

UNIVERSITE DE BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Génie des Procédés

ELECTROCINETIQUE ET RHEOLOGIE DU XANTHANE EN SOLUTION. APPLICATION
A LA FORMATION ET LA STABILITE D'UNE EMULSION DE CASEINATE DE SODIUM.

Par

REBIHA Mounia

Soutenu publiquement le 01/07/2014, devant le jury composé de :

O. BOURAS	Professeur, Université de Blida 1	Président
R. ISSAADI	Professeur, Université de Blida 1	Examineur
T. AHMED ZAID	Professeur, ENP El Harrach	Examineur
M. LOUNIS	Professeur, Université Khemis-Miliana	Examineur
N. MOULAI-MOSTEFA	Professeur, Université de Médéa	Rapporteur

RESUME

Le but de ce travail consiste à étudier les propriétés physicochimique et rhéologique d'un type de polysaccharide, à savoir de la gomme xanthane. En premier lieu, on s'est intéressé à la détermination de son comportement électrocinétique en solution. Dans ce contexte, nous avons mis en évidence un modèle exprimant la dépendance de la mobilité électrophorétique à la concentration dans le régime d'étude. Par la suite une relation liant le potentiel zêta à la mobilité électrophorétique a été identifiée, ce qui a permis d'entreprendre l'étude de l'influence de la force ionique ainsi que du pH. En deuxième étape, on s'est focalisé sur le comportement rhéologique des solutions de xanthane, à diverses concentrations et forces ioniques. Les résultats ont été traités expérimentalement selon deux approches distinctes : une analyse de la viscoélasticité des solutions en régime linéaire et une analyse sous cisaillement en dehors du régime linéaire. L'effet de la température a été considéré, en s'appuyant sur les courbes maitresses à la température de référence de 20°C. Enfin, une étude de stabilité des émulsions contenant notamment du xanthane et de caséinate de sodium a été entreprise à l'aide des plans d'expériences.

ABSTRACT

The aim of this work consists to study the physiochemical and rheological properties of a kind of polysaccharide, which is the xanthan gum. First, we were interested in the determination of its electrokinetic's behavior in solution. In this context, a model was identified to express the dependence of the electrophoretic mobility as a function of the concentration. So, a relation between the zeta-potential and the electrophoretic mobility was identified, which allow us to determine the effect of ionic and pH. In second stage, we were interested on the rheological behavior of xanthan solutions at various concentrations and ionic strength. This study was experimentally treated by viscoelasticity in linear mode and under variable shearing. The effect of the temperature was considered, by the determination of the master curves at reference temperature, 20°C. Finally, a study of emulsions stability containing xanthan gum and sodium caséinate was undertaken using the experimental designs.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية و الريولوجية من نوع من السكريات وهو الكزنتان. أولا اهتمامنا بتحديد السلوك الكهروحركي في المحلول. في هذا السياق, أظهرنا نموذجا معبرا عن العلاقة بين التنقل الكهربائي و التركيز في مجال الدراسة. بعد ذلك, تم تحديد العلاقة التي تربط الكمون زيتا بالتنقل الكهربائي, و هذا ما سمح لنا بدراسة تأثير القوة الأيونية و درجة الحموضة. في المرحلة الثانية, ركزنا على السلوك الريولوجي لمحاليل الكزنتان بتركيز و قوة أيونية مختلفة. تم معالجة النتائج التجريبية في نهجين مختلفين, اجراء تحليل لزوجة و مرونة المحاليل في الصعيد الخطي و تحليل تدفقي خارج الصعيد الخطي, و اعتبر تأثير درجة الحرارة على أساس منحنيات ماستر في درجة حرارة مرجعية 20 °م. أخيرا, أجريت دراسة استقرار مستحلبات تحتوي على كزنتان و كازينات الصوديوم باستخدام التصميم التجريبي

Remerciements

Au cours de la réalisation de ma thèse de doctorat, j'ai eu l'occasion de rencontrer des personnes qui, d'une façon ou d'une autre, ont contribué à mon apprentissage et ont rendu cette expérience plus fructueuse, à qui je tiens rendre hommage.

Tout d'abord, J'exprime toute ma gratitude et mon respect envers mon directeur de thèse, Monsieur N. MOULAI-MOSTEFA, Professeur à l'université de Médéa, pour ses encouragements, ses conseils, et surtout sa patience et son appui de façon continue.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Monsieur O. BOURAS, Professeur à l'université de Blida 1 de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Je remercie également Messieurs, T. AHMED ZAID, Professeur à l'ENP El Harrach, M. LOUNIS, Professeur à l'université à Khemis-Miliana et R. ISSAADI, Professeur à l'université de Blida 1 d'avoir accepté de faire partie du jury.

Je ne pourrais rater cette occasion pour présenter les remerciements les plus sincères à Monsieur A. HADJ SADOK, Maître de Conférences à l'université de Blida 1, qui m'a aidé tout le long de cette thèse et m'a fourni de précieux conseils dans les interprétations de mes résultats et la rédaction de cette thèse, malgré ses nombreuses occupations.

J'exprime également mes sincères remerciements à tous les membres du laboratoire galénique du Centre de Recherche et de Développement SAIDAL.

Un remerciement spécial à mes proches et à ma famille. À mes parents, pour leur soutien inestimable et leurs encouragements interminables! À mon époux et mes enfants. A mes frères et mes sœurs. A mes amis et mes collègues de l'université de Ouargla. A tous mes amis.

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
REMERCIEMENTS	3
TABLE DES MATIERES	4
LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES ET TABLEAUX	6
INTRODUCTION	11
1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	15
1.1. Introduction	15
1.2. Généralités sur les polysaccharides	15
1.3. Physicochimie des polysaccharides	16
1.4. Conformation des polyélectrolytes	20
1.5. La gomme xanthane	26
1.6. Protéines	31
1.7. Caséines	36
1.8. Les caséinates	38
1.9. Mélange de protéines et polysaccharides en milieu aqueux	40
1.10. Caractérisation électrocinétique	
2. MATERIELS ET METHODES	46
2.1. Matériels	46
2.2. Préparation des échantillons	47
2.3. Méthodes de caractérisation	50
3. COMPORTEMENT ELECTROKINETIQUE DU XANTHANE EN SOLUTION EN FONCTION DE LA CONCENTRATION ET DE LA FORCE IONIQUE	76
3.1. Introduction	76
3.2. Etude de la dépendance de la mobilité électrophorétique à la concentration des solutions de xanthane	77
3.3. Détermination du potentiel zêta	80
3.4. Etude de l'effet de la force ionique sur le comportement électrocinétique des solutions de xanthane	86
3.5. Conclusion	90
4. ETUDE DE LA RHEOLOGIE DU XANTHANE EN SOLUTION	91
4.1. Introduction	91

4.2. Test de viscoélasticité	92
4.3. Test d'écoulement	94
4.4. Viscoélasticité des solutions de xanthane en fonction de la température	100
4.5. Conclusion	106
5. ETUDE DE LA FORMATION ET DE LA STABILITE D'UNE EMULSION HUILE DANS EAU A BASE DE XANTHANE ET DE CASEINATE DE SODIUM.	108
5.1. Introduction	108
5.2. Etude rhéologique	108
5.3. Résultats de l'analyse statistique	109
5.4. Effet des facteurs sur les réponses	112
5.5. Conclusion	122
CONCLUSION	123
APPENDICE	120
A. Liste des symboles et abréviations	120
REFERENCES	130

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Etats caractéristiques d'une solution de polymère de concentration C . $C < C^*$: régime dilué ; $C = C^*$: concentration critique de recouvrement ; $C > C^*$: régime semi-dilué ; $C \gg C^*$: régime concentré.	22
Figure 1.2	Longueurs caractéristiques d'une chaîne de polyélectrolyte. R : longueur moyenne bout à bout. R_g : Rayon de gyration; L : taille d'un monomère; d : distance moyenne entre deux sites ioniques consécutifs.	24
Figure 1.3	Modèles de structure sphérique suivant la répartition des charges	25
Figure 1.4	Structure de la gomme xanthane	27
Figure 1.5	Transition du xanthane de l'état ordonné à l'état désordonné.	28
Figure 1.6	Dissociation incomplète du xanthane et association d'hélices doubles.	29
Figure 1.7	Structure d'un acide α aminé	32
Figure 1.8	Types d'interactions intervenant dans le repliement de la chaîne	33
Figure 1.9	Structure tertiaire de la protéine	34
Figure 1.10	Comportement du mélange protéine/polysaccharide.	41
Figure 1.11	Vue schématique de la double couche électrique.	48
Figure 1.12	Vue schématique du modèle d'interface chargée perméable	49
Figure 1.13	Profil du potentiel mesuré en fonction de la distance x tout au long de la double couche.	51
Figure 1.14	Représentation schématique du champ	52

- électrique traversant une particule de rayon a , entourée d'une double couche (a) épaisse, (b) mince.
- Figure 1.15 Variation de la fonction de Henry avec le produit κa pour une particule cylindrique et une particule sphérique. 53
- Figure 1.16 Effet de relaxation. La double couche électrique est sphériquement symétrique pour de faibles valeurs de ζ (a) et elle perd cette sphéricité pour de grandes valeurs de ζ (b). 54
- Figure 1.17 Mobilité électrophorétique E_m mesurée pour une particule colloïdale de rayon a chargée positivement dans une solution aqueuse de KCl à 25°C, en fonction du nombre adimensionnel du potentiel zêta pour différentes valeurs de κa . Calculée par la méthode d'O'Brien et White. 54
- Figure 1.18 Mobilité électrophorétique mesurée $E_m = \left(\frac{3\eta e}{2\varepsilon_r \varepsilon_0 kT}\right)\mu$ d'une particule sphérique chargée négativement de rayon a dans trois types d'électrolyte en solution aqueuse (KCl, $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ et LaCl_3) en fonction du potentiel zêta calculé. 57
- Figure 1.19 Domaine de validité de différentes expressions de la mobilité. 58
- Figure 1.20 Modèle de distribution des ions (a) et distribution du potentiel (b) à proximité de la surface perméable d'une particule perméable chargée. 60
- Figure 1.21 Profil de distribution de segments de chaîne à l'interface diffuse perméable et modèle d'une particule perméable diffuse. 61

Figure 1.22	Evolution du potentiel zêta en fonction de la teneur en ions déterminant le potentiel.	62
Figure 2.1	Photo d'une émulsion présentant une séparation de phase.	49
Figure 2.2	Représentation schématique d'une mesure rhéométrique en mode oscillatoire.	52
Figure 2.3	Courbe de viscoélasticité du xanthane à 0.5% à $T = 20^{\circ}\text{C}$.	56
Figure 3.1	Mobilité électrophorétique en fonction de la concentration des solutions de xanthane	77
Figure 3.2	Image schématique d'un ensemble de particules sphériques dans une suspension concentrée selon le modèle de cellule de Kuwabara	79
Figure 3.3	Ajustement des valeurs expérimentales avec les modèles de Shugai et d'Anderson	80
Figure 3.4	Comparaison entre le potentiel zêta calculé par la formule HS et celle de O'Brien, pour une solution à 0,1% de xanthane à différentes concentrations de KCl.	85
Figure 3.5	Potentiel zêta des solutions de xanthane à différentes concentrations en fonction de la concentration en sel (a) monovalent (KCl), (b) divalent (CaCl_2)	87
Figure 3.6	Variation du potentiel zêta en fonction du pH et de la concentration de sel (a) monovalent (KCl) (b) divalent (CaCl_2).	89
Figure 4.1	Courbe de viscoélasticité d'une solution de xanthane exempte de sel.	92
Figure 4.2	Variation du module de conservation en fonction de la déformation des solutions de xanthane à différentes concentrations.	93
Figure 4.3	Viscoélasticité d'une solution à 0.3% de xth à	94

	différentes concentrations de KCl et de CaCl ₂	
Figure 4.4	Courbes d'écoulement des solutions de xanthane à différente concentration avec 3mM de Na ⁺	95
Figure 4.5	Variation de la viscosité en fonction de la concentration de xanthane	96
Figure 4.6	Courbes d'écoulement de solutions de xanthane à 0,3% avec différentes concentrations de KCl	97
Figure 4.7	Courbes d'écoulement de solutions de xanthane à 0,5% avec différentes concentrations de CaCl ₂	97
Figure 4.8	Variation de la viscosité au repos η_0 avec la concentration de KCl.	98
Figure 4.9	Variation de la viscosité au repos η_0 avec la concentration de CaCl ₂ .	98
Figure 4.10	Courbes d'écoulement de la solution en xanthane à pH=7,41 et à pH=pl.	100
Figure 4.11	Modules G' et G'' en fonction de la température, lors du chauffage et du refroidissement d'une solution de xanthane.	101
Figure 4.12	Les modules de conservation et de perte en fonction de la fréquence d'une solution de xanthane. Les symboles pleins représentent G' et ceux creux G''.	101
Figure 4.13	Courbes maitresses des modules de conservation et de perte en fonction de la fréquence d'une solution de xanthane sans sel (3mM de NaN ₃), à une température de référence de 20°C.	103
Figure 4.14	Les coefficients de décalage horizontal (a_T) et vertical (b_T) utilisés pour obtenir les courbes maitresses, en fonction de la température.	103

