	1	1	1.1	1.2	1

Visiblement ces deux paramètres viscoélastiques paraissent insensibles à la concentration du **Cn-Na**, ceci laisse supposer que les solutions à base de Cn-Na ne sont pas concentrées dans l'intervalle d'étude.

B. Test d'écoulement :

La vitesse de déformation de cisaillement varie de $\dot{\gamma} = 0.001$ à 1000 s^{-1} .

On trace les courbes de η en fonction de $\dot{\gamma}$ à diverses concentrations de **Cn-Na**, Figure 4.15.

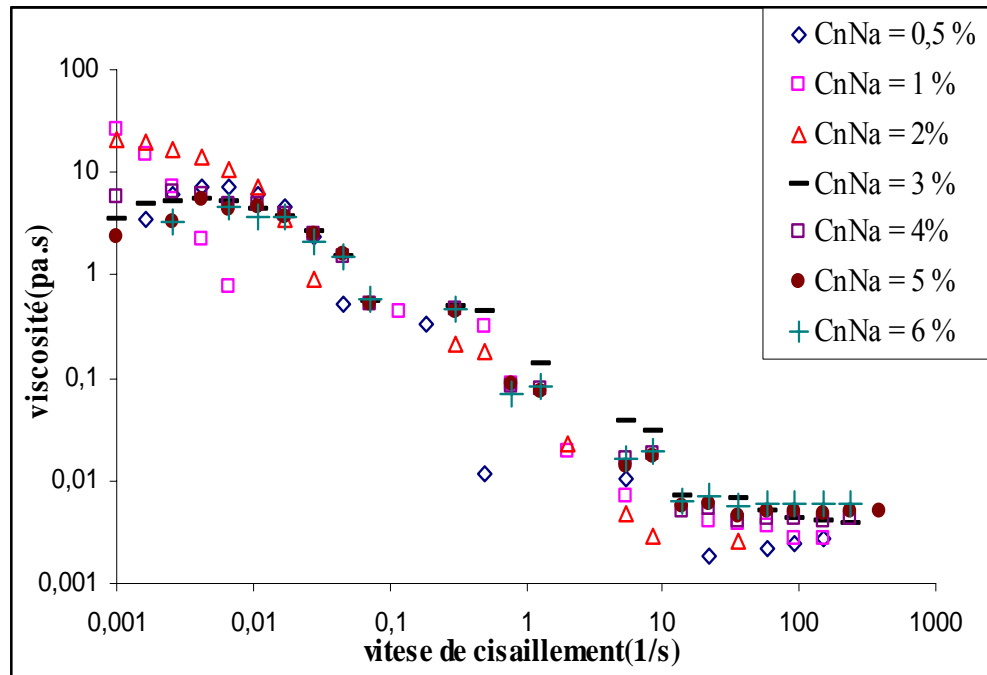


Figure 4.15 : Courbe d'écoulement à différentes concentrations de caséinate.

On remarque la présence de la 1^{ère} et la 2^{ème} région Newtonienne associées aux très faibles et très forts $\dot{\gamma}$ ainsi qu'un comportement intermédiaire rhéofluidifiant.

Ce type de comportement laisse sous-entendre que les particules du **Cn-Na** se présentent sous forme d'agrégats. En effet les solutions de Cn-Na sont des systèmes poly dispersés susceptibles de se désagréger en écoulement

Des travaux récents sur des solutions aqueuses de **Cn-Na** [26] en utilisant les techniques de diffusion dynamique de lumière (Dynamic light scattering) ont montré la coexistence de sub-micelles avec un rayon hydrodynamique de 8.8 nm et un assemblage de supra molécules de 74.4 nm.

Par ailleurs les courbes de viscosité ne sont pas affectées par la variation de la concentration de Cn-Na, vu que toutes les courbes sont quasiment confondues

C. test de zétamétrie :

La courbe du potentiel ζ en fonction de la variation de la concentration en **Cn-Na** figure 4.16 montre que le potentiel ζ est insensible à la concentration en **Cn-Na** lorsque cette dernière est inférieure à 3%, au delà de 3% le potentiel ζ diminue. Cette chute du potentiel ζ est vraisemblablement liée, en dépit du caractère poly électrolytique de la protéine, à l'accroissement du ratio : (nombre d'assemblage de sub-micelles)/(nombre de sub-

micelles) en fonction de l'augmentation de **Cn-Na**. En effet dans ce cas, la mobilité électrophorétique, $u = v/E$ est plus petite et par la même le potentiel zêta est plus faible selon la relation d'HENRY.

$$u = \frac{2\varepsilon\varepsilon_0\zeta}{3\eta} \times f(\kappa a)$$

u est la mobilité électrophorétique, η est la viscosité du milieu suspensé, $\varepsilon\varepsilon_0$ est la constante diélectrique du liquide, a est le rayon de la particule considérée, κ est l'inverse de la distance de la double couche diffuse et $f(\kappa a)$ est une fonction de forme.

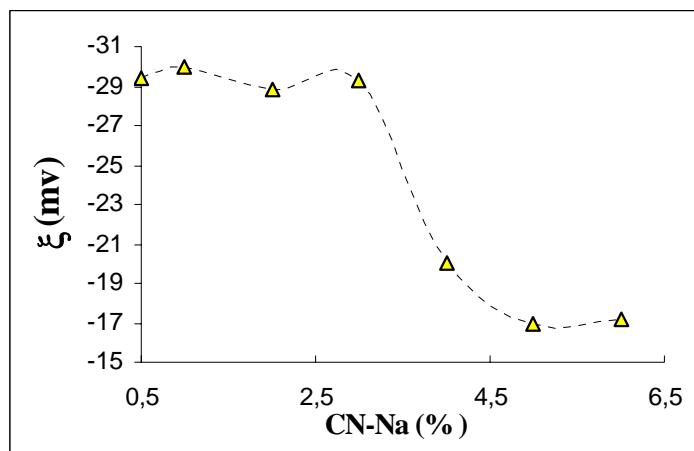


Figure 4.16 : Potentiel ζ à différentes concentrations du caséinate.

Egalement cette diminution est justifiée au niveau de la fonction de forme $f(\kappa a)$ de l'équation d'Henry qui fait chuter le potentiel zêta, lorsque le rayon de la particule a devient important. En effet : si $\kappa a > 1$, le rayon de la particule, a , est assez grand (gros agrégats ≈ 100 nm),. En conséquence le potentiel zêta aura comme expression : relation de

$$\text{Smoluchowski : } \zeta = \frac{\eta \times u}{\varepsilon \times \varepsilon_0} .$$

En revanche, si $\kappa a < 1$, a est très petit (sub-micelles ≈ 10 nm) alors $f(\kappa a) = 1$ et le potentiel

$$\text{zêta, aura comme expression: } \zeta = \frac{3}{2} \left(\frac{\eta \times u}{\varepsilon \times \varepsilon_0} \right) \text{ équation de Hückel),}$$

Visiblement, selon ces deux relations, l'augmentation de la taille des particules (passage d'une sub-micelle à une micelle), fait diminuer le potentiel zêta jusqu'à 1,5 de sa valeur. Dans notre cas d'étude, lorsque la concentration de Cn-Na passe de 0,5 % à 6 %, le potentiel chute d'un facteur de 1,7.

4.3.4 Etude des solutions à base de caséinate en présence de **KCl** et de **CaCl₂**

A. Test de viscoélasticité :

On regroupe les valeurs de G'_0 en fonction de **KCl** à diverses concentrations de **Cn-Na** dans le tableau 4.4.

Tableau 4.4 : Valeurs des modules de conservation et de perte dans le domaine linéaire des solution de caséinate de sodium à diverses concentrations de **KCl**.

Concentration en KCl (mM)	G'_0 (pa)		G''_0 (pa)	
	0.5% Cn-Na	1% Cn-Na	3% Cn-Na	6% Cn-Na
0	1	1	0.80	0.85
1	0.88	0.84	0.85	0.80
2.51	0.808	0.78	0.85	0.85
6.31	0.8	0.87	0.85	0.87
15.8	0.93	0.81	0.83	0.85
39.81	0.80	0.81	0.84	0.81
100	0.82	0.90	0.85	0.81

Visiblement G'_0 ne semble pas varier, ni en fonction de la concentration de la protéine ni en fonction de **KCl**. Ceci laisse supposer que **KCl** n'a pas d'effet notable sur la rhéologie de la solution. Aussi on ne peut, dans ce cas, faire ressortir aucune information sur le comportement des ions du sel, K^+ et Cl^- , vis-à-vis des sites anioniques phosphosérines du **Cn-Na**. Aussi peut on déduire que les ions du sel K^+ et Cl^- se comportent comme des ions indifférents.

Dans le cas de **Ca Cl₂** les résultats obtenus sont similaires à ceux de **KCl**. voir tableau 4.5.

Tableau 4.5 : Valeurs des modules de conservation et de perte dans le domaine linéaire des solution de caséinate de sodium à diverses concentrations de CaCl_2 .

Concentration en CaCl_2 (mM)	G_0' (pa)		G_0'' (pa)	
	0.5% Cn-Na	1% Cn-Na	3% Cn-Na	6% Cn-Na
0	1	1	0.80	0.85
0.1	0.82	0.80	0.81	0.81
0.25	0.80	0.83	0.80	0.81
0.63	0.83	0.83	0.84	0.83
1.58	0.83	0.82	0.82	0.81
3.98	0.82	0.84	0.83	0.80
10	0.83	0.85	0.82	0.81

B. Test d'écoulement :

Les courbes de viscosité associées aux quatre concentrations du **Cn-Na** 0.5%, 1%, 3%, 6% paraissent insensibles au **KCl** et **CaCl₂** ce qui confirme les résultats obtenus lors du test de viscoélasticité. (Voir appendice D et E).

C. Test de zétamétrie :

On représente sur le graphique ci-dessous, la variation du potentiel ζ en fonction de l'ajout de **KCl** à diverses concentrations de caseinate de **Na**, figure 4.17.

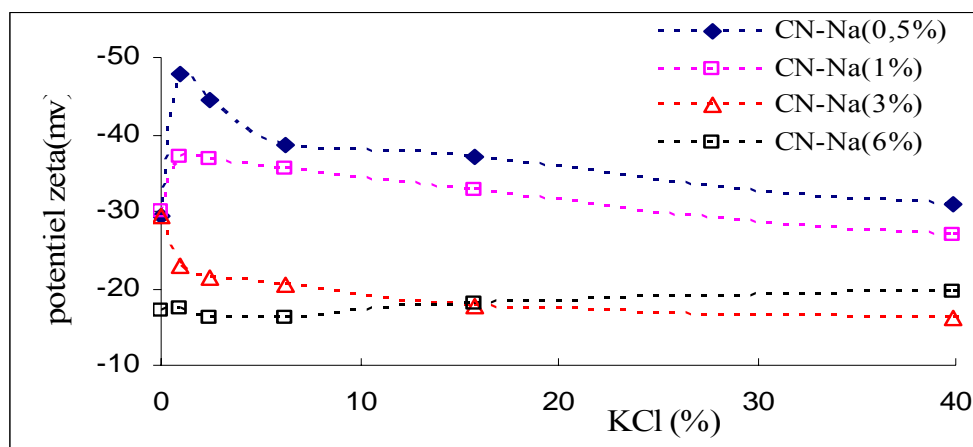


Figure 4.17 : Variation du potentiel zéta en fonction de la variation de **KCl** des solutions de caséinate de sodium.