Figure 4.15	Courbes maitresses des modules de conservation et de perte en fonction de la fréquence du mélange constitué de 1% de caséinate de sodium et de 2% de xanthane à une température de référence de 20°C.	105
Figure 4.16	Les coefficients de décalage horizontal (a_T) et vertical (b_T) utilisés pour obtenir les courbes maitresses du mélange xanthane/ caséinate, en fonction de la température.	105
Figure 5.1	Courbe de viscoélasticité de l'essai N° 5 à T = 20°C.	109
Figure 5.2	Courbes d'effet du Tween 20 sur IC à différentes concentrations de CnNa, Xth = 0%, huile = 30%; T = 20 °C	113
Figure 5.3	Courbes d'effet du Tween 20 sur G'o, à différentes concentrations de CnNa; Xth = 0.25%, huile = 30%, et T = 20°C.	115
Figure 5.4	Courbes d'effet du Tween 20 sur IC, à différentes concentrations de CnNa; Xth = 0.25%, huile = 30%, et T = 20°C.	115
Figure 5.5	Analyse microscopique de l'essai N°20 après 24h, CnNa = 3.5%, Xth= 0.25%, Tween20 = 0.1%, Huile = 30%.	116
Figure 5.6	Analyse microscopique de l'essai N°5 après 2 mois, CnNa = 1%, Xth = 0.5%, Tween20 = 0.2%, Huile = 50%.	117
Figure 5.7	Courbes d'effet du Tween 20 sur G'o, pour différentes concentrations de caséinate (Xth = 0.5%, huile= 50 %, et T = 20°C)	118
Figure 5.8	Courbes d'effet du Tween 20 sur IC, pour différentes concentrations de caséinate (Xth = 0.5%, huile= 50 %, et T = 20°C)	118
Figure 5.9	Courbes d'effet de l'huile sur G'o, pour	119

	différentes concentrations d'huile.	
Figure 5.10	Courbes d'effet de l'huile sur IC, pour différentes concentrations d'huile ($X_{th}=0.5\%$, Tween 20 = 0.2 %, et T = 20°C)	120
Figure 5.11	Courbes d'effet de l'huile sur G'o, pour différentes concentrations de xanthane (huile = 30 %, Tween 20 = 0.2 %, et T = 20°C)	121
Figure 5.12	Courbes d'effet de l'huile sur IC, pour différentes concentrations de xanthane (huile = 30 %, Tween 20 = 0.2 %, et T = 20°C)	121
Tableau 1.1	Quelques valeurs du pHi des protéines	36
Tableau 1.2	Caractère des fractions de la caséine	37
Tableau 2.1	Caractéristiques physico-chimiques du caséinate	46
Tableau 2.2	Matrice d'expérience	52
Tableau 3.1	Valeurs de κ^{-1} en fonction de la concentration du sel rajouté	83
Tableau 3.2	Variation du potentiel zêta avec le pH à différentes concentrations de KCl et de CaCl ₂	88
Tableau 5.1	Valeurs des réponses expérimentales obtenues suite à l'analyse des émulsions.	110
Tableau 5.2	Matrice de corrélation entre les réponses.	111

INTRODUCTION GENERALE

Les produits alimentaires nécessitent souvent l'utilisation d'ingrédients tels que les protéines et les polysaccharides pour leurs propriétés fonctionnelles intéressantes, notamment, épaississantes, gélifiantes, stabilisantes, et émulsifiantes.

Ces propriétés sont impactées par divers facteurs tels que la masse molaire et la polymolécularité, la conformation chimique, la concentration, la densité de charges, le pH, la force ionique, la température, la qualité du solvant, la nature et la force des interactions intermoléculaires et intramoléculaires.

Le formulateur, dans le domaine alimentaire, a besoin de maîtriser avec précision ces propriétés fonctionnelles afin qu'il puisse faire ressortir l'effet synergique des deux espèces de polymère dans le mélange. Néanmoins cette phase d'exploration reste une tâche très ardue et nécessite des connaissances très approfondies tant sur plan physicochimique que rhéologique.

C'est pour cette raison que l'étude de la physico-chimie des polysaccharides a connu un intérêt croissant depuis plusieurs décennies, en raison également de la multiplicité de leurs origines, de leurs propriétés et applications. Récemment, leur potentiel d'application s'est encore accru.

Le comportement des polysaccharides en solution a été largement déterminé par leur structure et les conditions du milieu. Leur aptitude à être modifiée constitue un atout majeur pour optimiser leurs applications. Des études fondamentales ont été réalisées sur les structures primaires (effets de la composition), secondaires (effets de la ramification et de la séquence), tertiaires (structures dans l'espace : simple hélice, double hélice) et quaternaires (coagulation) des polysaccharides.

Dans ce mémoire, nous avons porté notre choix sur le xanthane qui est un polysaccharide, très utilisé dans l'industrie alimentaire, comme agent épaississant ou texturant. C'est un polysaccharide extracellulaire anionique de haut poids moléculaire, il est produit par la bactérie " *Xanthomonas campestris* ". C'est le

polysaccharide microbien le plus important dans l'industrie, pour ses propriétés physiques (viscosité, pseudoplasticité) et chimiques (stabilité au pH, solubilité dans l'eau). Malgré que la conformation du xanthane a été intensivement étudiée, il reste jusqu'à nos jours un sujet à débattre.

Depuis sa découverte dans les années 50, beaucoup de recherches et de publications ont été réalisées, traitant sa structure, ses modifications conformationnelles et surtout en modifiant la température et la force ionique. En solution aqueuse, le xanthane subit une transition conformationnelle qui dépend de la température, de la force ionique et du pH aussi bien que des substituants acétyle et pyruvyle.

En revanche, peu de travaux ont été consacrés à l'étude du comportement électrocinétique du xanthane qui est essentiel pour contrôler les interactions électrostatiques de la double couche électrique. Cette propriété n'a pas été déterminée, à ce jour, à cause notamment de la technique de mesure de la mobilité électrophorétique et de la relation reliant cette dernière au potentiel zêta. De cette problématique, nous avons fait ressortir un des objectifs de notre travail de recherche qui consiste à étudier l'effet de la force ionique et de l'acidité sur le comportement électrocinétique du xanthane en solution.

La détermination des propriétés rhéologiques des solutions colloïdales sert non seulement à identifier le comportement du fluide, mais aussi à deviner son emploi dans les formulations. 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 leur stabilité.

Les protéines et les polysaccharides coexistent souvent dans beaucoup de produits industriels, notamment alimentaires. La connaissance de leurs interactions est la clé de la compréhension et le control de la structure et la texture du produit fini et le développement de nouveaux produits à structure complexe. Les interactions entre ces deux biopolymères peuvent être attractives ou répulsives, ceci dépend des concentrations des deux espèces polymériques, de la force ionique, de la température, du pH du milieu. La séparation de phase dans les mélanges de biopolymères tels que les protéines et les polysaccharides a été

souvent observée. Ceci peut être attribué à différents mécanismes comme par exemple l'association quand les deux espèces polymériques portent une charge opposée, ou l'incompatibilité thermodynamique. Bien que les mélanges caséinate de sodium/ gomme xanthane ont été intensivement étudiés, le comportement de ce mélange reste un sujet d'investigation.

Notre contribution à ces recherches par ce travail consiste à mettre en évidence l'effet du sel, par sa valence, le pH et la température sur le comportement rhéologique et électrocinétique de la gomme xanthane. Les techniques de caractérisation utilisées sont la rhéologie et la zétamétrie.

Ce manuscrit est composé de 5 chapitres :

Le premier chapitre présente un aperçu général sur les polysaccharides et les protéines. L'accent a été mis sur le xanthane et le caséinate de sodium. Le recensement des travaux antérieurs réalisés sur les caséinates, la gomme xanthane et les mélanges caséinates/xanthane ainsi que leurs interactions est exposé.

Le deuxième chapitre décrit la préparation des échantillons ainsi que les protocoles expérimentaux et une étude théorique des différentes techniques utilisées au cours de ce travail.

Le troisième chapitre est consacré à l'étude du comportement électrocinétique du xanthane en solution en fonction de la concentration, de la force ionique et du pH.

Le quatrième chapitre traite la rhéologie du xanthane en solution. Les influences de différents paramètres (concentration en biopolymères, force ionique, nature du sel, pH et température) sur les paramètres viscoélastiques et sous écoulement sont étudiés.

Le cinquième chapitre est consacré à l'étude de la formation et de la stabilité d'une émulsion huile dans eau à base de xanthane, de caséinate de sodium et de Tween 20. Une étude d'effet des différentes concentrations des ingrédients sur le comportement rhéologique et la stabilité de ces émulsions est réalisée à l'aide

d'une planification expérimentale et une modélisation en surface de réponses des résultats.

Cette thèse est achevée par une conclusion générale, dans laquelle, on exposera les différents résultats qui se sont dégagés à l'issue de ce travail ainsi que des perspectives pour mettre en avant les points qui méritent d'être approfondis et poursuivis.

CHAPITRE 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Introduction

Les protéines et les polysaccharides sont des biopolymères naturels qui sont employés en tant qu'ingrédients fonctionnels dans beaucoup d'applications technologiques, y compris l'industrie alimentaire, pharmaceutiques, cosmétique, etc. Dans plusieurs de ces applications ce mélange est utilisé dans la formulation de suspensions (émulsion, mousse).

Dans ce chapitre on va exposer d'abord un aperçu général sur les polysaccharides puis une étude détaillée de la gomme xanthane, sa structure, sa conformation et ses applications. On présentera ensuite les protéines, les caséines et les caséinates. Enfin, on va aborder les interactions protéine/polysaccharide et les différents travaux réalisés là-dessus.

1.2. Généralités sur les polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères constitués d'un enchaînement de molécules dont les unités structurales de base sont des monomères de sucres. Lorsque ces molécules sont simples, on parle d'oses ou de glucides. Le principal d'entre eux est le glucose, molécule intervenant dans le métabolisme des êtres vivants. C'est l'association d'un grand nombre d'oses qui est à l'origine de la formation des polysaccharides.

De nombreuses sources de polysaccharides sont connues aujourd'hui. Elles peuvent être d'origine naturelle, en provenance de matière vivante animale ou végétale, et d'origine artificielle, issues de synthèse. Les polysaccharides d'origine végétale sont les plus valorisés. Ils sont en général présents dans des éléments comme les algues, le bois, les tiges de céréales, les grains de légumineuses, et les fruits [1]. C'est par exemple le cas de la cellulose qui est le constituant principal de la masse végétale et, à ce titre, est produit par dizaine de milliards de tonnes chaque année. La cellulose intervient dans des applications diverses comme la fabrication du papier, et la production de fibres textiles. Les polysaccharides provenant de source animale,

sont, en général, d'origine bactérienne. Les microorganismes synthétisent, dans ce cas, des polysaccharides exocellulaires ou exopolysaccharides par sécrétion d'enzyme dans le milieu de fermentation. Parmi ces polymères, figure le xanthane qui est un polysaccharide rigide.

Les polysaccharides artificiels ou de synthèse sont principalement des dérivés de polysaccharides naturels transformés par l'action de différents réactifs. La modification chimique vise à leur conférer de nouvelles propriétés pour élargir leurs domaines d'applications, ce qui explique leur production à l'échelle industrielle. C'est le cas des dérivés cellulosiques comme l'acétate de cellulose qui est obtenu par réaction de la cellulose avec l'anhydride acétique et produit en million de tonnes dans le monde pour son usage dans la fabrication des fibres de textiles et dans l'industrie des vernis.

1.3. Physico-chimie des polysaccharides

L'étude de la physico-chimie des polysaccharides connaît un intérêt croissant depuis plusieurs décennies, [2-9] en raison de la multiplicité de leurs origines, de leurs propriétés et applications.

Le comportement des polysaccharides en solution est largement déterminé par leur structure et les conditions du milieu. Leur aptitude à être modifiée constitue un atout majeur pour optimiser leur application. Des études fondamentales ont été réalisées sur les structures primaire (effet de la composition), secondaire (effet de la ramification et de la séquence), ternaire (structure dans l'espace: simple hélice, double hélice) et quaternaire (coagulation) des polysaccharides.

1.3.1. Rôle de la structure moléculaire

Indépendamment de la chaîne carbonée principale, les substituants peuvent influencer sur les propriétés des polysaccharides. La chitine, le seul polysaccharide à charge cationique (ammonium), est sensible à de tels effets. A haut degré d'acétylation, ce polymère est soluble dans très peu de solvants, ce qui limite ses applications. Mais partiellement acétylé (moins de 50 %), elle devient hydrosoluble en milieu acide, et c'est de cette faible acétylation que le chitosane est obtenu, un polysaccharide dérivé [10].

Dans certains cas, les substituants peuvent modifier les interactions inter ou intra chaînes des polymères dit épaississants. Ainsi pour le gellane, les groupements L-glyceryl stabilisent la double hélice, alors que les groupements acétyles inhibent le processus de gélification [1]. En absence de ces deux substituants, le gellane a tendance à donner un gel clair et consistant capable de concurrencer l'agarose ou la gélatine. L'agarose, le κ -carraghénane et le ι -carraghénane sont reconnus comme des polymères gélifiant, leurs propriétés dépendant de la structure chimique, notamment de la présence des unités anhydrogalactose et des substituants. Pour ces polymères, le gel physique thermosensible formé est stabilisé par les ponts hydrogènes entre double hélice [4].

Les effets des substituants diffèrent d'un polysaccharide à un autre. Les deux substituants du xanthane, les groupements pyruvyl et acétyl, jouent un rôle très modéré sur la stabilité conformationnelle, et la rhéologie des solutions aqueuses de xanthane. Les groupements acétyles, par exemple, contrôlent les interactions du xanthane avec d'autres polysaccharides comme le galactomannane [11]. A des taux de greffage élevés sur la cellulose, les groupements carboxylates optimisent les propriétés de la carboxyméthyl-cellulose. Ils améliorent notamment son hydrosolubilité, et lui confèrent des sensibilités différentes vis à vis des sels multivalents et une aptitude à former des complexes [12]. De façon générale, la présence des groupements hydroxyles dans la structure chimique des polysaccharides favorise leur solubilité dans les solvants polaires comme l'eau.