À première vue, l'influence de **KCl** sur le potentiel ζ semble être conditionnée par la concentration de **Cn-Na**. En effet, pour la concentration 0.5% et 1% en **Cn-Na** l'ajout de 1mM de **KCl** fait croître le potentiel ζ . Ceci peut être due à l'absence d'interactions électrostatiques attractives entre le K^+ et les anions du **Cn-Na**, vue que le système est dilué en protéine donc les ions du sel ne se comportent pas comme des ions indifférents pour former la double couche. Dans cette situation le sel est considéré comme un électrolyte qui contribue à l'augmentation du potentiel ζ .

Au delà de 1mM, la force ionique dans le système devient importante si bien qu'il y'aurai interactions électrostatiques et par la même compression de la double couche, et dans ce cas le potentiel ζ diminue. En revanche pour des concentrations de 3% le système est considéré relativement concentré en poly-électrolyte si bien que l'addition de **KCl** comprime systématiquement la double couche électrique, sans pour autant s'adsorber sur les sites phosphoserine du **Cn-Na**. A noter que pour 6% le potentiel ζ enregistre les valeurs les plus faibles et le **KCl** ne parait pas l'affecter. Ceci peut être due à la forte concentration du poly-électrolyte qui manifeste une compression importante de la double couche électrique. Dans cette situation le **KCl** se retrouve dans la partie réservoir du système

De la même manière on représente l'effet de **CaCl₂** sur le potentiel ζ dans la figure 4.18

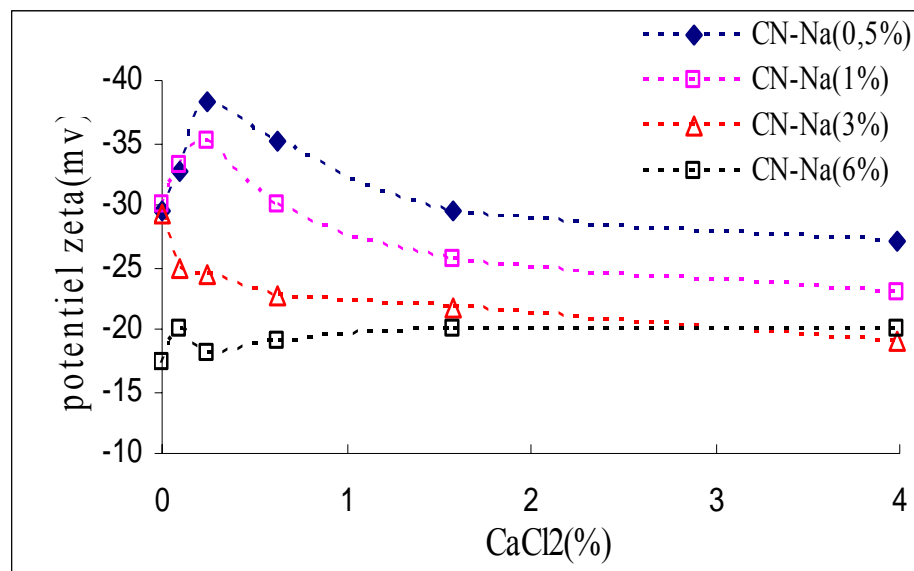


Figure 4.18 : Variation du potentiel zêta en fonction de la variation de **CaCl₂** des solutions de caséinate de sodium.

Il semble que les deux sels (**KCl**, **CaCl₂**) ont le même effet sur le potentiel ζ . Aussi, à la lumière de ces résultats, on est amené à effectuer une étude plus détaillée sur le comportement électrocinétique de la protéine, en vue de voir comment se comportent les cations **K⁺** et **Ca⁺⁺**, vis-à-vis des sites anioniques, par rapport à l'effet écran ou l'adsorption. Pour ce faire, on prépare des solutions à 0.5, 2, 3, 4 et 6 % sans le sel et en sa présence, **KCl** = 100mM et **CaCl₂** = 10 mM. Cependant, pour mesurer un potentiel zêta d'une solution, il faut que le produit soit limpide. Ceci n'a pas été le cas pour les solutions de **Cn-Na** ayant une concentration supérieure à 2%, qui sont opaques. La deuxième difficulté rencontrée est la précipitation du **Cn-Na** dans la solution autour du pI, qui fait que la solution n'est plus colloïdale et la mesure du potentiel zêta devient impossible. En effet, les valeurs enregistrées sont très fluctuantes et erronées. Donc on limite notre étude aux solutions allant jusqu'à 2% en **Cn-Na**. Ainsi, on représente sur les figures 4.19 a et b, la variation du potentiel zêta en fonction de la variation du pH, associées respectivement à 0.5 % et 2 % de **Cn-Na**.

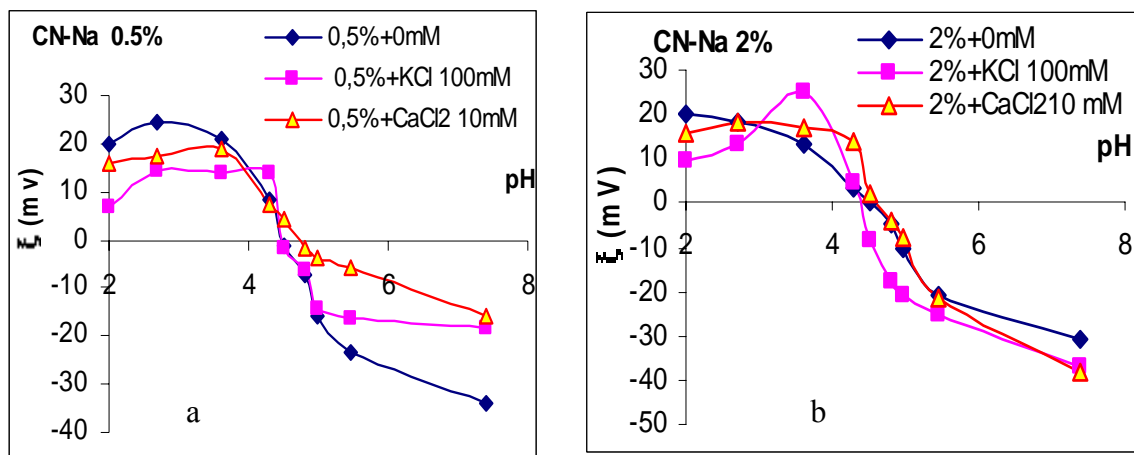


Figure 4.19 : Variation du potentiel zêta en fonction du pH, en absence et en présence du sel.

Il apparaît que le pH correspondant à $\zeta = 0$, et donc le pI, est quasiment le même et est égal au pI de la protéine sans le sel. En revanche, il est intéressant de voir que l'ajout du sel, particulièrement dans le cas où la concentration en **Cn-Na** est de 0.5 %, a réduit les valeurs du potentiel zêta sans déplacer le pI. La réduction de ζ est due à l'écrantage des sites anioniques de la protéine, c'est-à-dire, les cations **K⁺** et **Ca⁺⁺** se rapprochent des anions, par interaction électrostatique et vont se localiser, approximativement à côté du plan externe d'HELMOLTZ, ou sur le plan de cisaillement de la particule chargée. Aussi, l'épaisseur de

la double couche électrique subit, en conséquence, une compression et par la même la valeur du potentiel zêta (ζ diminue avec la diminution de la double couche). En conclusion, les cations \mathbf{K}^+ et \mathbf{Ca}^{++} , ne s'adsorbent pas sur les sites phosphosérines de la protéine lorsque la concentration de cette dernière est en deçà de 2%.

4.3.5 Etude des solutions de mélange xanthane-caséinate de Na

Les solutions du mélange ont été préparées en combinant les concentrations 0.1%, 0.3% et 0.5 % de xanthane avec 2%, 4% et 6% de caseinate de sodium. Ces mélanges sont étudiés respectivement : Sans le sel, dans le domaine de l'écrantage associé à 6.31 mM de \mathbf{KCl} et à 0.63 mM de \mathbf{CaCl}_2 puis dans le domaine d'adsorption avec $\mathbf{KCl} = 39.98$ mM et $\mathbf{CaCl}_2 = 3.98$ mM.

A. Analyse qualitative des courbes de viscoélasticité

Dans les figures 4.20, 4.21, 4.22 sont représentés les courbes de viscoélasticité associées aux mélanges dépourvu de sel, en présence de 6.31% mM de \mathbf{KCl} et 0.63% de \mathbf{CaCl}_2 respectivement. La concentration du xanthane choisie est 0.5%, pour les autres concentrations en xanthane 0.1% et 0.3% (voir appendice F). Aussi il apparaît à la lumière de ces trois figures que G' peut être sensible à la variation de la concentration de caseinate dans le domaine de viscoélasticité linéaire particulièrement pour la concentration en caseinate égale à 6%.

En revanche au delà d'une déformation de 10% associée au domaine non linéaire auquel cas la déformation est plastique (écoulement), toutes les courbes se confondent, traduisant une déstructuration de la structure du mélange par effet de répulsion de cisaillement.

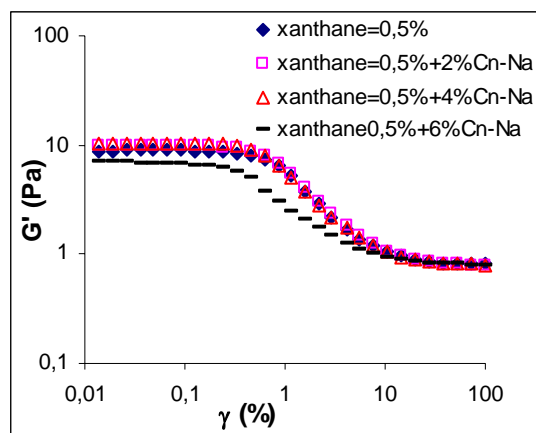


Figure 4.20 : courbe de viscoélasticité du mélange sans sel.

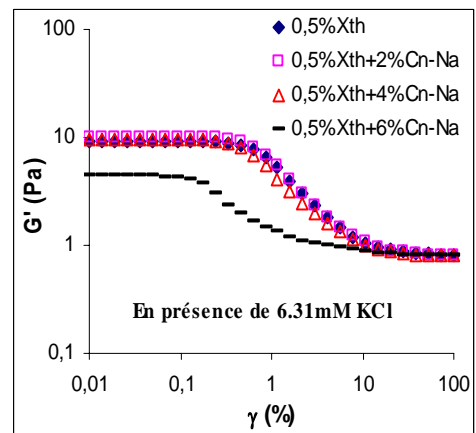


Figure 4.21: courbe de viscoélasticité du mélange avec \mathbf{KCl} .

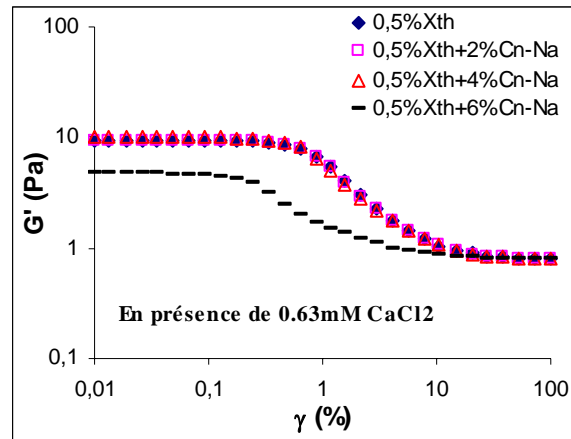


Figure 4.22: courbe de viscoélasticité
du mélange avec CaCl_2 .

Ainsi on se propose quant à la suite de cette étude de tracer G_0' en fonction de la variation des deux bio polymères en présence et en absence des deux électrolytes. Dans la figure 4.23 est représenté G_0' en fonction de concentration en caseinate avec le xanthane égale à 0.1%.