Un des paramètres qui contrôlent les propriétés physiques en solution ou à l'état solide des polysaccharides est leur structure tridimensionnelle [13]. Les polysaccharides qui ont une structure stéréorégulière sont souvent capables de former des conformations hélicoïdales en solution. Dans cette configuration, ils sont semi-rigides et leur stabilité dépend de la température, et de la concentration ionique si la structure du polysaccharide contient des unités d'acide uronique ou des substituants ioniques [4]. Le xanthane natif, un polysaccharide rigide, a une conformation de type hélicoïdale et ordonnée en milieu salin [14]. Mais, un réarrangement des interactions entre les chaînes latérales et la chaîne principale, et la solvatation conduit à une forme renaturée, localement plus

rigide. Dissous en milieux aqueux, le xanthane natif subit une transition conformationnelle de type hélice-pelote [15-17]. Sa conformation ainsi dénaturée devient désordonnée avec un comportement de type pelote statistique. Quelle que soit la nature du polysaccharide d'origine, la présence de substituants, et la nature de la structure jouent un rôle fondamental sur son comportement conformationnel.

1.3.2. Rôle des conditions du milieu

Les propriétés structurales des polysaccharides peuvent être affectées par des paramètres comme la température, la force ionique du milieu et la concentration en polysaccharide. Ciszkowska et al. (1999) ont observé que la transition conformationnelle de la pelote à la double hélice, dans le cas des conformères de κ -carraghénane, est liée à la température [18, 19]. Cette transition devient réversible quand la température du milieu baisse. L'effet de la température peut varier suivant la structure des chaînes présentes sur le polysaccharide. Les ι -carraghénane et λ -carraghénane, deux polysaccharides anioniques pourtant de composition chimique similaire, ont des conformations qui diffèrent selon la température. Alors que le ι -carraghénane a une structure hélicoïdale à 25°C, le λ -carraghénane est en pelote statistique dans les mêmes conditions [20]. De plus, le ι -carraghénane a un comportement thermosensible. Un apport de chaleur lui confère une transition conformationnelle réversible de type hélice-pelote, et la température de transition est fonction de la concentration en polysaccharide et de la force ionique du milieu.

Dans sa forme native, le xanthane a une conformation simple hélice. Mais au-dessus de sa température de changement conformationnel, il forme des agrégats en régime dilué ou semi-dilué [4].

La force ionique du milieu joue également un rôle fondamental dans les propriétés conformationnelles des polysaccharides. Quand la concentration de sel augmente dans le milieu, la transition structurale hélice-pelote du κ -carraghénane est plus nette, et déplacée vers des températures plus élevées [21]. La conformation hélicoïdale du ι -carraghénane peut être obtenue en régime dilué en présence de sel, ou en régime concentré en solution sans sel [22]. L'effet de la salinité a aussi été analysé suivant l'évolution de certaines grandeurs comme la viscosité, et les coefficients de diffusion. En régime dilué, la viscosité

du xanthane est peu sensible aux faibles concentrations salines en raison de la rigidité de sa structure. En revanche à salinité élevée, sa viscosité augmente en raison du processus d'agrégation qui se met en place [23]. En solution sans sel, ou à très faibles forces ioniques, les interactions électrostatiques entre les molécules linéaires ou sphériques de polysaccharides sont élevées. Ces effets ont été observés par la présence de pics intenses de diffusion de neutrons pour des solutions concentrées en polyions [8], en diffusion de lumière pour des solutions plus diluées [24, 25]. En viscosimétrie, elles se traduisent par une augmentation de la viscosité réduite en régime extrêmement dilué [26]. Les polysaccharides chargés peuvent par ailleurs être analysés par des techniques électrocinétiques comme l'électrophorèse et la conduction électrique. A l'instar d'autres auteurs, Ghimici et Nichifor (2005) ont observé que la conductivité électrique des polysaccharides chargés dépendait fortement de la concentration en sel, de la concentration en polyion et de la densité de charges des polymères [27]. Les polysaccharides ont aussi fait l'objet de nombreuses études appliquées pour leurs propriétés physiques et leur réactivité remarquables.

1.3.3. Applications

Une propriété très importante des polysaccharides est leur capacité à entrer en interaction avec d'autres matériaux. Les polysaccharides anioniques peuvent interagir avec des protéines globulaires pour former des complexes solubles ou insolubles qui sont principalement stabilisés par interactions électrostatiques, ions-dipôles ou hydrophobes [28]. L'alginate forme avec des polymères cationiques un complexe électrostatique dont la stabilité dépend du pH, et de la concentration en sel du milieu [29]. Le hyaluronane, un polysaccharide naturellement présent dans le corps, a une activité biologique chez l'homme. Ses propriétés viscoélastiques et son caractère semi-rigide en font un matériau d'usage de choix dans le domaine médical. Les complexes qu'il forme avec les polycations permettent de contrôler sa libération. Comme l'agarose et les alginates, les carraghénanes sont utilisés pour l'encapsulation. Toutefois, le comportement des carraghénanes dépend directement de la composition des systèmes dans lesquels ils sont incorporés. Par exemple, le κ -carraghénane, et dans une moindre mesure, le ι -carraghénane sont utilisés dans le domaine

biomédical pour leurs propriétés thermogélifiantes. Par ailleurs, les carraghénane forment avec la gélatine des gels dont la stabilité thermique est élevée. Les substituants et la conformation du xanthane jouent un rôle important dans les interactions spécifiques ayant lieu entre le xanthane et la galatomannane. Deux types de gels ont été identifiés. L'un autour de 20°C où le xanthane est dans la conformation pelote, et l'autre autour de 60°C avec cette fois le xanthane en structure hélicoïdale [11, 30-32]. La modification chimique des polysaccharides a été utilisée pour introduire de nouvelles fonctionnalités sur les polymères naturels. Rinaudo *et al.* (2005) montrent que la présence de sel améliore les interactions alkyl-alkyl chez le chitosane alkylé en contribuant à l'écrantage des répulsions électrostatiques et au renforcement des interactions hydrophobes [33]. Le sel apparaît dans ce cas nécessaire pour obtenir un réseau tridimensionnel.

1.4. Conformation des polyélectrolytes

Un polyélectrolyte peut être représenté comme un objet constitué d'un enchaînement de M monomères répartis en $(1-f)M$ monomères neutres et fM monomères ionisables où f est la fraction de monomères ionisables. La charge des polyélectrolytes induit un champ électrique qui attire les contre ions. Cette interaction entre le polyion et les contre-ions est une source de propriétés caractéristiques des polyélectrolytes. L'une de ces propriétés est la longueur de persistance d'origine électrostatique L_e qui s'ajoute à la longueur de persistance intrinsèque L_0 [34, 35].

Les polyélectrolytes sont distingués en fonction de leur longueur de persistance intrinsèque L_0 . Cette longueur qui caractérise la rigidité naturelle du polymère [36], est définie comme la distance sur laquelle la chaîne équivalente non chargée est rigide. On distingue ainsi les polyélectrolytes flexibles pour lesquels la longueur de persistance électrostatique L_e est supérieure à L_0 . En revanche, on parle de polyélectrolytes rigides dans le cas où L_0 est supérieure à L_e . Les polyélectrolytes semi-flexibles sont définies par des longueurs de persistance électrostatique et intrinsèque voisines l'une de l'autre.

L'existence de charges confère aux solutions de polyélectrolytes des propriétés physico-chimiques spécifiques permettant de nombreuses

applications dans le secteur industriel en tant qu'agents épaississants et gélifiants. En effet, les polyélectrolytes sont des systèmes pouvant donner lieu à de nombreuses interactions. Celles-ci sont principalement de deux ordres. Le premier concerne les interactions classiques qui sont spécifiques à la physique des polymères neutres. Il s'agit d'interaction monomère-monomère ayant lieu à courte portée. Elles se résument aux interactions de volume exclu et de Van Der Waals. Le deuxième ordre est relatif aux interactions à plus longue distance qui sont, quant à elles, décrites par les lois de l'électrostatique en solution. Ces interactions sont dues aux charges portées par les polymères et aux ions libres en solution. Selon le taux de charges portées par le polymère, ces interactions seront plus ou moins significatives. Ainsi, lorsque ce taux est faible ($f = 0,01$ par exemple pour le polyacrylate de sodium à pH 3), la présence des monomères ionisables, éventuellement dissociés, constitue une faible perturbation par rapport au cas du polymère neutre. On est alors dans le cas de polyélectrolyte faible. Par contre, pour un taux de charge suffisamment élevé, les forces d'origine électrostatique sont prépondérantes. On parle de polyélectrolyte fortement chargé. L'une des conséquences importantes de ces interactions est leur effet sur la structure des polymères.

1.4.1. Cas limite des polymères neutres flexibles

La conformation adoptée par les chaînes de polymères neutres dépend essentiellement de la nature du solvant et de ses interactions avec les fonctions chimiques (polaires, apolaires...) du polymère. La concentration en polymère est donc un paramètre essentiel (Figure 1.1).

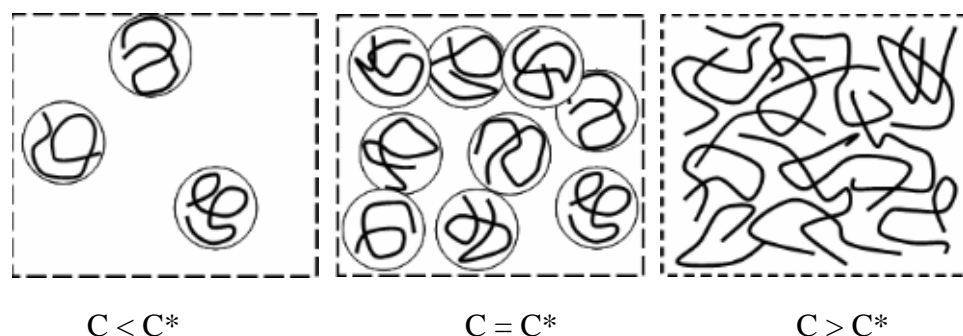


Figure 1.1 : Etats caractéristiques d'une solution de polymère de concentration C . $C < C^*$: régime dilué ; $C = C^*$: concentration critique de recouvrement ; $C > C^*$: régime semi-dilué ; $C \gg C^*$: régime concentré.

Aux faibles concentrations ($C < C^*$), les chaînes ne s'interagissent pas entre elles. Elles sont indépendantes et adoptent une configuration en pelote statistique. La solution est dite diluée. Lorsque la concentration augmente, les chaînes entrent en contact les unes avec les autres, la solution est alors en régime sémi-dilué [37]. La transition entre les deux régimes s'effectue à la concentration critique de recouvrement C^* . Elle est atteinte lorsque la concentration de la solution est égale à la concentration à l'intérieur d'une chaîne. Enfin, aux très fortes concentrations ($C \gg C^*$), les chaînes sont fortement interpénétrées, la solution est concentrée.

1.4.2. Cas des polyélectrolytes flexibles

Les propriétés structurales des polyélectrolytes sont complexes comparées à celles des polymères neutres. Les polyélectrolytes adoptent en solution un comportement qui peut être modulé à l'aide de paramètres choisis tels que la force ionique de la solution, le taux de charge, la concentration en polyélectrolyte. La configuration d'une chaîne polyélectrolyte résulte d'un équilibre entre les forces électrostatiques dues à l'énergie libre d'origine électrique et les forces élastiques provenant de l'énergie libre conformationnelle. Alors que les forces électrostatiques entre les charges du polyion sont favorables à l'élongation de la chaîne, les forces élastiques sont opposées aux interactions électrostatiques répulsives. Elles maximisent l'entropie de configuration des chaînes.

La présence des contre-ions dans le milieu influence notablement la configuration d'une chaîne de polyélectrolyte. En effet, pour une faible concentration ionique, la longueur de Debye-Hückel (κ^{-1}), la distance caractéristique d'extension de la double couche électrique, est plus grande que la distance entre deux chaînes. Les interactions électrostatiques répulsives entre charges du polyélectrolyte sont peu écrantées par les contre-ions. Le polyélectrolyte est alors étiré avec une taille résultante qui est proportionnelle au nombre de monomères. Lorsque la concentration des contre-ions augmente dans le milieu, les répulsions entre monomères sont progressivement écrantées, et le polyélectrolyte perd sa configuration étendue en passant à un état de plus grande flexibilité. Aux fortes concentrations ioniques, les interactions répulsives sont

complètement écrantées et le polyélectrolyte adopte une configuration de pelote, à l'image d'un polymère neutre.

Les interactions mises en jeu dans ces systèmes peuvent être paramétrées à l'aide de longueurs caractéristiques. Comme pour les polymères non ioniques constitués de M monomères, on définit :

- la taille L du monomer;
- la longueur de contour $L_c = ML$;
- la longueur moyenne bout à bout R qui caractérise l'étendue spatiale de la chaîne ;
- le rayon de giration R_g , qui est une mesure de la distribution de masse du polymère autour de son centre de gravité.

Aux longueurs qui décrivent classiquement les polymères neutres, s'ajoutent de nouvelles grandeurs caractéristiques dans le cas des polyélectrolytes. En effet, la présence de charges génère, en plus des paramètres électrostatiques tels que le taux de charge f , la partition des contre-ions entre la solution et le sein du polyélectrolyte. Il est, à cet effet, défini (Figure 1.2):

- la distance moyenne d entre deux sites ioniques consécutifs présents le long de la chaîne avec $d = ML / f$,
- la longueur de Bjerrum l_B qui correspond à la distance au-delà de laquelle l'interaction électrostatique entre deux charges élémentaires est inférieure à l'énergie thermique $k_B T$, avec k_B la constante de Boltzmann et T la température absolue.