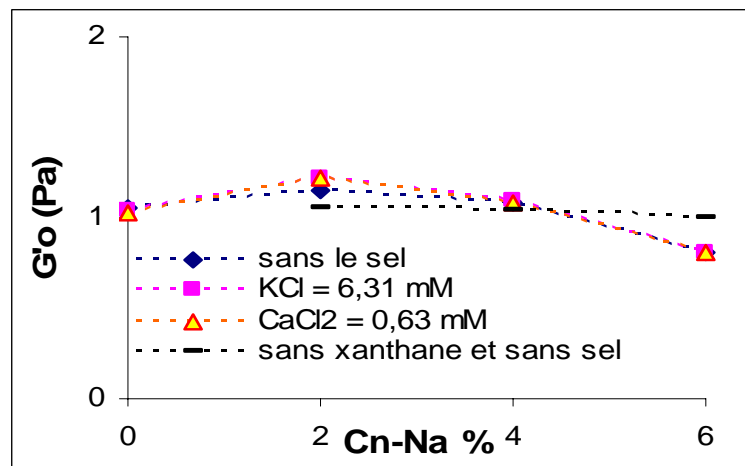


Figure 4.23 : variation de G_0' en fonction de la concentration en caseinate avec le xanthane égale à 0.1%.

On remarque que G_0' est pratiquement constant et sa valeur est proche de celle de la solution de caseinate sans le xanthane. Ceci permet de déduire que ce système est considéré diluée si bien que ni les électrolytes ni le 0.1% de xanthane n'ont modifié la structure dans le domaine de déformation viscoélastique linéaire.

Dans les figures 4.24-a-b sont représentés G_0' en fonction de concentration en caseinate avec le xanthane égale à 0.3% et 0.5% respectivement à la lumière de ces figures on constate que dans le domaine de caseinate inférieur à 4% G_0' est insensible aux deux sels et

au caseinate ceci est prévisible du fait que lors de l'étude du comportement viscoélastique des deux biopolymères séparés, il a été constaté que G_0' est quasiment insensible au sels. En revanche au delà de 4% de caseinate, le module de conservation G_0' accuse une perte drastique accompagnée d'une séparation de phase du mélange. Cependant cette perte paraît ne pas dépendre de la présence du sel, vu les valeurs enregistrées de G_0' pour 6% de caseinate.

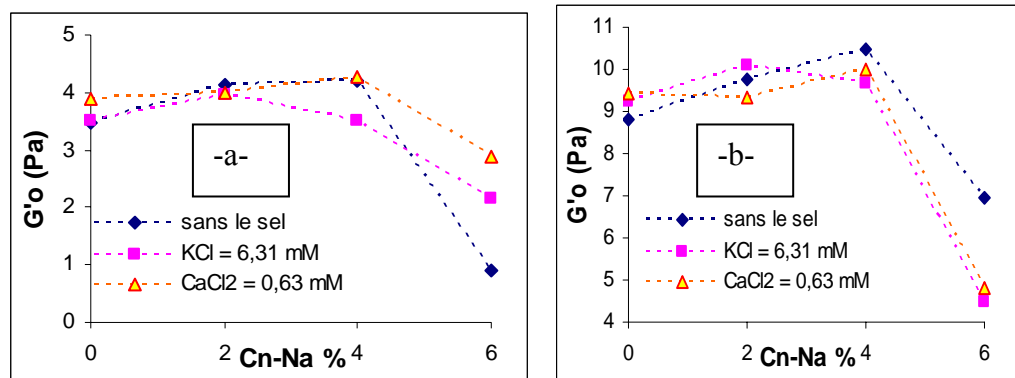


Figure 4.24.a, b : variation de G_0' en fonction de la concentration en caseinate avec le xanthane égale à 0.3% et 0.5% respectivement.

Ceci peut être raisonnable, particulièrement pour CaCl_2 dont la quantité mise en jeu dans les solutions colloïdales est suffisante pour écranter les macromolécules du xanthane, par interactions électrostatiques mais insuffisante pour s'adsorber sur les sites anioniques et former éventuellement des ponts calciques inter macromoléculaire, qui permettent de renforcer la structure polymérique et réduire par la même la séparation de phase.

B. Analyse qualitative des courbes d'écoulements

Dans les figures 4.25 a-b-c sont représentés les courbes d'écoulements associées aux mélanges dépourvu de sel, en présence de 6.31 mM de **KCl** et 0.63mM de **CaCl₂** respectivement avec le xanthane=0.1%

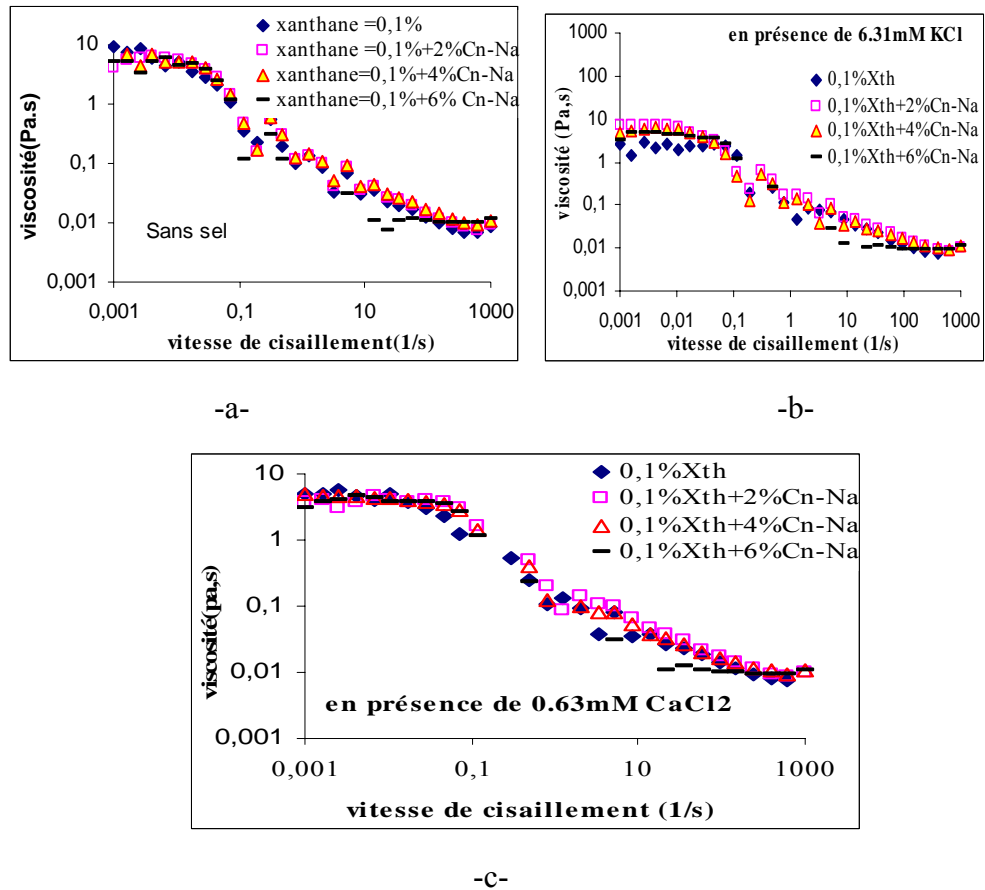


Figure 4.25 a-b-c: courbes d'écoulements associées aux mélanges sans sel, avec 6.31 mM de **KCl** et 0.63mM de **CaCl₂** respectivement avec le xanthane=0.1%

En analysant la courbe de variation de la viscosité apparente, à très faible cisaillement, pour le xanthane=0.1%, Figure 4.26, on retrouve le même résultat trouvé en viscoélasticité ce qui permet de déduire que ce système peut être considéré dilué, si bien que ni les électrolytes ni le 0.1% de xanthane ne peuvent modifier la viscosité dans le domaine de l'écoulement non linéaire.

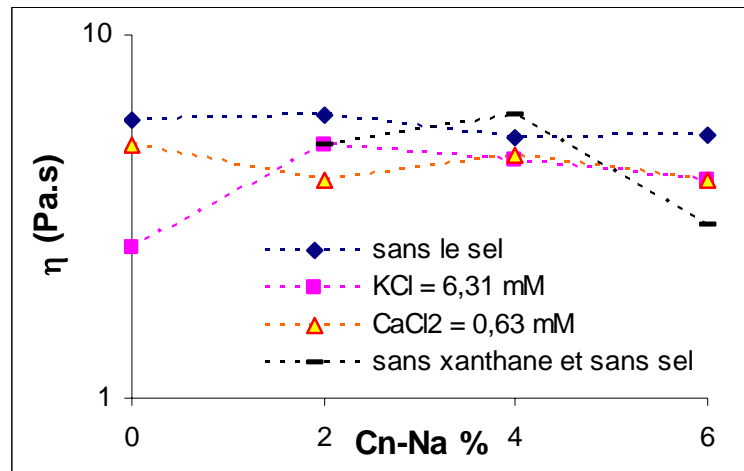


Figure 4.26 : Variation de la viscosité apparente en fonction du Cn-Na, et du sel, xanthane=0.1%.

Les courbes d'écoulements associées à des concentrations de xanthane de 0.3 % et 0.5% sont données dans (appendice G)

Une analyse de la variation de la viscosité apparente à très faible cisaillement, des solutions du mélange, à 0.3% et 0.5% de xanthane et à diverses concentrations de **Cn-Na**, en absence et en présence des deux sels, avec effet écran sur le xanthane, a donné pratiquement les mêmes résultats que ceux obtenus à partir du test de viscoélasticité (Figure 4.27.a-b).

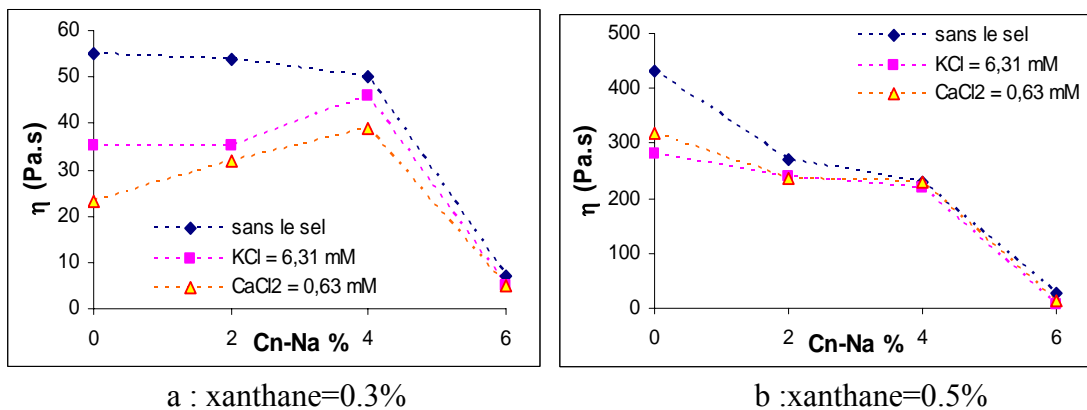
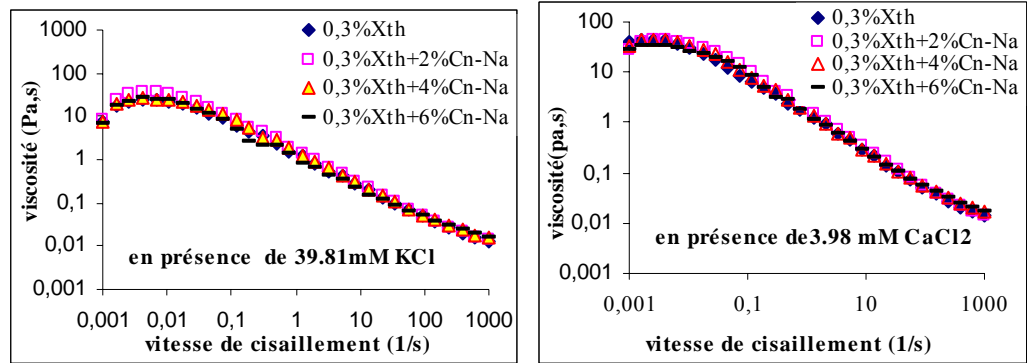


Figure 4.27 : Variation de la viscosité apparente du mélange en fonction du Cn-Na, à 0.3% de xanthane (a) et 0.5% de xanthane (b)

A la lumière de ces figures on constate que dans le domaine de caseinate inférieur à 4% la viscosité est insensible aux deux sels et au caseinate. En revanche au delà de 4% de caseinate, la viscosité accuse une perte drastique accompagnée d'une séparation de phase du mélange. Cependant cette perte paraît ne pas dépendre de la présence du sel, vu les valeurs enregistrées de η pour 6% de caseinate.