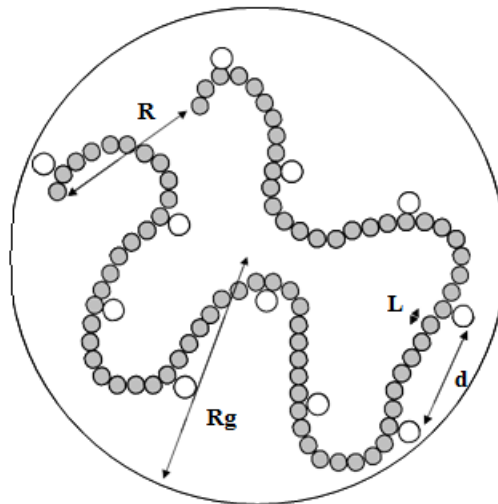


Figure 1.2 : Longueurs caractéristiques d'une chaîne de polyélectrolyte.
 R: longueur moyenne bout à bout. R_g : Rayon de gyration; L: taille d'un monomère; d: distance moyenne entre deux sites ioniques consécutifs.

1.4.3. Modèle de particule perméable

Selon la définition donnée par Ohshima (1995b) [38], les particules colloïdales sphériques perméables sont des objets constitués d'un noyau dur de rayon a imperméable, au sens strict du terme, à l'écoulement du fluide, et recouvert d'une couche polyélectrolyte d'épaisseur d perméable, caractérisée par une distribution spatiale tridimensionnelle de groupements ionogéniques, hydrodynamiquement stagnants (Figure 1.3) par opposition aux particules dures où la charge est localisée en surface.

Cette définition de la particule perméable présentant un cœur dur induit un certain nombre de comportements et de différences majeures à l'égard de ses propriétés électrocinétiques si comparées à celles de particules classiques dites dures (imperméables). En effet, il existe une certaine perméabilité hydrodynamique caractérisée en terme de $1/\lambda$ où λ est le paramètre de mollesse hydrodynamique. Plus précisément, $1/\lambda$ dénote la distance caractéristique de pénétration de flux hydrodynamique dans la particule molle, perméable.

Deux cas limites à la configuration des particules perméables peuvent se présenter, comme le décrit plus en détail la figure 1.3.

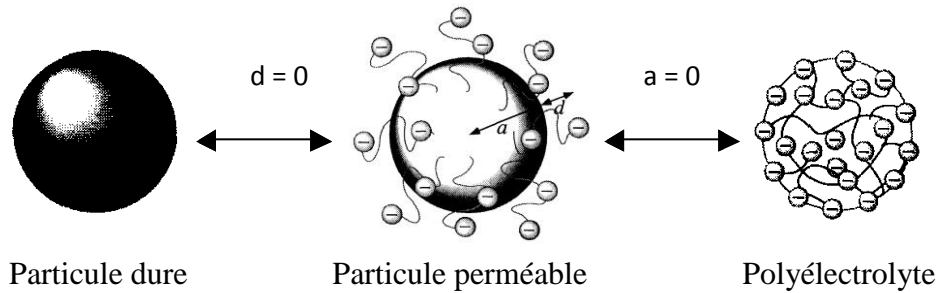


Figure 1.3 : Modèles de structure sphérique suivant la répartition des charges [38].

Quand la couche polyélectrolyte est absente ($d = 0$), la particule se comporte comme une sphère dure dont les propriétés obéissent aux théories classiques des systèmes sphériques chargés non déformables. En revanche, en absence de noyau dur ($a = 0$), le colloïde devient un polyélectrolyte dont la structure est entièrement poreuse et hydrodynamiquement perméable.

Les propriétés physico-chimiques des particules chargées et molles diffèrent substantiellement de leurs homologues chargées et non déformables [39]. Les différences majeures entre ces deux types de système résident dans les variations de propriétés électrostatiques et hydrodynamiques [40]. Chez les particules molles, la distribution des segments de chaînes chargées dans la couche perméable aux ions/solvant peut s'étendre sur des distances comparables, sinon plus importantes que la longueur de Debye. Ceci modifie considérablement les distributions de potentiel électrique comparées à celles obtenues avec des modèles de sphère non déformables. Ensuite, le flux électro-osmotique ou la pénétration du flux hydrodynamique dans la couche perméable, peut entraîner des écarts d'amplitude entre la réponse électrocinétique observée et celle attendue sur la base des approches classiques pour les sphères dures.

1.5. La gomme xanthane

La gomme xanthane est un polysaccharide naturel et un biopolymère industriel très important. Il a été découvert dans les années 50 par les laboratoires de recherches régionales du département d'agriculture du nord des états unis

(NRRL) [41]. Depuis sa découverte, ce polysaccharide a été intensivement étudié pour ses propriétés et il a été utilisé comme suppléant des autres gommés synthétiques ou naturelles et d'autres biopolymères [42].

1.5.1. Structure moléculaire

Le xanthane est un hétéropolysaccharide produit à l'échelle industrielle par la fermentation aérobie de la bactérie *Xanthomonas campestris*. Sa structure est constituée d'une chaîne principale de β -D-glucoses liés en $\beta(1 \rightarrow 4)$, semblable à la cellulose. Une molécule de glucose sur deux porte une chaîne latérale trisaccharidique composée d'un α -D-mannose, d'un acide β -D-glucuronique et d'un β -D-mannose terminal (Figure 1.4). Le résidu interne de mannose est généralement acétylé sur le carbone 6. Environ 30% des résidus mannose terminal portent un groupement pyruvate lié sous forme chélatée entre les carbones 4 et 6 [43, 44]. Les acides glucuroniques et les acides pyruviques chargés sont ionisables, et donc responsables de la nature anionique du xanthane (charge négative jusqu'à pH 1) [17]. Le contenu des résidus pyruvate et acétate varie selon la souche de bactérie, le procédé de fermentation, les conditions après fermentation et les étapes de purification [42]. Ces groupements peuvent être neutralisés dans les produits commerciaux avec des ions Na^+ , K^+ ou Ca^{2+} . La forme neutralisée peut être convertie en forme acide par échange d'ions ou par dialyse d'une solution acide [45].

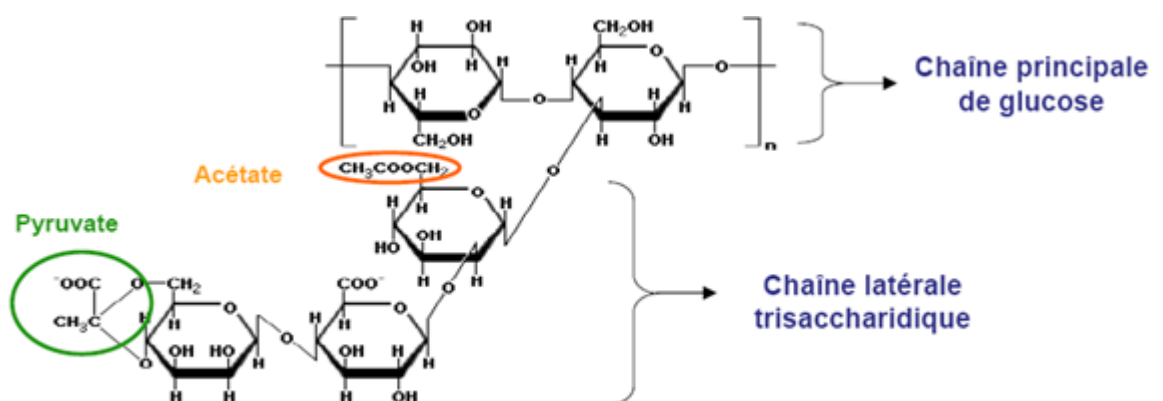


Figure 1.4 : Structure de la gomme xanthane

1.5.2. Propriétés de la gomme xanthane :

La gomme xanthane est fortement soluble dans l'eau froide ou chaude, son comportement est relié à la nature du polyélectrolyte de la molécule de xanthane. Les solutions de xanthane sont très visqueuses même à faible concentration. Ces propriétés sont utiles dans beaucoup d'applications industrielles, surtout dans l'industrie alimentaire où le xanthane est utilisé comme agent épaississant et stabilisant des suspensions et des émulsions.

Le pouvoir épaississant des solutions de xanthane est lié à la viscosité ; une forte viscosité résiste à l'écoulement. Les solutions de xanthane sont pseudoplastique ou rhéoépaississantes, la viscosité diminue avec l'augmentation du cisaillement. La viscosité dépend aussi de la température de dissolution et de la mesure, de la concentration du biopolymère, de la quantité de sel et du pH [46].

1.5.2.1. Transition conformationnelle hélice rigide – brin flexible

Il est connu de nos jours que la conformation du xanthane peut être celle d'une hélice simple ou d'une hélice double selon la force ionique, la température, le type de solvant et la structure primaire (contenu en pyruvate et en acétate). Un autre facteur particulièrement important est l'historique thermique de l'échantillon, c'est-à-dire, les traitements subis pendant et après la fermentation (extraction par solvant, pasteurisation, séchage, dialyse, centrifugation, filtration) [47, 48].

La conformation hélicoïdale ordonnée peut subir une transition (ordre-désordre) qui résulte en une chaîne flexible et désordonnée (Figure 1.5) [17, 47]. Cette transition peut être induite à de faibles forces ioniques ($< 10^{-3}$ M NaCl) ou lors d'un chauffage au-delà d'une certaine température nommée température de transition (melting point T_m). Sous ces conditions de désordre, les répulsions électrostatiques entre les groupements carboxyliques ionisés entraînent un relâchement des chaînes latérales et en résultent une conformation désordonnée. Cette transition est accompagnée d'une importante diminution du poids moléculaire et de la viscosité des solutions [48].

La T_m se situe autour de 55°C pour une solution sans sels et avec une concentration de 1%p/p de xanthane [22]. La T_m dépend du poids moléculaire [49], du contenu en pyruvate et en acétate [50, 51], de la force ionique et du type d'ions [6, 47]. En fait, la T_m augmente toujours linéairement avec le logarithme de la force ionique totale [52]. Ainsi, la présence de faibles quantités d'électrolytes

accentue la stabilité thermique de la molécule en réduisant la répulsion électrostatique entre les anions carboxyliques des chaînes latérales qui s'effondrent sur la chaîne principale. La température de transition passe alors de 63°C à 0.05% NaCl à plus de 100°C à 5% NaCl [53].

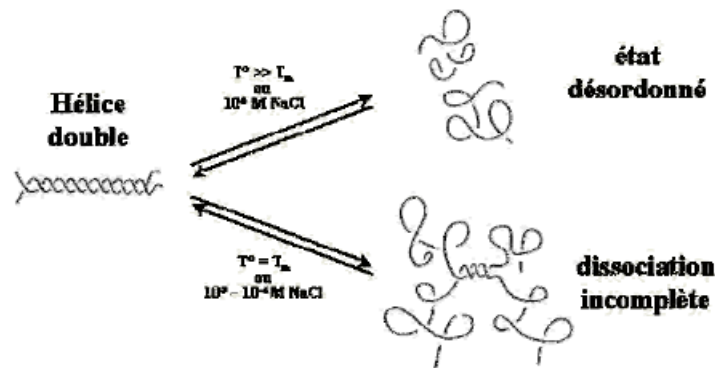


Figure 1.5 : Transition du xanthane de l'état ordonné à l'état désordonné.

L'explication de la transition de conformation du xanthane est liée à sa structure moléculaire, selon qu'il s'agisse d'une structure native ou «renaturée». Si la molécule se trouve sous la forme d'une hélice en brin simple (état natif), la transition ordre - désordre est un processus intramoléculaire (hélice rigide → chaîne flexible) [6, 47, 53]. Cette théorie est basée sur des études montrant que les changements de conformation sont dus à des arrangements intramoléculaires plutôt qu'intermoléculaires. Les chaînes latérales deviennent alors mobiles (les liens H sont brisés), avant la chaîne principale, résultant en une diminution du volume hydrodynamique et de la viscosité mais sans diminution du PM [54].

Si le xanthane se trouve en forme de double hélice, alors la transition implique une dissociation ordre – désordre en brins simples. Dans ce cas, il y a une diminution du P_M , du volume hydrodynamique et de la viscosité [50]. En ramenant cette solution sous des conditions favorisant une structure ordonnée, les hélices simples se re-associent à nouveau pour former des hélices doubles «renaturées». Plusieurs mécanismes ont été suggérés pour la dissociation de la double hélice. Le plus répandu est celui proposé par Liu & Norisuye (1988) [49] et Milas & Rinaudo (1984) [55] qui concerne une dissociation incomplète de l'hélice double à de hautes températures et/ou à de faibles forces ioniques. La double hélice se déferait à partir des extrémités, à cause des répulsions entre les

groupements chargés de la molécule, pour donner une conformation de «brin double étendu» présentant quelques segments d'hélice double. La Figure 1.6 illustre ce phénomène. Un arrangement via l'association d'hélices doubles expliquerait le comportement de gel faible [47].

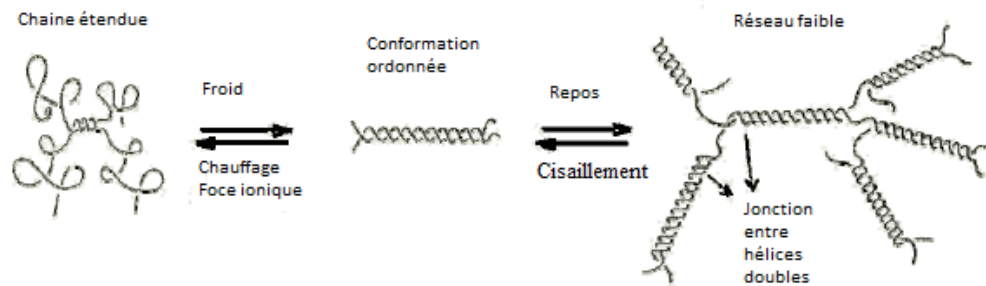


Figure 1.6 : Dissociation incomplète du xanthane et association d'hélices doubles.

Plusieurs études ont trouvé, qu'entre les deux conformations extrêmes, des conformations intermédiaires peuvent exister [56] et que des séquences ordonnées ou désordonnées peuvent co-exister dans la même molécule [57]. Dans ce sens, les études par microscopie électronique sont particulièrement indéniables [17, 58].