Par ailleurs, en additionnant au mélange à base de 0.3 % de xanthane, les quantités de 39.81 mM de **KCl** et 3.98 mM de **CaCl₂**, pour se mettre dans le cas de l'adsorption du xanthane par les cations **K⁺** et **Ca⁺⁺**, les résultats ont donné les figures 4. 28. a-b



-a-

-b-

Figure 4.28 a-b : courbes d'écoulements avec 39.81 mM de **KCl** et 3.98 mM de **CaCl₂** respectivement avec le xanthane=0.3%.

Une analyse de la variation de la viscosité apparente à très faible cisaillement, des solutions du mélange, à 0.3% de xanthane et à diverses concentrations de **Cn-Na**, en absence et en présence des deux sels, dans le cas de l'adsorption du xanthane par les cations **K⁺** et **Ca⁺⁺**, a montré d'une part, la variation de la viscosité apparente du mélange avec **CaCl₂**, à très faible cisaillement, ne chute pas aux concentrations élevées du **Cn-Na**, contrairement au **KCl**, et d'autre part, la solution n'enregistre pas de séparation de phase. Figure 4.29.

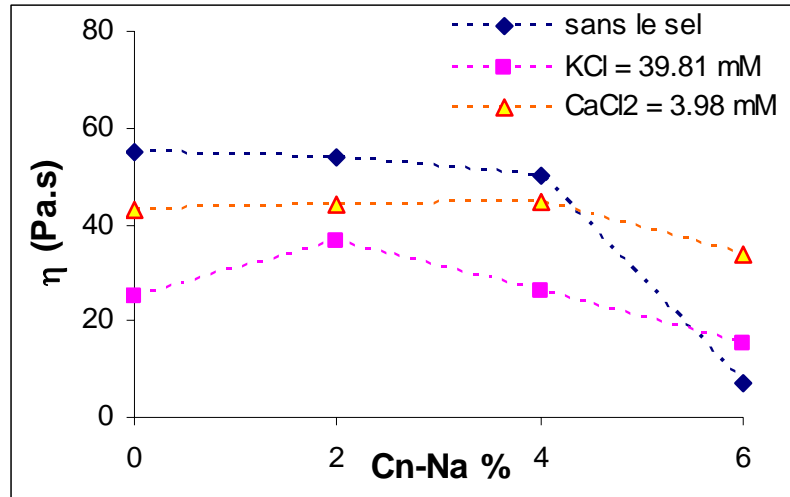


Figure 4.29 : Variation de la viscosité apparente du mélange dans le domaine d'adsorption en fonction du **Cn-Na**, à 0.3% de xanthane

Aussi, il est clair, que le sel bivalent a permis de maintenir le mélange des deux biopolymères en stabilité, en complexant les macromolécules du xanthane. Il y aurait ainsi, formation de mailles de macromolécules du polysaccharide qui piègent les micelles de la protéine.

Enfin, on a préparé cinq échantillons à base de 0.5% de xanthane et 6% de caséinate ,le premier mélange dépourvu de sel , on a additionné 6.31% mM de **KCl** et 0.63% mM de **CaCl₂** et 39.81 mM de **KCl** et 3.98 mM de **CaCl₂**, respectivement aux quatre mélanges restant , on a remarqué que les quatre premier échantillons ont enregistré une séparation de phase seul le mélange associé à 0.5% de xanthane ,6% de caséinate et 3.98 mM de **CaCl₂** est resté stable et cela pendant une période de trois mois, ceci confirme le phénomène de complexation du xanthane par les cations **Ca⁺⁺**.

Conclusion

L'étude des systèmes dispersés, à base de protéine et de polysaccharide, sur le plan physicochimique, reste une tâche difficile pour le chercheur. En effet, cette difficulté est inhérente à la mise en évidence des interactions inter-biopolymères (floculation par déplétion, incompatibilité thermodynamique, interaction électrostatique,...) et intra-biopolymère (formation de sub-micelles, de micelles, réseau polymérique...) qui conditionnent le sort du système en matière de stabilité et de façon générale de son comportement de phase.

Les mises au point de produits à partir de ces deux ingrédients, notamment alimentaires et parapharmaceutiques, nécessitent la présence de minéraux qui ont un rôle majeur sur le plan nutritionnel, diététique et condition physique, particulièrement des sportifs de haut niveau. Toutefois ces minéraux sont susceptibles de porter des modifications notables sur l'état de conformation des macromolécules et par conséquent sur la stabilité du système.

Aussi, nous sommes-nous intéressés aux effets que peuvent générer la présence de deux types de sel, en l'occurrence, KCl et CaCl₂, par leur force ionique et par leur valence sur le mélange xanthane/caséinate de sodium dans un milieu aqueux.

Ce faisant et en premier lieu, il a été question d'analyser le comportement rhéologique et électrocinétique de solutions à base seulement de xanthane avec et sans sel. Il a été montré, à l'issue de cette phase d'étude que :

- Les solutions de xanthane sont anioniques et sont considérées comme des gels, du fait que leur module de conservation est supérieur au module de perte.
- La présence du sel dans les solutions semi-diluées (xanthane ≤ 0.5 %) réduit le volume hydrodynamique des macromolécules du xanthane, par effet écran ou par adsorption, les chaînons latéraux se replient sur le squelette principal et la viscosité diminue.

- Le potentiel isoélectrique du xanthane est constant et ne dépend pas de la quantité du sel rajoutée dans la solution, lorsque $KCl \leq 15.85 \text{ mM}$ et $CaCl_2 \leq 1.58 \text{ mM}$. Dans ce cas, les Cations K^+ et Ca^{++} sont susceptibles d'écranter les macromolécules du xanthane par interaction électrostatique et réduisent par la même les interactions répulsives de la double couche électrique intra macromoléculaire.
- Le potentiel isoélectrique du xanthane augmente avec l'addition du sel dans le milieu aqueux, si les concentrations de $KCl \geq 39.98 \text{ mM}$ et $CaCl_2 \geq 3.98 \text{ mM}$. Dans cette situation, les cations K^+ et Ca^{++} s'adsorbent sur les sites anioniques du xanthane et réduisent par la même la charge nette et les interactions électrostatiques intra macromoléculaire.

Dans la deuxième partie, nous nous sommes intéressés aux solutions de caséinate de sodium en absence et présence des deux électrolytes. Aussi, les points les plus pertinents qui ressortent de cette étape de travail sont :

- Les solutions anioniques de Cn-Na sont également considérées comme des gels, $G' > G''$ et présentent un comportement rhéologique en écoulement à trois régions (1^{ère} région newtonienne, comportement intermédiaire rhéofluidifiant et 2^{ème} région newtonienne).
- Le potentiel ζ du Cn-Na, au-delà de 3%, diminue par accroissement du ratio : nombre d'assemblage de micelles / nombre de sub-micelles.
- L'ajout du sel (KCl : 0 à 100 mM et $CaCl_2$: 0 à 10 mM) dans les solutions ne dépassant pas 2 % de Cn-Na, fait diminuer le potentiel zêta, par compression de la double couche électrique et ne fait pas déplacer le potentiel isoélectrique de la protéine. Dans cette situation les cations K^+ et Ca^{++} ont un effet écran sur les sites anioniques phosphosérines du Cn-Na sans pour autant s'adsorber.

Enfin dans la troisième phase de notre étude, nous avons procédé à l'étude du mélange xanthane/protéine dans un milieu aqueux en absence et en présence des deux électrolytes.

Il a été constaté à l'issue de cette étude que :

- Les mélanges dans lesquels la concentration du xanthane est faible, 1%, ont un comportement rhéologique et électrocinétique similaire à celui du Cn-Na sans le xanthane. Dans cette situation, les macromolécules du xanthane n'ont aucune influence

sur le système, tant sur le plan interaction négative de ségrégation que sur le plan synergétique.

- En revanche, lorsque le xanthane dépasse 0.3%, les mélanges à base de 6% de Cn-Na accusent une perte drastique de leur module de conservation, G'_{0} et de leur viscosité apparente dans le domaine de très faible cisaillement. Ces mélanges sont instables et enregistrent une séparation de phase, l'une riche en polysaccharide et l'autre en protéine, par incompatibilité thermodynamique.
- L'addition de KCl ou de CaCl_2 aux mélanges instables, dans le domaine de l'écrantage des macromolécules du xanthane, n'a pas eu un effet positif sur l'incompatibilité ségrégative des deux biopolymères.
- Egalement, le rajout de KCl aux mélanges instables, dans le domaine d'adsorption du xanthane, n'a pas eu d'effet notable sur l'instabilité.
- En revanche, l'utilisation de CaCl_2 dans le domaine d'adsorption, des mélanges instables, a permis de complexer les macromolécules du xanthane de façon à piéger les micelles de Cn-Na, pour obtenir une émulsion de type eau dans eau. Les mélanges sont devenus stables et après trois mois d'observation, aucune séparation de phase n'a été enregistrée.

Ce travail est loin d'être terminé, vue que les phénomènes observés ont été étudié à l'échelle macroscopique et il est très important de les valider par une étude fine structurale à l'échelle microscopique, par des méthodes telle que : la diffusion de la lumière, la microscopie à balayage électronique & à force atomique et autres.

APPENDICE A
LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

ψ_0	Potentiel de Surface.
Cn-Na	Caséinate de sodium.
G	Module élastique.
G'	Module de conservation.
G' ₀	Module de conservation au repos.
G''	Module de perte.
G'' ₀	Module de perte au repos.
G*	Module de rigidité.
KCl	chlorure de potassium.
CaCl ₂	chlorure de calcium.
J	Complaisance élastique.
J*	Complaisance élastique complexe.
pH	Potentiel hydrogène.
PI	Point isoélectrique.

APPENDICE B

LES COURBES VISCOELASTIQUES DE XANTHANE

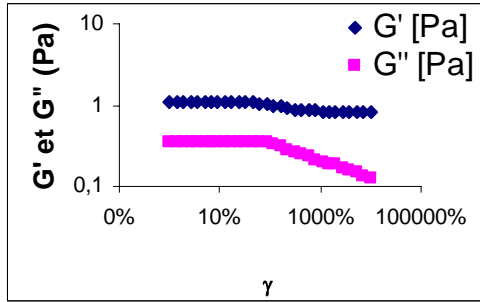


Figure1: xanthane 0.1%+0.1mM CaCl₂

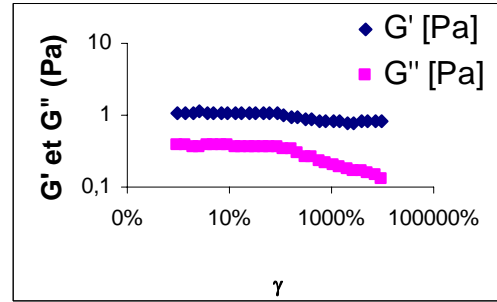


Figure 2 : xanthane 0.1%+0.25mM CaCl₂

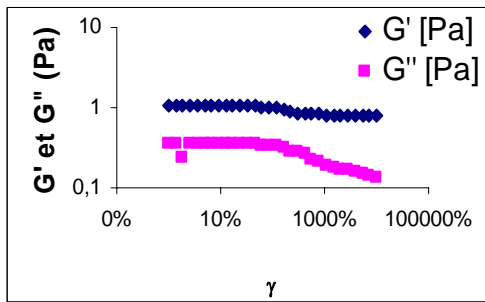


Figure 3 : xanthane 0.1%+0.63mM CaCl₂

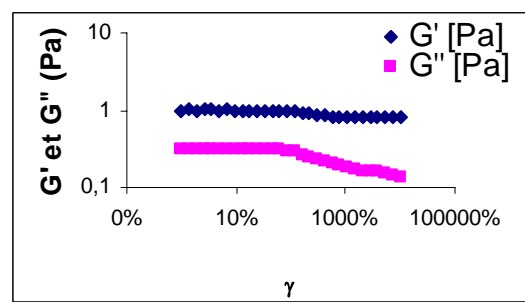


Figure 4 : xanthane 0.1%+1.58mM CaCl₂

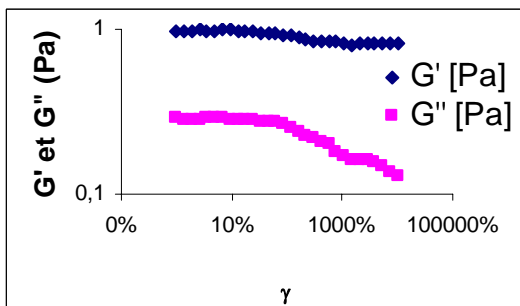


Figure 5 : xanthane 0.1%+3.98mM CaCl₂

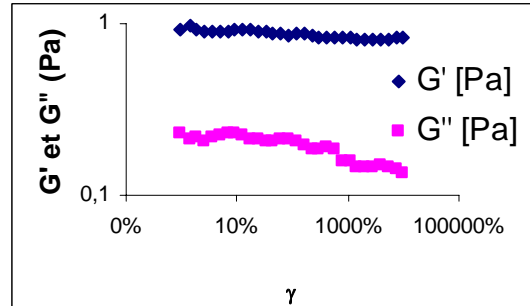


Figure 6 : xanthane 0.1%+10mM CaCl₂

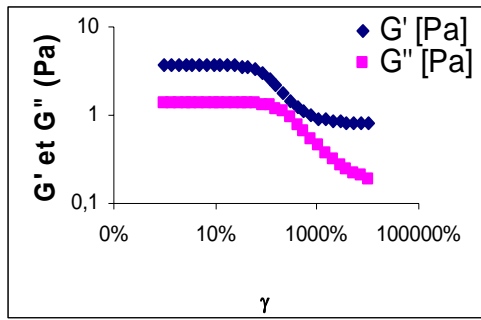


Figure 7: xanthane 0.3%+0.1mM CaCl₂

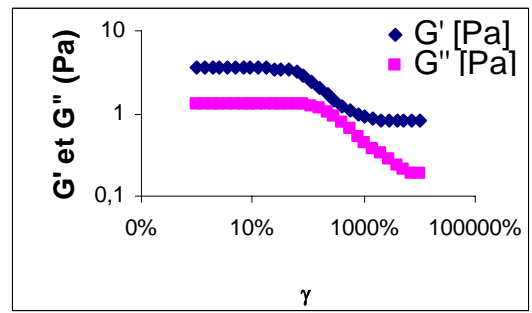


Figure 8 : xanthane 0.3%+0.25mM CaCl₂

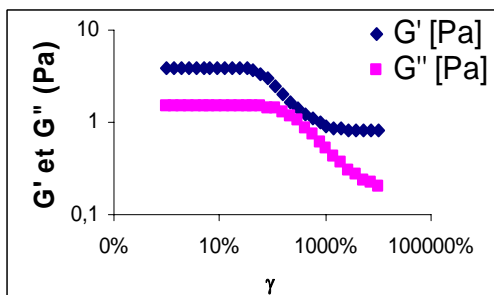


Figure 9 : xanthane 0.3%+0.63mM CaCl₂

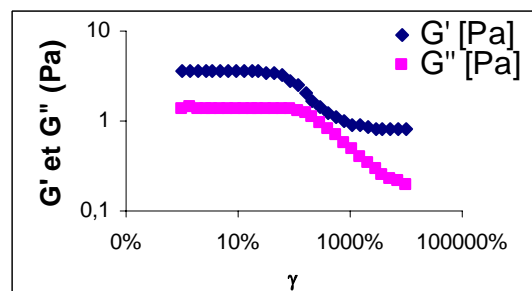


Figure 10 : xanthane 0.3%+1.58mM CaCl₂

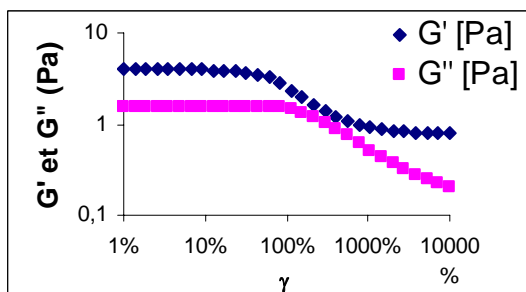


Figure 11 : xanthane 0.3%+3.98mM CaCl₂

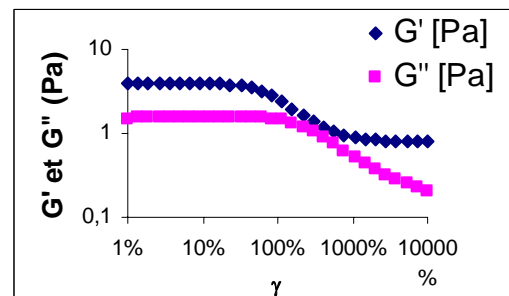
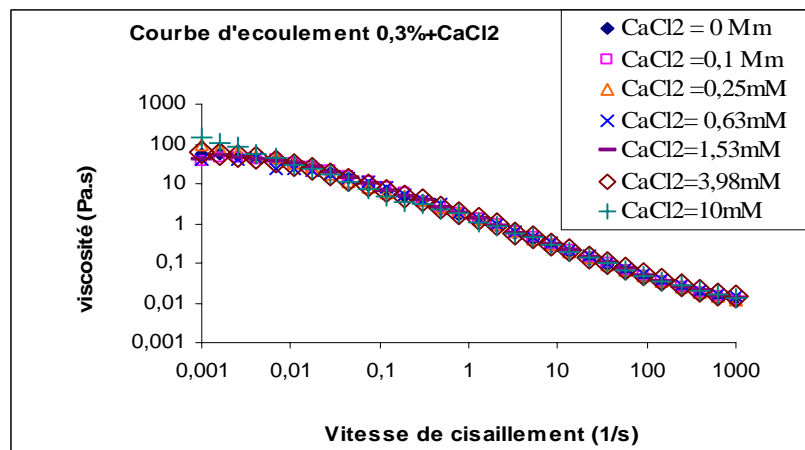
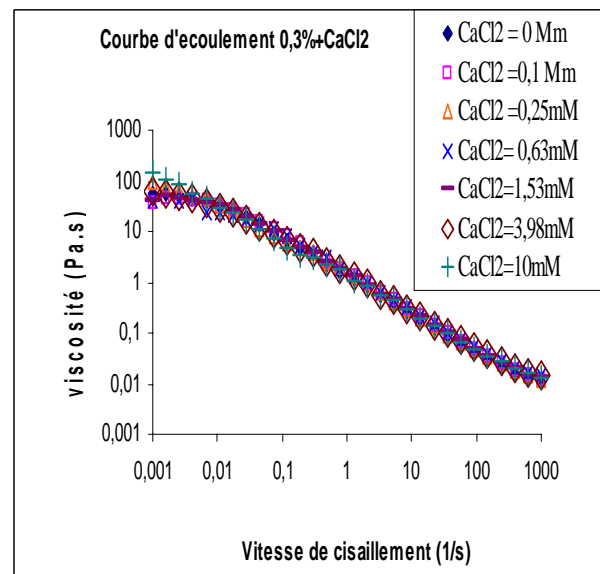
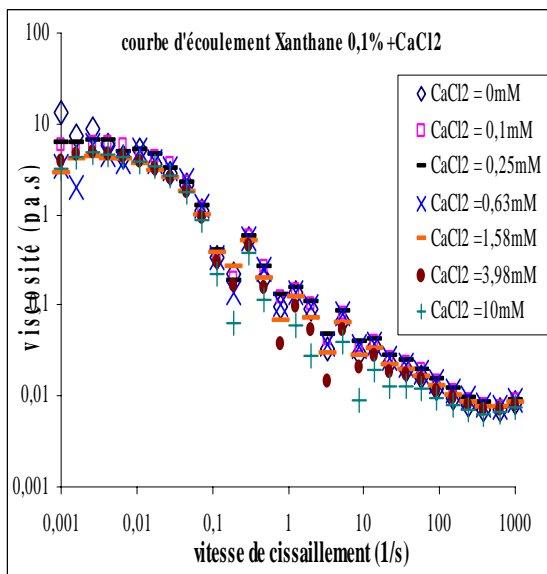


Figure 12 : xanthane 0.3%+10mM CaCl₂

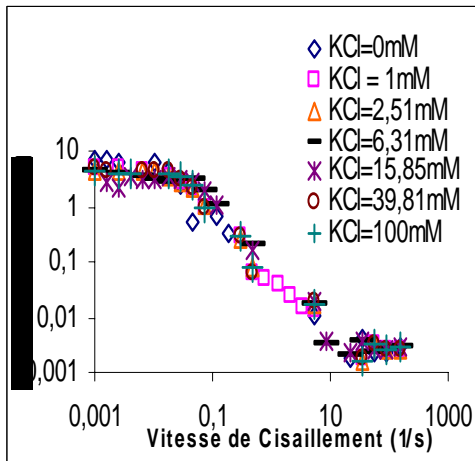
APPENDICE C

LES COURBES D'ÉCOULEMENT DES SOLUTIONS DE XANTHANE 0.1%, 0.3 % ET 0.5% A DIVERSES CONCENTRATIONS DE CaCl₂

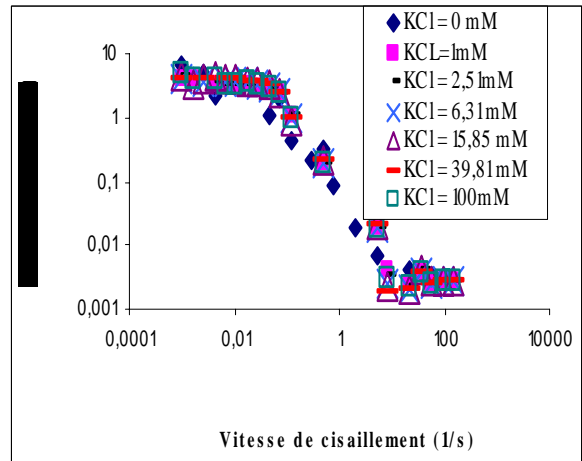


APPENDICE D

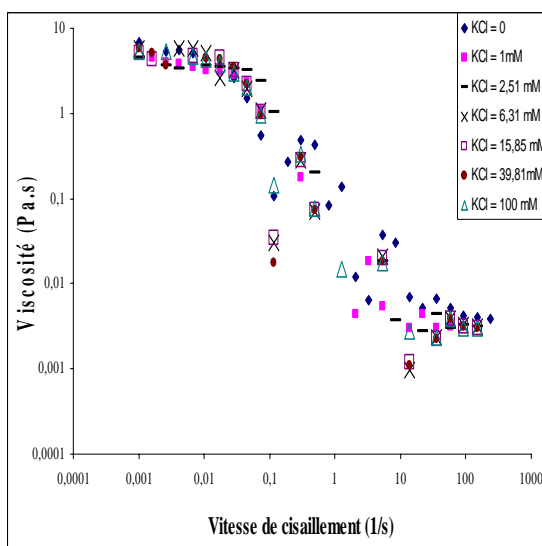
LES COURBES D'ÉCOULEMENT DES SOLUTIONS DE CASEINATE 0.5%, 1 %, 3% ET 6% A DIVERSES CONCENTRATIONS DE CaCl₂ et KCl