D'autre part, Milas & Rinaudo (1986) [6] ont trouvé que le xanthane renaturé a une conformation de la chaîne principale plus étendue, présentant le même P_M que le xanthane en double hélice qui n'a jamais été chauffé, mais avec une viscosité plus élevée. Milas & Rinaudo (1986) soutiennent que ceci n'est pas nécessairement lié à la formation d'hélices doubles possédant des régions discontinues ou des extrêmes non appareillés, leur permettant de s'associer entre elles, pour donner des valeurs plus élevées de P_M et de viscosité, comme proposé par d'autres auteurs [53]. Ce comportement serait plutôt dû à des modifications dans le patron d'interaction entre la chaîne principale et les chaînes latérales, résultant en un volume hydrodynamique plus grand.

Il est de nos jours accepté que le xanthane possède une conformation native en hélice simple, avec un poids moléculaire de l'ordre de 2×10^6 Da, mais après les traitements subis pendant sa purification, incluant une pasteurisation et séchage, il se présente sous forme d'une hélice double. Donc, en général, les échantillons commerciaux sont considérés sous forme d'hélices doubles. En effet,

plusieurs études ont trouvé que des traitements tels l'atomisation et la lyophilisation, pratiqués en industrie, induisent la formation d'agrégats intermoléculaires [59, 60], d'où la grande variabilité des P_M rapportés en littérature pour le xanthane, qui varient entre 2×10^6 et 5×10^7 Da, soit entre 2 000 – 50 000 unités répétées. Cette variation est le résultat du phénomène d'association entre les molécules [17, 61].

Les valeurs rapportées en littérature sur la longueur de persistance L_p (une mesure de la rigidité de la molécule) obtenues à basses températures et hautes forces ioniques, par viscosimétrie à partir des solutions diluées, ou par diffusion de la lumière du xanthane, sont de l'ordre de $L_p = 110 - 150$ nm [48, 60]. Ceci indique que le xanthane est autour de 10 fois plus rigide que la cellulose et comparable à la double hélice de l'ADN ($L_p = 150$ nm à des forces ioniques élevées), au polysaccharide schizophyllan ($L_p = 150 - 200$ nm) et au polypeptide collagène ($L_p = 170$ nm). Ces deux dernières macromolécules étant des triple-hélices, cela indique que le xanthane est un des biopolymères les plus rigides dans la nature. Toutefois, à de faibles forces ioniques, sa longueur de persistance est plus faible, soit $L_p = 50 - 60$ nm, ce qui est relié à une conformation désordonnée [6, 60].

1.5.3. Le xanthane en solution

Par la nature anionique des chaînes latérales et les contraintes stériques qu'elles imposent, l'eau peut pénétrer plus facilement dans les espaces intramoléculaires, facilitant ainsi la solubilisation du xanthane [62]. D'autre part, toujours par contrainte stérique, les chaînes latérales limitent la formation de liens intermoléculaires évitant ainsi la gélification [54]. Au-dessus d'une certaine concentration, les molécules rigides s'enchevêtrent pour former un réseau stabilisé par des liaisons spécifiques entre les chaînes de xanthane, notamment des liens hydrogène, mais d'autres types d'interactions non-covalentes ont aussi lieu, telles des interactions ioniques [53]. Les propriétés rhéologiques d'un tel système ressemblent plus à celle d'un gel très faible qu'à une solution gouvernée par les enchevêtrements [57]. Cette structuration est responsable du seuil d'écoulement et de la viscosité exceptionnellement haute des solutions de xanthane à de faibles forces de cisaillement. Sous une agitation plus forte, le réseau est déstructuré. Les molécules s'alignent dans le sens du cisaillement et confèrent un important caractère pseudoplastique à la solution. Lorsque l'agitation

cesse, le réseau se forme à nouveau très rapidement [63]. Ce faible réseau sera à la base de la capacité du xanthane de maintenir des particules en suspension ou de stabiliser une émulsion contre la remontée ou la fusion des gouttelettes de matière grasse pour de longues périodes de temps [47, 54]. Il a été aussi suggéré que les propriétés originales du xanthane soient dues à la formation d'une phase nématique en solution (orientation moléculaire) [64]. Ce type de comportement est typique des polymères rigides ou semi-rigides en solution, qui forment spontanément des phases ordonnées au-dessus d'une certaine concentration critique, pour réduire au minimum le volume exclu du polymère [65]. Finalement, il a été trouvé que les échantillons avec un haut contenu en pyruvate possèdent une viscosité et un caractère pseudoplastique plus élevés car le pyruvate induit des associations intermoléculaires [66].

1.6. Protéines

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 [67]. La figure 1.7 montre la structure de base d'un acide α aminé.

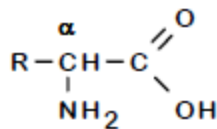


Figure 1.7 : Structure d'un acide α aminé

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 [68], comme le montre la figure 1.8.

- L'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 hydrogène

Des liens hydrogènes peuvent avoir lieu lorsqu'un atome d'hydrogène situé sur un atome électronégatif tel un azote ou un oxygène, interagit avec un autre hydrogène situé sur un groupe carboxyle ou carbonyle. Ces liens hydrogènes permettent parfois la formation d'un complexe au dessus du point isoélectrique de la protéine.

- Les ponts disulfures

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 [68].

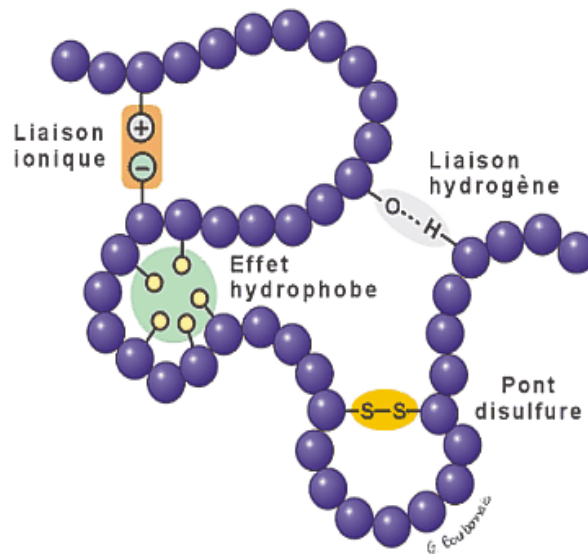


Figure 1.8 : Types d'interactions intervenant dans le repliement de la chaîne
[68]

Certaines parties des chaînes d'acides aminés adoptent une structure régulière appelée structure secondaire. On reconnaît deux grands types de structure secondaire (figure 1.9):

- 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 [68].

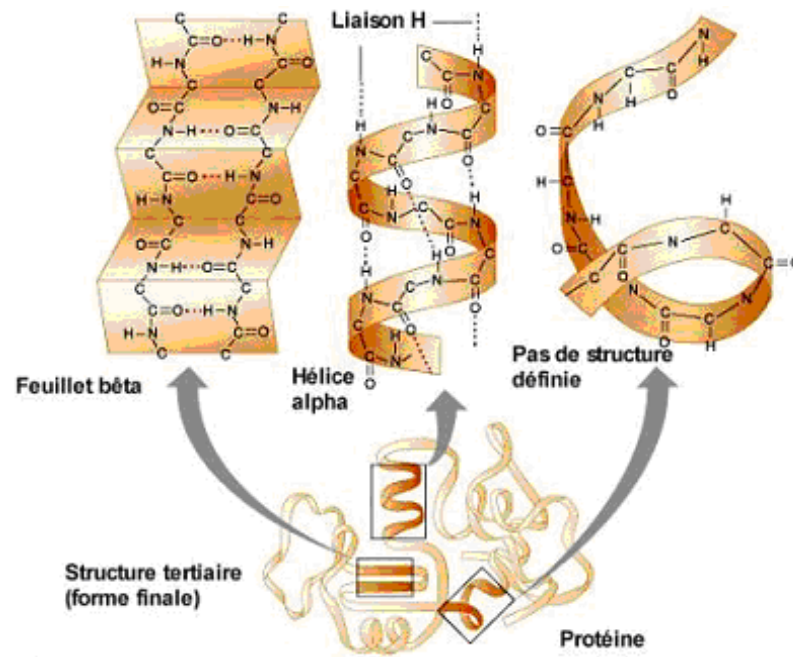


Figure 1.9 : Structure tertiaire de la protéine

1.6.1. Propriétés physico-chimique des protéines en solution

1.6.1.1. Solubilité

La solubilité des protéines varie beaucoup en fonction des espèces moléculaire considérées. D'autre part, la concentration en électrolytes et l'effet du pH sont des paramètres fondamentaux qui influent sur la solubilité d'une protéine en solution.

Les protéines ne sont solubles que dans des conditions de force ionique bien définie. Les sels interviennent par leur charge et leur concentration. La force ionique est un paramètre qui gouverne l'un de ces processus, dont l'expression est donnée par l'équation (1.1), où la concentration de l'électrolyte ainsi que sa charge rentre en considération.

$$FI = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2 \quad (1.1)$$

Où FI est la force ionique, C_i , la concentration de l'ion i exprimée en molarité et, Z_i représente la valence de l'ion i .

Pour une concentration en sel élevée la protéine précipite, « effet de relargage », qui est réversible par dilution [67]. Par ailleurs, la solubilité des protéines est minimale au pHi (pH isoélectrique).

1.6.1.2. Caractère amphotère des protéines

Constituées par des ampholytes (acides aminés), les protéines possèdent un caractère amphotère. En effet, les groupes alpha – aminés et alpha – carboxyliques sont impliqués dans la liaison peptidique. Il existe encore des groupes polaires, des groupes terminaux et des chaînes latérales. En conséquence de ce caractère amphotère, la charge nette des protéines varie avec le pH. Ainsi, en milieu très acide, les groupements dissociés sont les groupes basiques, et la charge restante de la protéine est positive. Au contraire en milieu basique, ce sont les groupements acides qui se dissocient, et la charge résultante est négative. Il existe un pH pour lequel la charge nette de la protéine est nulle, c'est le pH isoélectrique (pHi), le tableau 1.1 donne quelques valeurs du pHi de quelques protéines [67].

Tableau 1.1 : Quelques valeurs du pHi des protéines [67].

Protéine	pHi
Pepsine	1
Fétuine	3.5
Sérumalbumine	4.7
Ovalbumine (FI = 0.1)	4.6
Ovalbumine (FI= 0.01)	4.7
Collagène	6.6
Protamine	12
Caséine	4.7 – 5.2

1.7. Caséines

Les protéines du lait sont largement évaluées par leurs propriétés émulsifiantes. Le comportement et la stabilité des émulsions huile dans eau ou eau dans huile à base de protéines du lait est lié à la structure et aux propriétés

mécaniques des couches adsorbées à la surface des gouttelettes [69]. Indépendamment de leurs propriétés émulsifiantes, les protéines du lait sont des molécules polymériques et se comportent en tant que tels dans les systèmes alimentaires, particulièrement une fois mélangées avec des polysaccharides [70].

Les caséines sont des phospho-glycoprotéines, constituant environ 75 à 80% des protéines du lait de vache, présentes à l'état micellaire de diamètre de 0.1µm. Associée à des phosphates et des citrates de calcium, la caséine native se compose de 94% de protéines; 3% de calcium, 2.2% de phosphore, 0.5% d'acide citrique et de 0.1% de magnésium. L'architecture micellaire de la caséine et son maintien en suspension dans la phase aqueuse du lait sont dus principalement à la fraction kappa hydrophile qui enveloppe les autres substances protéiques [71].

1.7.1. Composition et structure des caséines

Les caséines sont des complexes protéiniques instables largement répandus comme émulsifiants grâce à leur excellente propriété stabilisante. Ce sont des protéines désordonnées qui, dans certains cas peuvent être traitées en tant que polymère d'enroulement aléatoire. Toutes les caséines sont de grosses molécules contenant du phosphore et un nombre élevé d'acide aminé. De plus, elles contiennent une forte teneur en acide glutamique, en proline, en leucine et une faible teneur en cystine [72]. La caséine se fractionne en trois parties différentes appelées alpha, bêta et kappa. Dans le tableau 1.2, on regroupe les principaux caractères des trois fractions caséiniques [73].

Tableau 1.2. Caractère des fractions de la caséine.

	Caséine alpha	Caséine bêta	Caséine kappa
Poids moléculaire	24000	24000	19000-23000
pHi	4.1	4.5	3.7
Solubilité en présence de Ca ²⁺ à 4°C	-	+	+
Solubilité en présence de Ca ²⁺ à 25°C	-	-	+

1.7.1.1. α caséine

Elle est hétérogène et comporte aussi au moins deux autres fractions, se distinguant par leur sensibilité aux sels et au calcium qui sont :

- une fraction sensible au calcium constituant de la α_{s1} caséine,
- une fraction insensible au calcium constituant de la κ - caséine,

La caséine α_{s1} est une macromolécule fortement chargée avec un caractère amphiphile dont les agrégats forment de longues chaînes par une série d'associations consécutives [74].

1.7.1.2. β caséine

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 bêta caséine 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 [74].

1.7.1.3. κ caséine

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 0.3 M et à 25°C), on remarque qu'il y a une rupture du complexe de caséine. Les caséines α_s et β précipitent, tandis que la fraction κ 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 κ contient une fraction glycidique formée d'une ou plusieurs séquences d'acides sialiques fixées sur une seule chaîne peptidique. De poids moléculaire égal à 19000, elle est formée par 169 résidus d'acide aminés [75].

1.8. 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 [75].

1.8.1. 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 [76] :

- 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 travail.

Le caséinate de sodium est un mélange de plusieurs fractions, non seulement contenant les monomères principaux de la caséine (α et β), mais également d'autres fractions importantes tels que κ -caséine et α_{s2} -caséine, aussi bien que de petites quantités de sels minéraux (particulièrement les ions Ca^{2+}). Les fractions de caséinates enrichies en β -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 α -s et κ caséines [67].