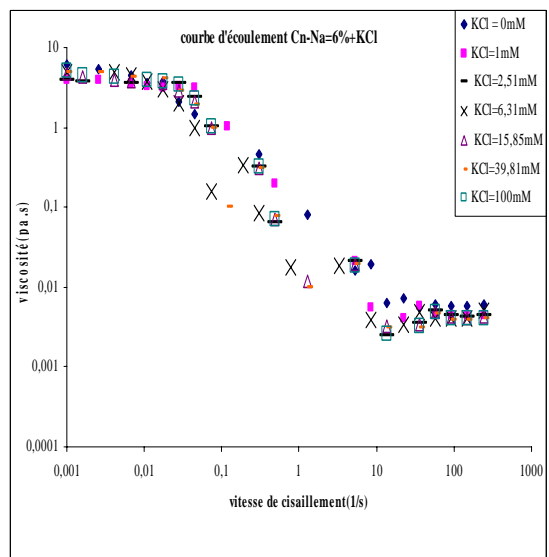
Courbe d'écoulement CnNa=0.5%+KCl



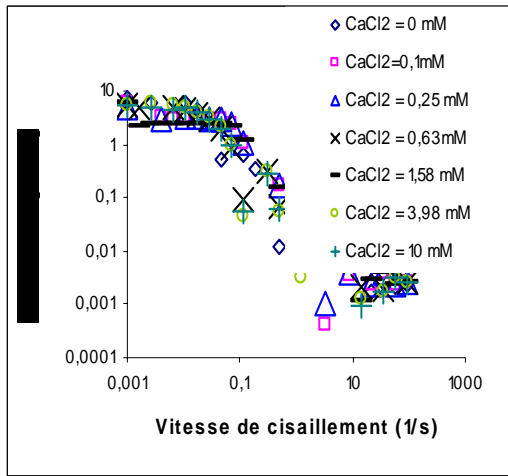
Courbe d'écoulement CnNa=1%+KCl



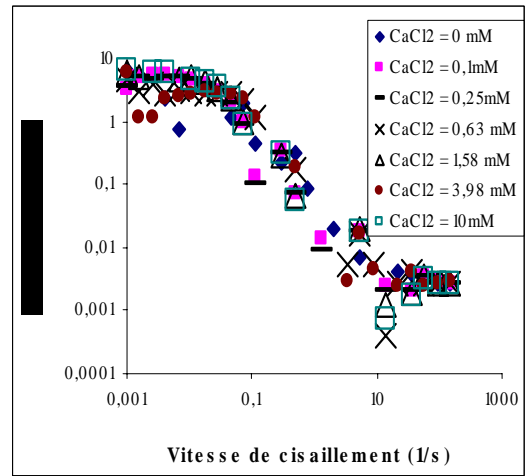
Courbe d'écoulement CnNa=3%+KCl



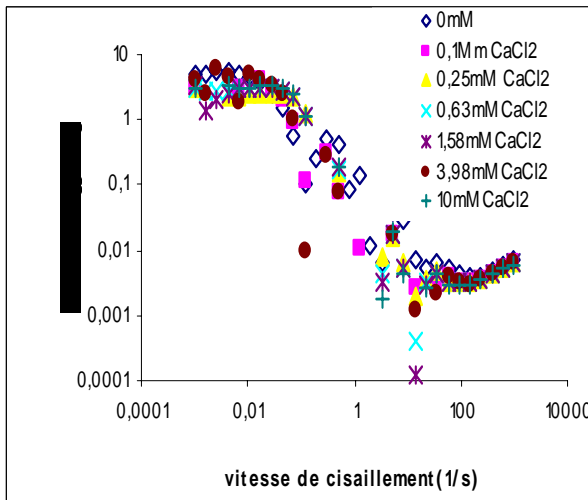
Courbe d'écoulement CnNa=6%+KCl



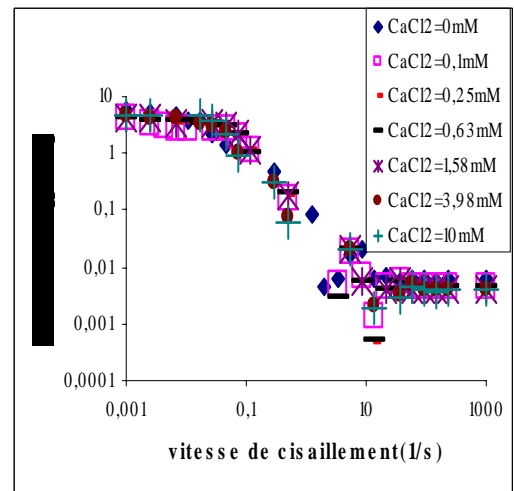
Courbe d'écoulement 0.5 % Cn-Na + CaCl₂



Courbe d'écoulement 1 % Cn-Na + CaCl₂



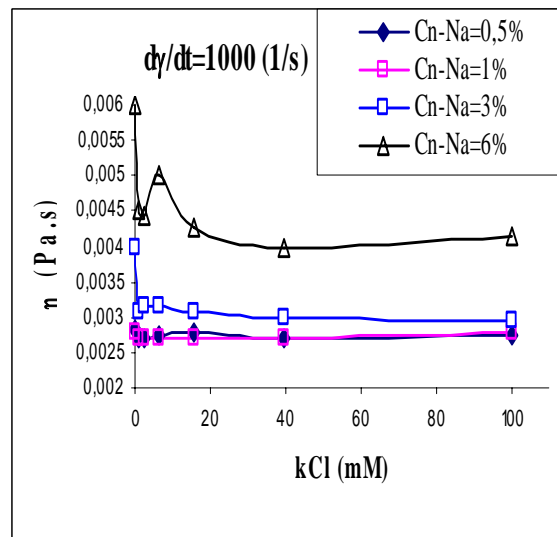
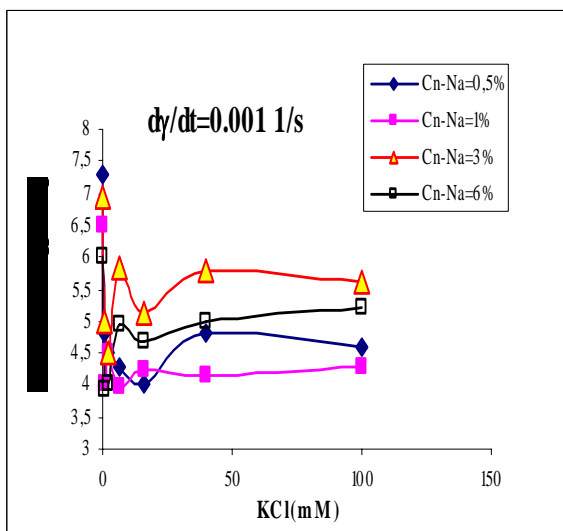
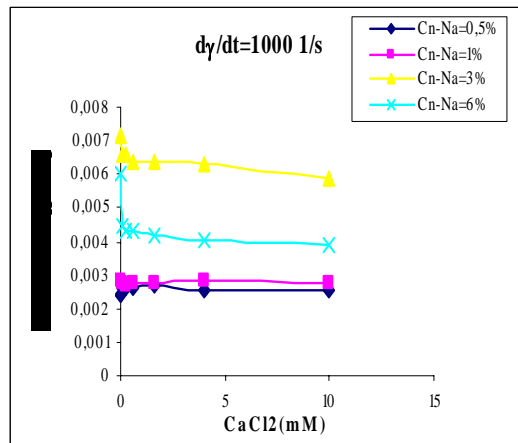
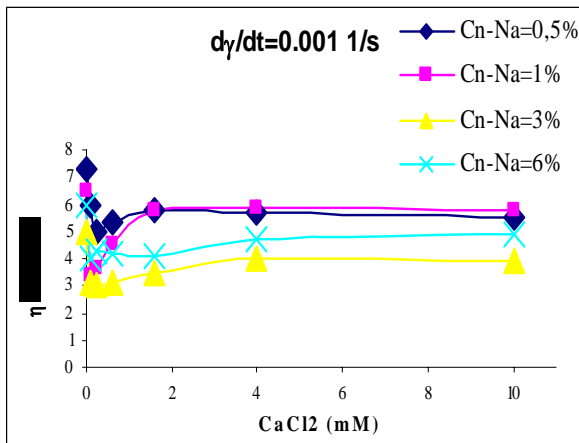
Courbe d'écoulement 3 % Cn-Na + CaCl₂



Courbe d'écoulement 6 % Cn-Na + CaCl₂

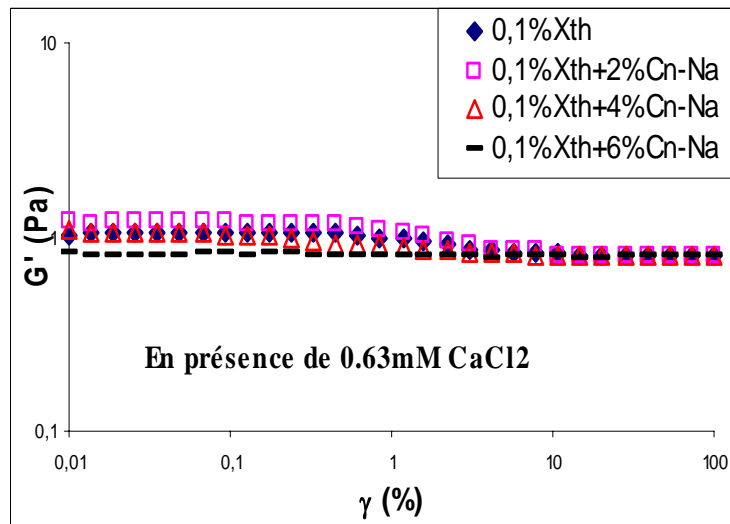
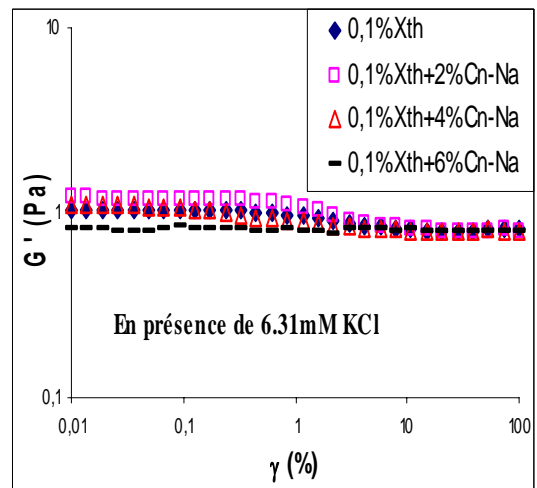
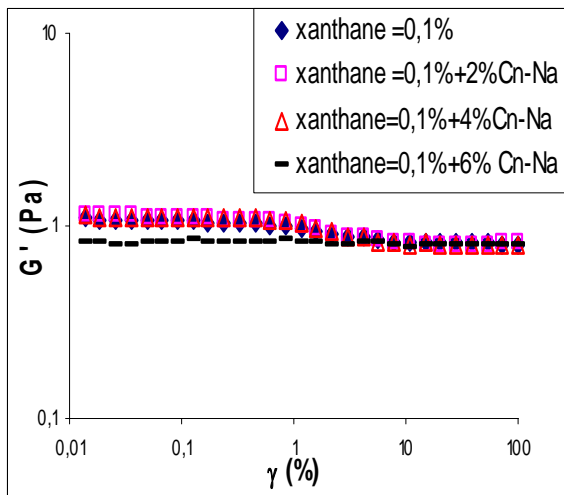
APPENDICE E