Les solutions de caséinate de sodium contiennent des micelles secondaires ou submicelles avec un rayon hydrodynamique de $8.89 \pm 1 \text{ nm}$ et un assemblage supra moléculaire de $74 \pm 4 \text{ nm}$ et cela a été mis en évidence par la diffusion de la lumière dynamique (Dynamic Light Scattering) [77]. En utilisant la diffusion de la lumière statique, Lucey et al. [78] ont montré que le rayon giration des caséinates de sodium varie entre 20 et 70 nm. Cependant, une étude récente menée par Dickinson et al. [79] a montré que le rayon hydrodynamique était près de 100 nm. Plus récemment, Hadj Sadok et al. [80] ont étudié l'effet de la force ionique sur les

caséinates de sodium; ils ont trouvé, par utilisation de la diffusion de la lumière en dynamique, une espèce de micellisation des caséinates dont la taille varie de 3 nm à 11nm lorsque la concentration du sel augmente de 3 mM à 100 mM. La taille ainsi que la forme exacte des molécules de caséinate de sodium demeurent jusqu'à nos jours, en grande partie, inconnues et difficile à identifier avec précision [81].

1.8.2. Application des caséines et des caséinates

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 [78].

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 [78].

1.9. Mélange de protéines et de polysaccharides en milieu aqueux

Lorsque les protéines et les polysaccharides sont mélangés en solution, ils interagissent de différentes façons selon les conditions du milieu. Il en résulte une diversification de leurs propriétés mécaniques et texturales, de gélification, de solubilité, de co-solubilité, ainsi que de leur comportement aux interfaces. En fait, les propriétés fonctionnelles des mélanges de biopolymères sont souvent très

différentes des propriétés des solutions des polymères purs [82, 83]. Du point de vue thermodynamique, les protéines et les polysaccharides peuvent être compatibles ou incompatibles en solution [82, 83]. Sous des conditions d'incompatibilité thermodynamique, le système subit une séparation de phases dite ségrégative. Un système biphasé est alors obtenu dans lequel les différentes molécules se retrouvent principalement dans des phases séparées. Sous des conditions de compatibilité thermodynamique, deux types de solutions peuvent être obtenus :

- 1) un système homogène et stable dans lequel les molécules sont co-solubles;
- 2) un système biphasé où les deux molécules interagissent de façon attractive et se retrouvent essentiellement dans la même phase concentrée, d'où le nom de séparation de phases associative. Dans ce dernier système, une complexation ou une coacervation complexe a lieu en raison d'une attraction électrostatique entre les biopolymères.

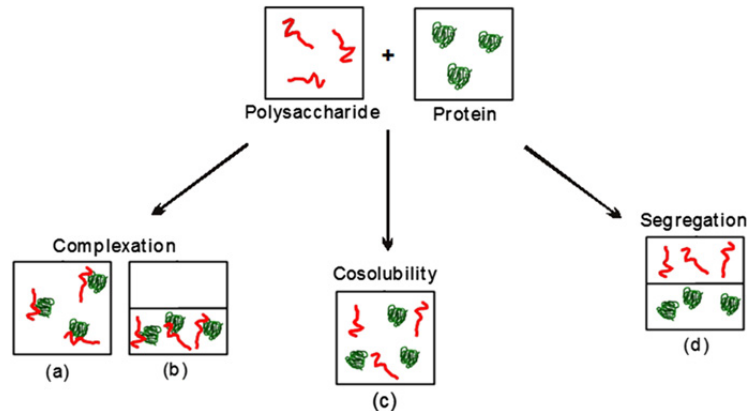


Figure 1.10 : Comportement du mélange protéine/polysaccharide.

1.9.1. Incompatibilité Thermodynamique

1.9.1.2. Séparation de phases ségrégative

Lors d'une incompatibilité thermodynamique, il y a formation d'un système biphasique liquide – liquide, où la protéine et le polysaccharide se trouvent préférentiellement séparés dans une des deux phases, d'où le nom de séparation ségrégative [84]. L'interaction ségrégative a lieu au-delà d'un seuil de

concentration en polymères et lorsque les conditions environnementales favorisent les interactions intermoléculaires entre molécules du même type, i.e. les molécules portant des charges du même signe et donc se repoussent. En général, l'incompatibilité survient à des forces ioniques élevées ($> 0.3 \text{ M}$), à des pH supérieurs au pI de la protéine, à des concentrations en solides totaux $> 4\%$, et pour des concentrations protéiques relativement élevées variant de 2 à 20% [85].

1.9.1.2. Applications alimentaires

L'incompatibilité thermodynamique est utile pour l'exclusion de protéines, pour induire une gélification des protéines à une concentration inférieure à la concentration nécessaire pour la gélification d'une solution de protéines pure ou pour améliorer les propriétés interfaciales des protéines [86]. Ainsi, même s'il n'y a pas de séparation de phases macroscopique, la concentration apparente de la protéine augmente. Elle peut alors gélifier plus facilement ou s'adsorber à une interface non polaire (huile/eau), en présence d'un peu de polysaccharides [87].

Ce type de système présente beaucoup d'intérêt du fait que si l'une ou l'autre des macromolécules peut former un gel, il est possible d'obtenir des gels mixtes, dont la phase dispersée est elle-même soit liquide soit gélifiée, donnant la possibilité de créer des produits multi-texturés [88]. La formation de ce type de gels peut être expliquée par l'incompatibilité thermodynamique et l'effet du volume exclu entre les molécules en solution. De ce fait, la solution d'une des macromolécules constitue, pour la seconde molécule, un solvant pire que le solvant pur. Ceci a pour conséquence de favoriser les interactions intramoléculaires et les interactions avec les molécules d'une même espèce au détriment des interactions avec le solvant. Tout le processus de gélification est donc favorisé et accéléré. Les polymères se comportent comme s'ils étaient dans une solution plus concentrée. En effet, les concentrations critiques de gélification dans les gels mixtes sont plus faibles que dans les gels simples [89]. En revanche, la présence de gouttelettes de phase dispersée a tendance à diminuer la régularité du réseau gélifié, ce qui produit, dans certains cas, une diminution du module d'élasticité du gel suite à l'augmentation du volume de la phase dispersée [84].

1.9.2. Compatibilité Thermodynamique

Dans le cas d'une compatibilité thermodynamique, deux types de solutions peuvent être distingués [82, 83, 86]:

- 1) une solution monophasique homogène et stable (co-solubilité);
- 2) un système biphasique où les deux macromolécules se retrouvent essentiellement dans une des deux phases

1.9.2.1. Co-solubilité

À des concentrations très faibles, un mélange protéine - polysaccharide est stable du fait que l'entropie de mélange domine et les deux molécules restent co-solubles dans un système monophasique et homogène. Cependant, il est peu fréquent que l'on obtienne une co-solubilité des biopolymères car la nature différente et la variété de leurs groupements fonctionnels laissent présager la présence d'attractions et/ou de répulsions.

1.9.2.2 Séparation de phases associative

Dans le cas d'une séparation de phases associative, un système biphasique liquide – solide se forme dans lequel les deux molécules se trouvent essentiellement dans la même phase. Sous certaines conditions, les molécules peuvent co-précipiter pour former une phase riche en protéine et polysaccharide et une phase riche en solvant et presque complètement dépourvue de biopolymères [85]. Lors d'une séparation de phases associative, il y a une complexation électrostatique ou coacervation complexe qui est due à l'association par des forces attractives électrostatiques entre les groupements carboxyliques du polysaccharide et les résidus chargés positivement de la protéine (ϵ -amino, imidazole, guanidine) [83, 90]. Ces complexes sont davantage stabilisés par des liaisons hydrogène, des forces de van der Waals et des interactions hydrophobes [83, 91].

En général, la complexation électrostatique entre les protéines et les polysaccharides anioniques se produit dans une gamme de pH entre le pH isoélectrique de la protéine (pI) et le pKa du polysaccharide anionique, et à de faibles forces ioniques (généralement < 0.2- 0.3 M). Sous ces conditions, une compatibilité complète existe en vertu des charges nettes opposées que portent

les molécules de différentes espèces [83]. Les complexes possèdent une solubilité très différente selon le type de molécules, le pH et la force ionique de fabrication.

1.9.2.3. Formation de complexes électrostatiques

De façon générale, lors de l'interaction associative deux types de structures peuvent être formées : un coacervat ou un précipité. Les coacervats constituent une deuxième phase liquide riche en polymères. Typiquement, les coacervats se forment quand les polyélectrolytes en mélange sont asymétriques et/ou leur charge est faible [92]. En plus, la coacervation requiert une interaction électrostatique non spécifique qui laisse aux molécules une certaine mobilité [93]. Les complexes précipités correspondent à la formation d'une phase dite «solide». Typiquement, les complexes se forment quand des polyélectrolytes, possédant des charges opposées et distribuées symétriquement sur leur surface, sont mélangés à de faibles forces ioniques [92]. Les polymères ayant de très hauts poids moléculaires et/ou densités de charge élevées auront aussi tendance à former des complexes précipités [94]. Même si les coacervats et les précipités possèdent des propriétés différentes, ils sont formés par le même processus, et sont influencés de la même façon par différents paramètres. À noter qu'une gamme de structures intermédiaires peut être formée en fonction de la conformation des molécules, de la force d'interaction et des conditions environnementales (e.g. des complexes solubles vs des complexes insolubles).

Durant la complexation, les structures tertiaire et quaternaire de la protéine peuvent changer. La protéine subit un dépliement partiel qui lui permet de mieux interagir avec le polysaccharide résultant en la formation de complexes compacts. Ce dépliement modifie les propriétés fonctionnelles de la protéine. Ainsi, par exemple, la température de dénaturation d'une protéine peut diminuer [95]. Certains auteurs estiment que lorsqu'un complexe électrostatique est formé, il peut être considéré comme un nouveau polymère dont les propriétés fonctionnelles sont totalement différentes [83, 95].

Il a été suggéré que la structure compacte des complexes soit causée par des effets de volume exclu et des facteurs de perte d'entropie, étant donné que la liaison protéine – polyion induit une perte d'entropie conformationnelle dans les chaînes du polyion. Cette perte est compensée, jusqu'à un certain point, par le relargage de l'eau attrapée et des contre-ions liés tant sur la protéine que sur le

polysaccharide [96]. Ce même fait pousse le polyion à garder sa conformation originale, forçant les protéines à occuper les espaces entre les segments. Le résultat étant la formation d'une structure compacte [97]. Il a aussi été suggéré que la plus haute compacité des complexes comparativement aux molécules de départ est dû au fait que la nature des zones de jonction est moins hydrophile [98].

Plusieurs études ont trouvé que la solubilité des complexes électrostatiques dépend de la méthode utilisée pour leur fabrication [83, 86]. Les complexes de protéines et de polysaccharides sont généralement produits par un ajustement du pH, soit par l'ajout d'un acide alimentaire ou par dialyse contre un tampon [99]. Cependant, des complexes solubles ou insolubles peuvent être obtenus dépendamment si l'ajustement de pH se fait avant ou après que les solutions des polymères auront été mélangées [88]. Si le mélange initial se fait à un pH où les deux molécules ont des charges opposées similaires, et qu'une acidification lente s'ensuit, les complexes obtenus seront probablement solubles. Sous ces conditions, les molécules de protéine se lieront de façon coopérative, c'est-à-dire qu'une protéine additionnelle se liera à côté (ou le plus près possible) d'une protéine qui est déjà liée sur le polysaccharide, car cette liaison est plus favorable d'un point de vue énergétique. La complexation n'est pas alors uniforme. Ceci est surtout applicable lorsque les protéines utilisées sont dans leur état natif [100]. Cependant, si la taille de la protéine est grande ou si elle est très flexible, les complexes formés seront, dans tous les cas, insolubles. Or, si le mélange des molécules se fait à un pH auquel les deux molécules ont une charge opposée, les protéines se lient de façon non coopérative, c'est-à-dire de façon plus ou moins uniforme tout le long du polysaccharide. La charge nette du complexe diminue alors, jusqu'à ce que celui-ci devienne insoluble et précipite. Cependant, si la quantité de protéines est très faible, les complexes auront encore une charge négative et resteront solubles. Une telle situation peut avoir lieu quand les ratios protéine - polysaccharide sont faibles (e.g. 1:5) [88, 100].

1.10 Caractérisation électrocinétique

Quand une particule colloïdale chargée est suspendue dans une solution électrolyte, elle est entourée d'un nuage d'ions diffus de charge totale équivalente mais de signe opposé compensant sa charge. Sous l'effet d'un champ électrique macroscopique externe, cette particule est attirée vers

l'électrode de signe opposé et les contre-ions migrent vers l'autre direction. C'est le phénomène de l'électrophorèse [101].

La vitesse de migration de la particule colloïdale est fortement influencée par la nature dure ou perméable de l'interface. Aux différences de distribution spatiale de la charge et des interactions électrostatiques entre la charge et les ions en solution s'ajoutent les effets hydrodynamiques.

1.10.1. La double couche électrique

Lorsqu'une solution ionique est en contact avec un solide conducteur polarisé ou un solide chargé non conducteur, des effets électrostatiques apparaissent aux interfaces. La théorie de la double couche repose sur l'observation qu'à l'interface entre une solution ionique diluée et un solide chargé non conducteur, un potentiel électrique apparaît relativement au liquide loin de l'interface où l'électroneutralité est vérifiée. La première description physique de l'interface solide chargé /solution d'électrolyte est donnée par Helmholtz (1879) à partir d'un modèle de condensateur, une interface ayant des propriétés capacitives, localisées entre une surface chargée solide et une solution ionique.