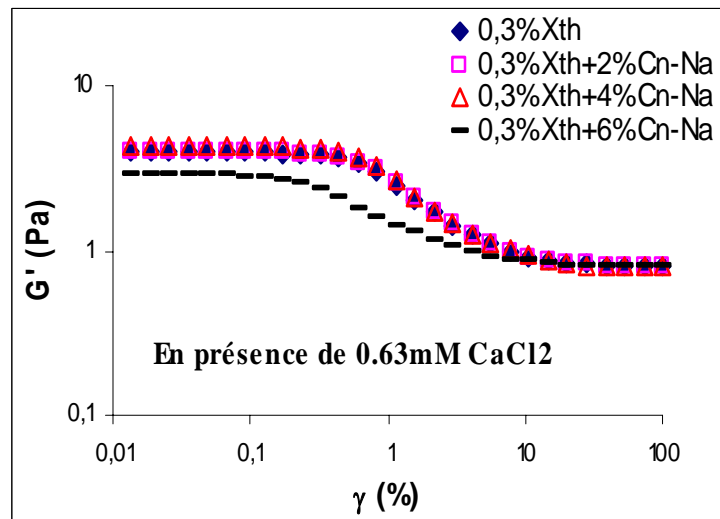
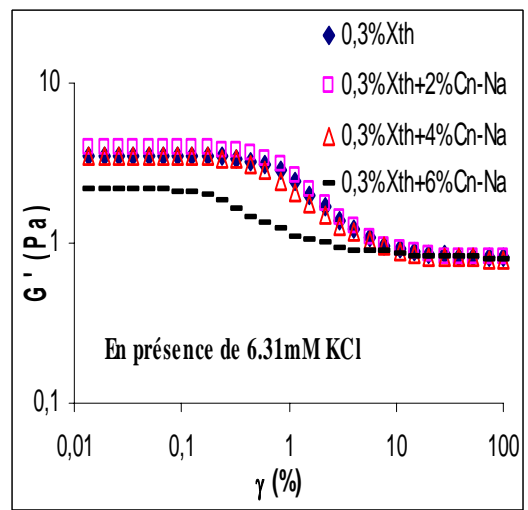
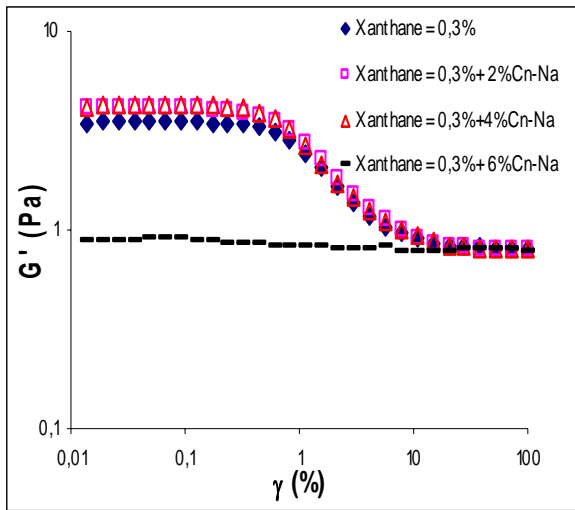
LES COURBES DES VISCOSITES APPARENTES DU Cn-Na, ASSOCIEES A 10^{-3} s⁻¹ et 10^3 s⁻¹



APPENDICE F

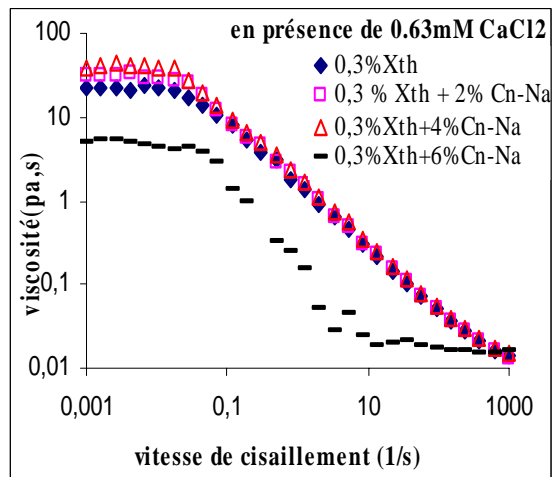
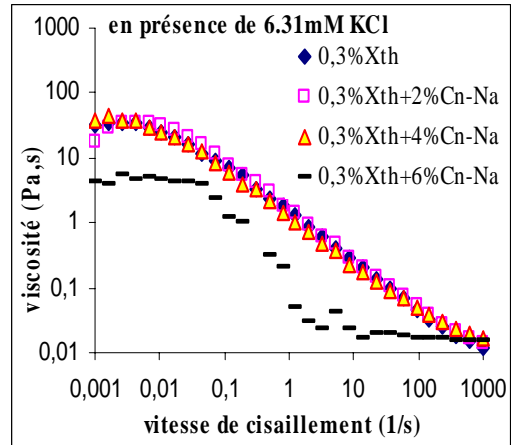
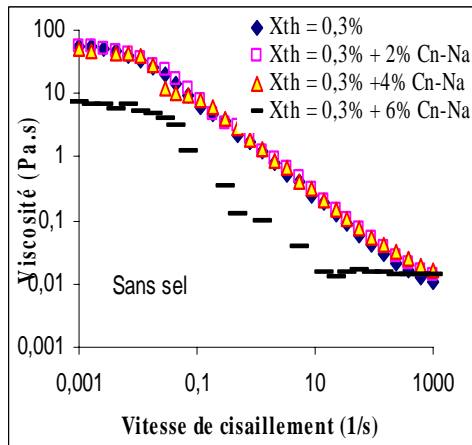
COURBES VISCOELASTIQUES ASSOCIEES AUX MELANGES DEPOURVU DE SEL, EN PRESENCE DE 6.31% Mm DE KCl ET 0.63% DE CaCl₂ RESPECTIVEMENT, XANTHANE=0.1% ET 0.3%

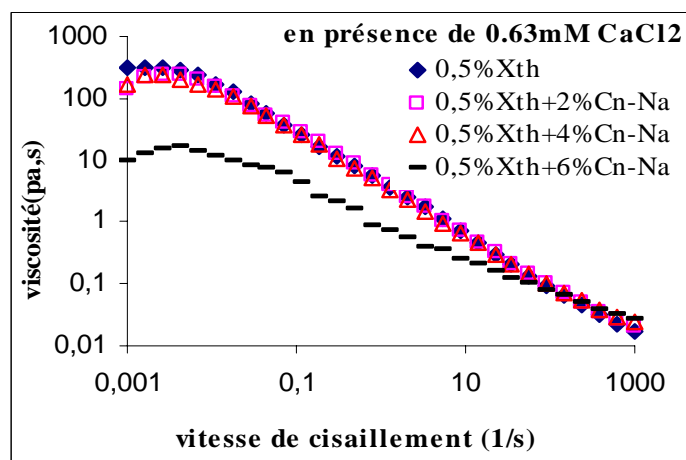
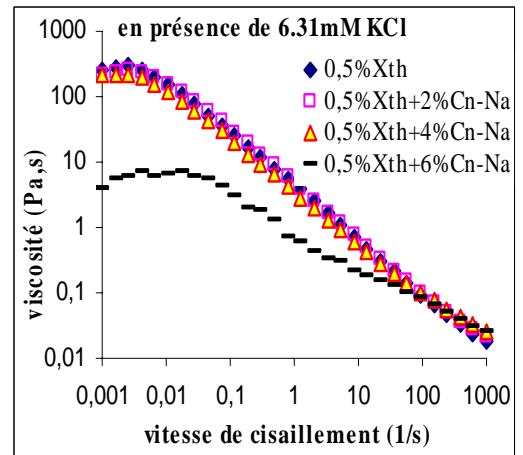
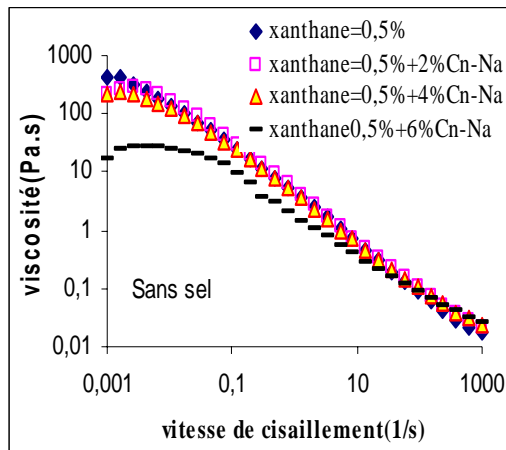




APPENDICE G

LES COURBES D'ÉCOULEMENT DES MELANGES ASSOCIEES A DES CONCENTRATIONS DE XANTHANE 0.3 % et 0.5%





REFERENCES

1. Syrbe, A.; Bauer, W.J.; Klostermeyer, H. « Polymer science concepts in dairy systems- An overview of milk protein and food hydrocolloids interaction ». *Int. Dairy J.* (1998) 179-193.
2. Dickinson, E., Semenova Maria, G., Antipova Anna, S., « Salt stability of casein emulsions », *Food hydrocolloids*, V. 12, (1998), 227-235.
3. Vreeker, R., Hoekstra, L.L., Den Boer, D.C., Agterof, W.G.M., « Fractal aggregation of whey proteins », *Food Hydrocolloids*, V.6, (1992), 423 – 435.
4. Demetriades, K. and Mc Clements, D.J., J. « Flocculation of whey protein stabilized emulsions as influenced by dextran sulphate and electrolyte » *Food Sci.* V.64, n°2, (1999), 434-442.
5. Jeyarajah, S., and Allen, J.C., « Calcium binding and salt-induced structural changes of native preheated β -lactoglobulin », *J. Agric. Food Chem.*, V.42, (1994), 80-85.
6. Schmidt, D.G., « Association of casein and casein micelle structure », In P.E. Fox (Ed.), *Development in dairy chemistry*, Applied Science Publishers, London (1982), chap 2.
7. Emmanuel Rouy ; « Formulation d'un gel oxydant à matrice organique applicable à la décontamination nucléaire : propriétés rhéologiques, acido-basiques et ozonolyse de la matrice » Thèse de doctorat, Montpellier (2003).
8. Cayot-Denis L. P., « Structure et techno-fonction des protéines du lait » Tec & Doc, Ed. Lavoisier, Paris (1998).
9. Jansson, P.-E., Kenne, L., Lindberg, B., « Structure of the extra-cellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris* », *Carbohydrate Research*, vol. 45, (1975), 275-282.
10. Melton, L.D., Mindt, L., Rees, D.A., Sanderson, G.R., « Covalent structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris* : evidence from partial hydrolysis studies », *Carbohydrate Research*, vol. 46, (1976), 245-257.
11. Sato, T., Norisuye, T., Fujita, H., « Double-stranded helix of xanthan: dimensional and hydrodynamic properties in 0,1 M aqueous NaCl, *Macromolecules* », vol. 17, (1984) 2696-2700.
12. Milas, M., Rinaudo, M., « Conformational investigation on the bacterial polysaccharide

Xanthan », Carbohydrate Research, vol. 76, (1979), 189-196.

13. Capron, I., Brigand, G., Muller, G., «About the native and renatured conformation of xanthan exopolysaccharide », Polymer, vol. 38, (1997), 5289-5295.

14. Liu, W., Sato, T., Norisuye, T., Fujita, H., «Thermally induced conformational change of xanthan in 0,01 M aqueous sodium chloride », Carbohydrate Research, vol. 160, (1987) 267-281.

15. Capron, I., « Traitement thermique des moûts de fermentation et organisation moléculaire du xanthane, conséquences rhéologiques », Thèse de doctorat, Rouen, France (1996).

16. Collic S.J, Zanchetta P., H ellery D., ratiskol J., Sinquinc ., Fischer A.M., Guezenec J., E, « Exopolysaccharides produced by bacteria isolated from Deep Sea, Biopolymers : Health» Cosmetic and Food Application , Polymer, (2003).

17. L ouisot P., « biochimie générale et médicale- structurale métabolique et sémiologique », E. Villeurbanne, Paris, (1983) pp 325-389,.

18. Denniston K.J., « principles and applications of organic and biological chemistry », Ed.Wm.c . Brown publishers, (1997), pp.225.

19. Dickinson E., « les colloïdes alimentaires », Série Sciences de l'Ingénieur, collection industrie alimentaires et biologiques, Ed. Masson, Paris, (1996).

20. Reiffers-Magnani C.K., Cuq J.L., Watzke H.J., « depletion flocculation and thermodynamic incompatibility in whey protein stabilised O/W emulsions », food Hydrocolloids 14,(2000), 521-530.

21. Leclerc E., Calmettes, « Interaction in micellair solutions of β -casein », Physical Review Letter, V78,(1979), p.150-153.

22. Swaisgoof H. E., « Chemistry of milk protein ». In P.F. Fox, Development in dairy chemistry, London: Elsevier Applied Science, V1,(1982), p.1-59.

23. Doxastakis G., « Milk protein» inCharalambous G and Doxastakis G., Food emulsifiers, Ed. Elsevier, Amsterdam, (1989), pp 9-62.

24. Murphy J. M., Fox P. F., « Functional properties of α_s^- / κ^- or β^- rich casein fractions », Food Chemistry, V39, (1991), p.211-228.

25. Dickinson E., Pinfield V. J.,Horne D. S., Leermakers, F. A. M., « Self-consistent-field modelling of adsorbed casein: interaction between two protein-coated surfaces», journal of the Chemical Society, Faraday Transaction, V93, (1997), p.1785-1790.

26. Chu B., Zhou Z., Wu G., Farrell J. J , « Dynamic light scattering investigation of sodium caseinate and xanthan mixtures», , Colloid Interface Sci, V170,(1995), p.102-112.

27. Lucey J. A., Srinivasan M., Singh H., Munro P. A., « Characterizations of commercial and experimental sodium caseinates by multiangle LASER light scattering and size exclusion chromatography», J. Agri. Food Chem., V48(5), (2000), p.1610-1616.
28. Dickinson E., Semenova M. G., Belyakova L. E., Antipova M., Tsapkina E. N., Ritzoulis C., « Analysis of light scattering data on the calcium ion sensitivity of caseinate solution thermodynamics: relationship to emulsion flocculation», Journal of colloid and interface science, V239,(2001), p.87-97.
29. Nash W., Pinder D. N., Hemar Y., Singh H., « Dynamic light scattering investigation of sodium caseinate and xanthan mixtures», International Journal of Biological Macromolecules, V30,(2002), p.269-271.
30. Stein J. L., « Lait et produits laitiers, Méthodes d'échantillonnage», official methods of analysis, AOAC, 15^{ème} édition, Paris, (1999).
31. Perrin P., Hourdet D., « Polymères en Solution», Ed. Techniques de l'ingénieur, 2-17, A 3 050, (1997).
32. Hiemenz, P.C; Rajagopalan, R. « Principles of colloid and surface science» 3rd Edition, Marcel Dekker: New York, 1997, 670 pp. Hiemenz et Rajagopalan,(1997).
33. Prausnitz, J.M.; Lichtenthaler, R.N.; de Azevedo, E.G. « Molecular Thermodynamics of Fluid-Phase Equilibria» 3rd Edition, Prentice-Hall inc., New Jersey, (1999), pp 9-117.
34. Israelachvili, J. « Intermolecular and surface forces» 2nd Edition, Academic Press: London,(1992).
35. Levisalles J., Jozefowics M., Chimie Organique, « Composés organiques complexes», Ed. Flammarion Sciences, Paris (1974).
36. Dickinson E., McClement D. J., «Molecular Basis of Protein Functionality», In Advances in Food Colloids, Blackie Academic, London, (1996), p.27-76.
37. Tolstogulzov, V.B., «Functionl properties of food protein. Role of protein polysaccharides interactions», Food Hydrocolloids, V.4, (1991), 429-468.
38. Kruif, C.G., Tuinier, R., «Polysaccharide protein interactions», Food Hydrocolloids, V.15, (2001), 555-563.
39. Bungembeg De Jong, H.G. , «reversible systemes», In H.R.Kruyt, Colloid science, Ed. Elsevier, Amsterdam (1949), Chapters 8 and 10.
40. Xia, J.; Dubin, P.L. «Protein-polyelectrolyte complexes». In: Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology, Springer Verlag: Berlin, (1994), pp 247-271.
41. van Oss, C.J. « Acid-base interfacial interactions in aqueous media». Colloids Surf. A (1993), 78, 1-49.

42. Chen, C.C.; Kratochvil, J.F.; Lloyd, W.L.; inventors: Kraft Inc., assignee. 1989. «Microfragmented ionic polysaccharide/protein complexes solutions». U.S. Patent (1989)
43. Tostoguztov V. B., « Protein Polysaccharide Interaction», In Food protein and their application»,(1997), 171-198.
44. Singh O. N., Burgess D. J., « Characterization of albumin-alginic acid complex coaservation», J. Pharm. Phamacol, V41, (1989), p.670-673.
45. Morr C. V., Ha E. Y. M., « Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties», Crit. Rev. Food Sci. Nutr., V33, (1993), p.431-476.
46. Semenova M.G., « Factor determining the character of biopolymer-biopolymer interaction in multicomponent aqueous solutions modeling food system, In Macromolecular Interaction» in Food Technology, ACS Symposium Series 650, Washington DC, (1996), p.37-49.
47. Dickinson E., Powlowski K., «Effect of high pressure treatment of protein on the rheology of flocculated emulsion containing protein and polysaccharide», J. Agri Food Chem., V44, (1996), p.2992-3000.
48. de Kruif K. G., Tuinier R., « Whey protein aggregates and their interaction with exopolysaccharides», International Journal of Food Science and Technology, V34, (1999) p.487-492.
49. Foegeding, E.A., Kuhn, P.R., and Hardin, C.C.. «Specific Divalent Cation-induced Changes during Gelation of β -Lactoglobulin», J. Agric. Food Chem., V.40, (1992), 2092-2097.
50. Damodaran, S., & Kinsella, J. E. « Effects of ions on protein conformation and functionality», In J.P. Cherry (Ed.), Food protein deterioration, ACS Symposium Series, V.206, (1982), 328–357.
51. Marangoni, F., Agostoni, C., «Polyunsaturated fatty acid concentrations in human hindmilk are stable throughout 12-months of lactation and provide a sustained intake to the infant during exclusive breastfeeding: an Italian study», Br. J. Nutr., V.84, n°1, (2000), 103-119.
52. Hemar Y., Tamehana M., Munro P. A., Singh H., « Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum», Food Hydrocolloids, V15,(2001), p.565-574.
53. Varfolomeeva. E.P., Grinberg, V.Y. and Tolstogulzov, V.B., «Thermodynamic incompatibility of proteins in aqueous medi», J. Agric. Food Chem., V. 29, (1995), 323-333.
54. Tolstogusov, V.B., Grinberg, V.Y., and Gurov, A.N., «Physico-chemical modification of food protein », Food Hydrocolloids, V.33, (1985), 151-159.

55. Thongngam, M., Chinaachoti., McClements D.J., «Influence of polysaccharide type on émulsion rheology and stability», IFT Annual Meeting, New Orleans, Luisiana, USA., 51, n° (D5), (2000).
56. Kulmyrzaev, A.A., Schubert, H., «Influence of KCl on the physicochemical properties of whey protein stabilized emulsions», J. Food Hydrocolloid, V.14, (2003) 1-7.
57. Ye, A., & Singh,H., «Influence of calcium chloride addition on the properties of emulsions stabilized by whey protein concentrate», Food Hydrocolloids, V.14, (2000), 337-346.
58. Keowmaneechai, E. et McClements, D.J.,« Effect of CaCl₂ and KCl on physicochemical properties of model nutritional beverage based on whey protein stabilized oil-in water emulsions», J. Food Sci., V. 67, n° 2, (2002), 120-125.
59. CD-ROM ; « Manuel de transformation des produits laitiers »
60. Linden.G ; « Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaire», volume 2 : Principes des techniques d'analyses, 2^{ème} édition, Lavoisier TEC et DOC, Paris, (1991). pp183- 520.
61. Couarraze.G, Grossiord.J.L ; « Initiation à la rhéologie », 2^{ème} édition, TEC et DOC, Lavoisier, Paris (1991).
62. Hadj –Sadok, A., “Comportement rhéologique des fluides complexes”, Thèse Magister, USTHB (1993).
63. Midoux. N ; « Mécanique et rhéologie des fluides en génie chimique» (suite), édition Lavoisier, Paris, (1985).
64. Kerfellah.N ; « Caractérisation rhéologique d'une substance complexe en régime dynamique », Thèse de Magister, USTHB, (1998).
65. Sher.J ; « Texture et texturation des produits alimentaires », Techniques de l'ingénieur, Traité génie des procédés, F-3-3000, (1989) pp 1-4.
66. Wolff, Dupuis.D ; « Viscosity », Technique de l'ingénieur, F-3300, (1998).
67. Couarraz e, G., Grossiord, J.-L., « Initiation à la rhéologie» 3^{ème} Ed., Tec&Doc, Paris (2001).
68. Carrot C., Grossiord , J. L., « viscoélastique linéaire des polymères fondus», Techniques de l'Ingénieur, Traité plastique et composites, Vol .AM,AM 3620, (1999)
69. Steffe, J.F., P.E., « Rheological Method in Food Process Engineering, » Freeman Pess, 2nd Edition, NY, (1996).
70. Mezger, T.G., « the Rheology Handbook», Hannoprint ed., Hannover, (2002).

71. James.E, Steffe.Ph. D.P.E; « Rhéological méthodes in food process engineering », 2^{ème} Ed. Freeman Press. (USA.1996), pp 1-418.
72. www.unilim.fr/theses/2002/science/2002_limo_0024/ these-body. html
73. Hunter R.J. « Zeta potential in colloid science, Principles and applications», (1981).
74. Rodd AB, Dunstan DE, Boger DV. , «characterisation of xanthan gum solutions using dynamic light scattering and rheology», Carbohydr. Polym. (2000); 42-59.
75. Talukdar, M.M., Vinckier, I., Moldenaers, P., Kinget, R., « Rheological characterization of xanthan gum and hydroxypropylmethylcellulose with respect to controlled-release drug delivery», Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 85,(1996), 537-540.