Gouy (1917) et Chapman (1913) proposent une décroissance exponentielle du potentiel dans la solution d'électrolyte, au sein d'une couche diffuse de contre-ions, d'après l'équation de Poisson-Boltzmann. Ce modèle permet de rendre compte de l'agitation thermique des ions en solution.

Stern (1924) montre les limites des deux modèles précédents. D'une part, dans le modèle capacitif, l'accumulation des charges ioniques en couche rigide est irréaliste à cause de l'agitation thermique. D'autre part dans le modèle de couche diffuse, l'augmentation exponentielle de la concentration des contre-ions à l'approche de la surface est nécessairement limitée par les dimensions et les distances d'approche des ions. Stern propose une combinaison de ces deux modèles, dit modèle de double-couche (Figure 2.4). Dans une première couche compacte, appelée couche de Stern, les contre-ions sont spécifiquement adsorbés par complexation et localisés sur les (ou certains) sites chargés de surface. Les répulsions électrostatiques entre les contre-ions ont pour conséquence un écrantage partiel des charges de surface. La charge

résiduelle est écrantée par la couche diffuse, un nuage d'ions délocalisés, soumis à des interactions électrostatiques attractives avec la surface et, répulsives entre eux. Lorsqu'on applique un champ électrique dans une suspension contenant des particules avec des charges surfaciques localisées à $x = 0$, avec x la dimension perpendiculaire à la surface chargée, 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 compartiments d'ions différents. Les ions présentant une affinité spécifique pour la surface accompagnent la particule dans son mouvement, alors que les ions ayant une attirance plus faible se séparent progressivement de la surface. Ce plan, appelé plan de coupure hydrodynamique, est généralement très proche du plan délimitant la couche compacte de la couche diffuse, dit plan externe de Helmholtz de potentiel ψ_d .

Le potentiel au plan de cisaillement est couramment noté potentiel zêta (ζ). Il dépend du potentiel au plan interne de Helmholtz, qui peut être de signe opposé au potentiel de surface dans le cas d'une adsorption spécifique, et de la force ionique de la solution, comprimant plus ou moins la double couche électrique. Le plan de coupure hydrodynamique étant classiquement localisé à la surface des particules rigides, le potentiel électrostatique ψ_d est couramment assimilé au potentiel ζ . Le potentiel zêta est accessible expérimentalement par des mesures électrocinétiques.

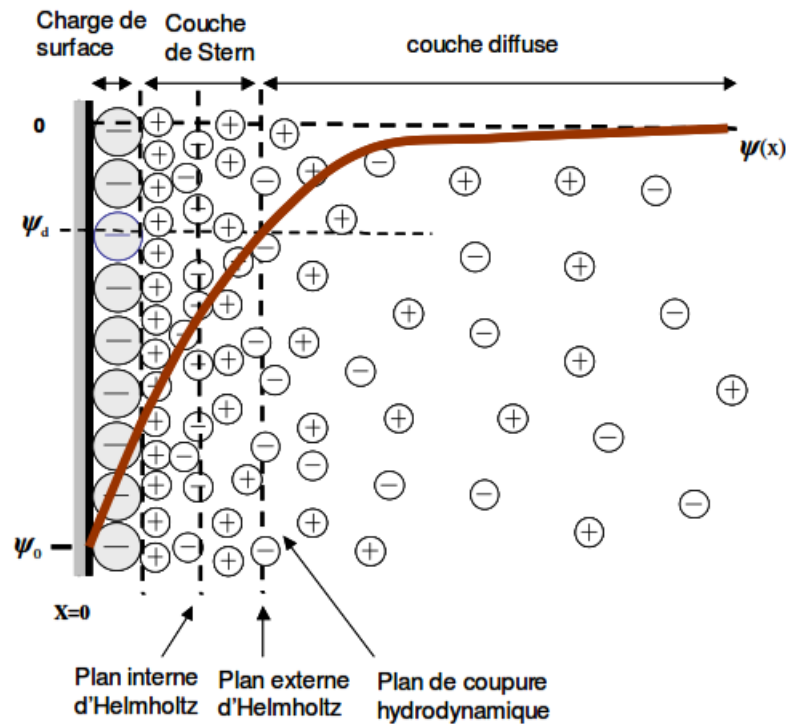


Figure 1.11 : Vue schématique de la double couche électrique.

Alors que l'interface surface chargée plane/ électrolyte est décrite selon une dimension perpendiculaire, la description d'une interface chargée perméable (typiquement une couche de polyélectrolytes adsorbée sur un solide) s'inscrit dans un espace tridimensionnel (Figure 1.12). Du fait de la perméabilité de l'interface, les co-ions et les contre ions se répartissent dans tout le volume accessible, ce qui rend caduc la notion de charge de surface pour ce type d'interface [102]. Si dans la couche compacte, le potentiel électrique varie linéairement avec la charge, ce n'est pas le cas pour la couche diffuse dont la distribution spatiale de potentiel électrique est décrite sur la base de l'équation de Poisson- Boltzmann.

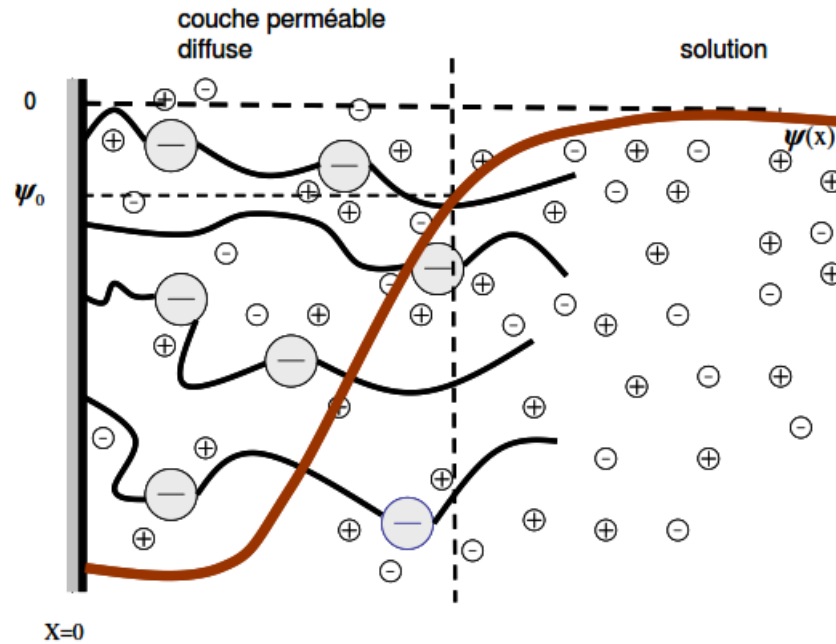


Figure 1.12 : Vue schématique du modèle d'interface chargée perméable [103, 104].

1.10.2. Electrophorèse des sphères dures

L'électrophorèse des sphères dures ou non déformables a été originellement décrite par Von Smoluchowski (1917) avant d'être complétée plus tard par les travaux d'autres auteurs comme Hückel (1924), Henry (1931), et Dukhin (1993, 2007) [105-107].

La particularité de la théorie de l'électrophorèse des sphères non déformables est la relation qu'elle permet d'établir entre la mobilité électrophorétique de la particule (vitesse par unité de champ électrique appliqué) et son potentiel électrocinétique (potentiel ζ). Suivant la dimension de la particule et la force ionique du milieu, différentes expressions de la mobilité électrophorétique ont été établies.

Le potentiel zêta est défini comme étant le potentiel au plan où la vitesse relative des particules est nulle. Ce plan est appelé plan de cisaillement. Le plan de cisaillement ne coïncide pas nécessairement avec la surface de la particule.

Les équations reliant la mobilité électrophorétique et le potentiel zêta d'une particule colloïdale dans un liquide contenant un électrolyte, sous un champ

électrique appliqué reposent sur les équations électrocinétiques qui gouvernent le mouvement des particules :

- L'équation de Navier et Stokes : de l'écoulement du liquide entourant la particule,
- L'équation de continuité : de l'écoulement du fluide et des espèces ioniques et,
- L'équation de poisson reliant le potentiel électrique et la concentration.

Les relations les plus importantes et les plus généralisées sont les suivantes. Ces relations concernent les particules colloïdales sphériques et rigides ayant un faible potentiel zêta [108, 109].

- Modèle de Helmutz-Smolchowsky (HS) :

$$\mu = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0 \zeta}{\eta} \quad (1.2)$$

Cette relation est valable pour $\kappa \cdot a \gg 1$ et, pour les faibles valeurs du potentiel zêta.

- Modèle de Huckel :

$$\mu = \frac{2\varepsilon_r \varepsilon_0 \zeta}{3\eta} \quad (1.3)$$

Cette relation est valable pour $\kappa \cdot a \ll 1$ et, pour les faibles valeurs du potentiel zêta.

- Modèle de Henry :

$$\mu = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0 \zeta}{\eta} \cdot f(ka) \quad (1.4)$$

Cette relation est valable $\forall \kappa \cdot a$ et aux faibles valeurs du potentiel zêta.

La figure 1.13 présente le profil du potentiel zêta tout au long de la double couche, lorsque celle-ci a une épaisseur arbitraire (cas de Henry), et lorsqu'elle est nulle (cas de HS).

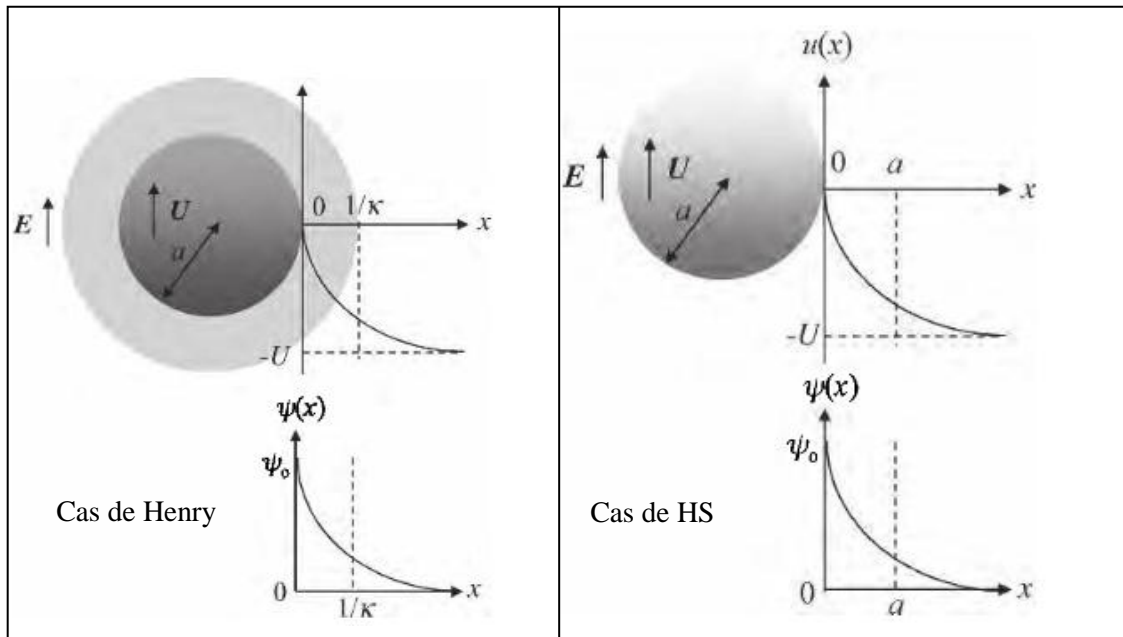


Figure 1.13 : Profil du potentiel mesuré en fonction de la distance x tout au long de la double couche.

La fonction $f(\kappa a)$ de la relation de Henry est un paramètre de forme, qui permet de prendre en compte l'effet de retardation dû au mouvement du nuage ionique et du fluide associé, qui s'oppose au déplacement de la particule.

La fonction $f(\kappa a)$ peut s'écrire de la manière suivante, pour une valeur arbitraire de κa et de faibles valeurs de potentiel zêta :

$$f(\kappa a) = 1 - e^{\kappa a} \{5E_7(\kappa a) - 2E_5(\kappa a)\} \quad (1.5)$$

Où $E_n(\kappa a)$ est une intégrale exponentielle d'ordre n définie par :

$$E_n(\kappa a) = (\kappa a)^{n-1} \int_{\kappa a}^{\infty} \frac{e^{-t}}{t^n} dt = a^{n-1} \int_a^{\infty} \frac{e^{-\kappa r}}{r^n} dr \quad (1.6)$$

- Lorsque κa est très grand ($\kappa a \rightarrow \infty$), $f(\kappa a) = 1$ et l'équation de Henry devient celle de Smoluchowski.
- Lorsque κa est très petit ($\kappa a \rightarrow 0$), $f(\kappa a)$ prend la valeur de $2/3$ et l'équation de Henry devient celle Hückel.

Au fait cette valeur de $2/3$ qui est la différence entre les relations de HS et de Hückel est due à la torsion du champ électrique appliqué, comme c'est montré sur la figure ci-dessous. La mobilité électrophorétique est déterminée essentiellement

par les ions se trouvant dans la double couche. Pour une double couche épaisse ($\kappa a \ll 1$), il y a plus d'ions là où le champ électrique n'est pas tordu. Contrairement, pour une mince double couche ($\kappa a \gg 1$), il y a plus d'ions dans le champ tordu. Le champ tordu est plus grand que l'original d'un facteur de $3/2$, du coup la mobilité calculée par l'équation de HS est plus importante de $3/2$ de celle calculée par Hückel [108].

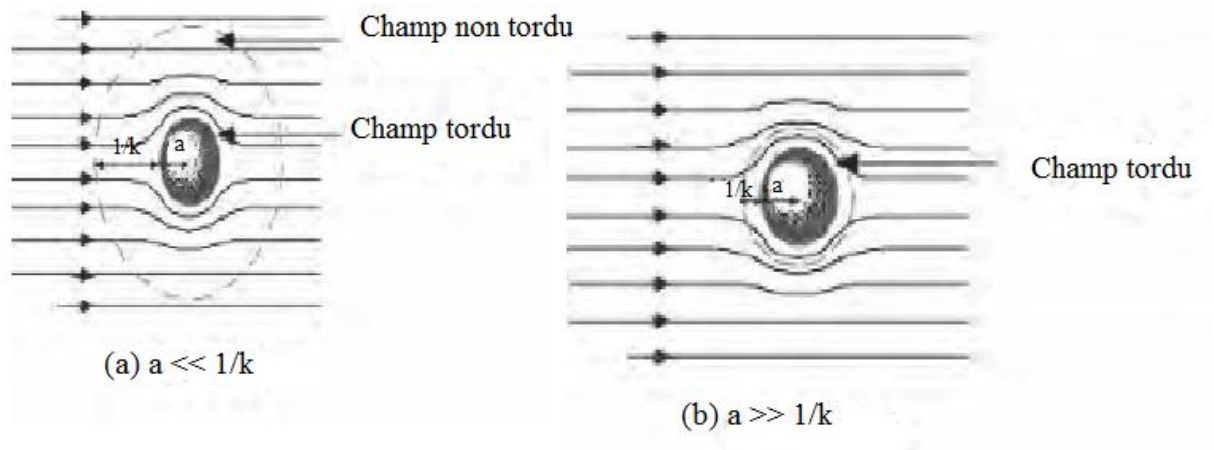


Figure 1.14 : Représentation schématique du champ électrique traversant une particule de rayon a , entourée d'une double couche (a) épaisse, (b) mince.

La courbe ci-après représente la fonction $f(\kappa a)$ de la relation de Henry en fonction du rapport κa pour une particule sphérique et une particule cylindrique. Cette courbe montre que la morphologie de la particule n'influe pas beaucoup sur $f(\kappa a)$, notamment pour de très petites et de très grandes valeurs.

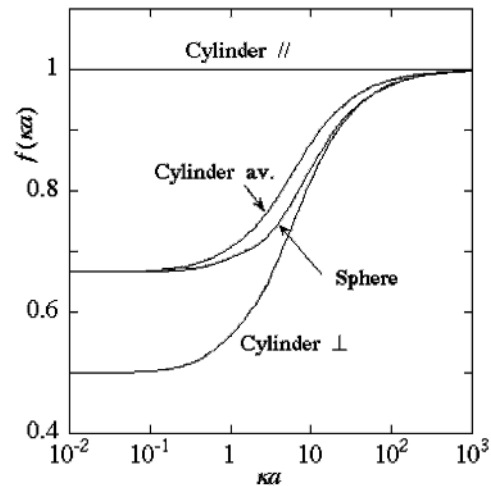


Figure 1.15. Variation de la fonction de Henry avec le produit κa pour une particule cylindrique et une particule sphérique.

1.10.3. Effet de relaxation

La relation de Henry suppose que la distribution du potentiel de la double couche autour d'une particule sphérique demeure inchangée. Lorsque le potentiel zêta augmente, l'écoulement tangentiel des contre-ions dans la double couche tout au long de la surface de la particule augmente. La double couche n'est plus sphériquement symétrique. Cet effet est appelé effet de relaxation (double couche de polarisation ou conductance de la surface), comme c'est schématisé sur la figure 1.16.

Dans le cas où l'on tient compte de l'effet de relaxation, un terme de correction est rajouté à l'équation de Henry. Ce terme dépend de la valence du sel (du contre-ion) et du signe du potentiel zêta (surface de la particule chargée positivement ou négativement).

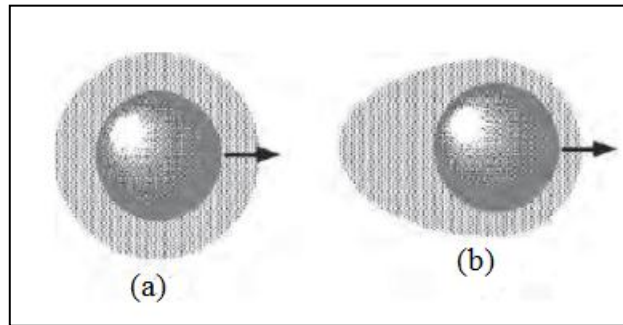


Figure 1.16 : Effet de relaxation. La double couche électrique est sphériquement symétrique pour de faibles valeurs de ζ (a) et elle perd cette sphéricité pour de grandes valeurs de ζ (b).

Dans les cas extrêmes de $\kappa a = \infty$ et $\kappa a = 0$, correspondants respectivement aux équations de HS et de Hückel, la mobilité évolue linéairement avec le potentiel zêta, mais elle a par contre un maximum (une courbure) du à l'effet de relaxation pour les valeurs intermédiaires, comme le montre la figure 1.17 qui représente la mobilité électrophorétique en fonction d'un nombre adimensionnel du potentiel zêta $= \frac{e\zeta}{kT}$.

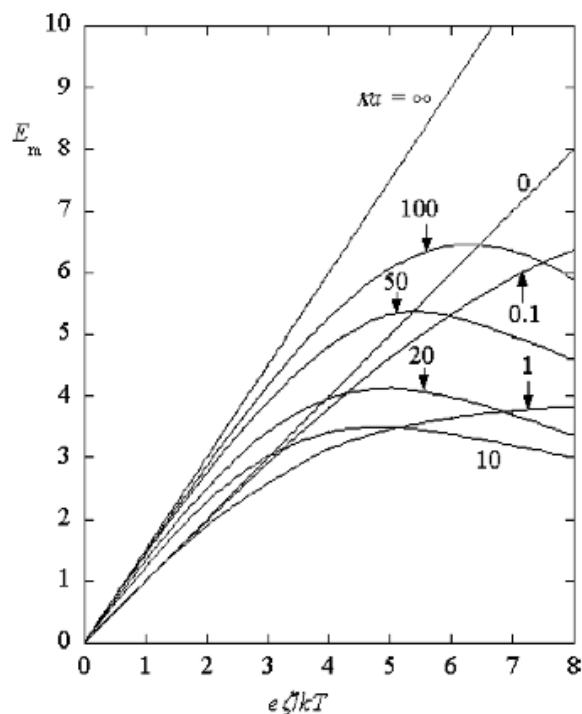


Figure 1.17 : Mobilité électrophorétique E_m mesurée pour une particule colloïdale de rayon a chargée positivement dans une solution aqueuse de KCl à 25°C , en fonction du nombre adimensionnel du potentiel zêta pour différentes valeurs de κa . Calculée par la méthode d'O'Brien et White.

Au regard de cette courbe, on observe bien que pour de faibles valeurs de potentiel zêta, la courbe de la mobilité coïncide avec celle de Hückel pour de faibles valeurs de κa (0,1 et 1) et colle avec celle de HS pour des valeurs de $\kappa a > 10$.

Les différentes équations reliant la mobilité électrophorétique au potentiel zêta, pour de grandes valeurs de κa , lorsque le potentiel zêta est plus grand (tenant compte de l'effet de relaxation et du signe de la surface de la particule), sont données par [108] :

- Ohshima d'Ohshima : cas d'un z-z électrolyte symétrique et, $\kappa a < 10$.

$$\mu = \frac{2\varepsilon_r\varepsilon_0\zeta}{3\eta} \left(1 + \frac{1}{2 \left[1 + \frac{2,5}{\{\kappa a(1+2e^{-\kappa a})\}} \right]^3} \right) - \frac{2\varepsilon_r\varepsilon_0\zeta}{3\eta} \left(\frac{ze\zeta}{kT} \right)^2 \left[\frac{\kappa a \{ \kappa a + 1,3 \exp(-0,18\kappa a) + 2,5 \}}{2 \{ \kappa a + 1,2 \exp(-7,4\kappa a) + 4,8 \}^3} + \left(\frac{m_+ + m_-}{2} \right) \frac{9\kappa a \{ \kappa a + 5,2 \exp(-3,9\kappa a) + 5,6 \}}{8 \{ \kappa a - 1,55 \exp(-0,32\kappa a) + 6,02 \}^3} \right] \quad (1.7)$$

- Ohshima-Healy-White : cas d'un z-z électrolyte symétrique avec $\kappa a \geq 10$

$$\mu = \operatorname{sgn}(\zeta) \frac{\varepsilon_r\varepsilon_0}{\eta} \left\{ |\zeta| - \frac{2F}{1+F} \left(\frac{kT}{ze} \right) H \right\} + \operatorname{sgn}(\zeta) \frac{2\varepsilon_r\varepsilon_0kT}{3\eta e} \left[\frac{1}{\kappa a} \left\{ -18 \left(t + \frac{t^3}{9} \right) K + \frac{15F}{1+F} \left(t + \frac{7t^2}{20} + \frac{t^3}{9} \right) - 6(1 + 3\bar{m})(1 - e^{-\zeta/2\zeta})G + \frac{12F}{(1+F)^2} H + \frac{9\bar{\zeta}}{1+F} (\bar{m}G + mH) - \frac{36F}{1+F} \left(\bar{m}G^2 + \frac{m}{1+F} H^2 \right) \right\} \right] \quad (1.8)$$

- O'Brien and White : cas d'un z-z électrolyte symétrique et $\kappa a > 20$ [109]

$$\frac{3}{2} \frac{\eta e}{\varepsilon_r\varepsilon_0kT} \mu = \frac{3}{2} y - 6 \left(\{ y(1 + 3m/z^2) \cdot \sinh^2(zy/4) + [2z^{-1} \sinh(zy/2) - 3my] \cdot \ln \cosh(zy/4) \} / \{ \kappa a + 8(1 + 3m/z^2) \sinh^2(zy/4) - (24m/z^2) \ln \cosh(zy/4) \} \right) \quad (1.9)$$

Avec :

$$y = \frac{e\zeta}{kT} \quad (1.10)$$

$$m = \frac{2}{3} \left(\frac{kT}{e} \right)^2 \frac{\varepsilon_{rs} \varepsilon_0}{\eta D} \quad (1.11)$$

- O'Brien : z-z électrolyte symétrique et $(\kappa a)^{-1}$ négligeable ($\kappa a \gg 1$) [109]

$$\frac{3}{2} \frac{\eta e}{\varepsilon_{rs} \varepsilon_0 kT} \mu = \frac{3}{2} y - \frac{6 \left[\frac{y}{2} - \frac{\ln 2}{z} \{1 - \exp(-zy)\} \right]}{2 + \frac{\kappa a}{1 + 3m/z^2} \exp\left(-\frac{zy}{2}\right)} \quad (1.13)$$

Ohshima propose aussi, pour des solutions d'électrolytes asymétriques, des équations reliant la mobilité et le potentiel zêta qui sont tributaires de la charge de la surface de la particule (le signe du potentiel zêta) et de la valence de l'électrolyte [108].

- 2-1 électrolyte, $\zeta > 0$

$$\mu = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0}{\eta} \left\{ \zeta - \frac{2F}{1+F} \left(\frac{kT}{e} \right) \ln \left[\frac{1}{2} + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{2}{3} \exp\left(\frac{e\zeta}{kT}\right) + \frac{1}{3}} \right] \right\} \quad (1.14)$$

$$F = \frac{\sqrt{6}}{\kappa a} (1 + 3m_-) \left\{ \exp\left(\frac{e\zeta}{2kT}\right) - 1 \right\} \quad (1.15)$$

$$m_- = \frac{2\varepsilon_r \varepsilon_0 kT}{3\eta e^2} \lambda_- \quad (1.16)$$

- 2-1 électrolyte, $\zeta < 0$:

$$\mu = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0}{\eta} \left\{ \zeta + \frac{2F}{1+F} \left(\frac{kT}{e} \right) \ln \left[\frac{1}{2} \exp\left(-\frac{e\zeta}{2kT}\right) + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{1}{3} \exp\left(\frac{e|\zeta|}{kT}\right) + \frac{2}{3}} \right] \right\} \quad (1.17)$$

$$F = \frac{\sqrt{3}}{\kappa a} (1 + 3m_+) \left\{ \exp\left(\frac{e|\zeta|}{kT}\right) - 1 \right\} \quad (1.18)$$

$$m_+ = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0 kT}{6\eta e^2} \lambda_+ \quad (1.19)$$

- 1-2 électrolyte, $\zeta > 0$

$$\mu = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0}{\eta} \left\{ \zeta - \frac{2F}{1+F} \left(\frac{kT}{e} \right) \ln \left[\frac{1}{2} \exp\left(\frac{e\zeta}{2kT}\right) + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{1}{3} \exp\left(\frac{e\zeta}{kT}\right) + \frac{2}{3}} \right] \right\} \quad (1.20)$$

$$F = \frac{\sqrt{3}}{\kappa a} (1 + 3m_-) \left\{ \exp\left(\frac{e\zeta}{kT}\right) - 1 \right\} \quad (1.21)$$

$$m_- = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0 kT}{6\eta e^2} \lambda_- \quad (1.22)$$

- 1-2 électrolyte, $\zeta > 0$

$$\mu = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0}{\eta} \left\{ \zeta + \frac{2F}{1+F} \left(\frac{kT}{e}\right) \ln \left[\frac{1}{2} + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{2}{3} \exp\left(\frac{e|\zeta|}{kT}\right) + \frac{1}{3}} \right] \right\} \quad (1.23)$$

$$F = \frac{\sqrt{6}}{\kappa a} (1 + 3m_+) \left\{ \exp\left(\frac{e|\zeta|}{2kT}\right) - 1 \right\} \quad (1.24)$$

$$m_+ = \frac{2\varepsilon_r \varepsilon_0 kT}{3\eta e^2} \lambda_+ \quad (1.25)$$

Quelques exemples de calcul de la mobilité électrophorétique d'une particule sphérique chargée négativement sont présentés sur la figure 1.18.

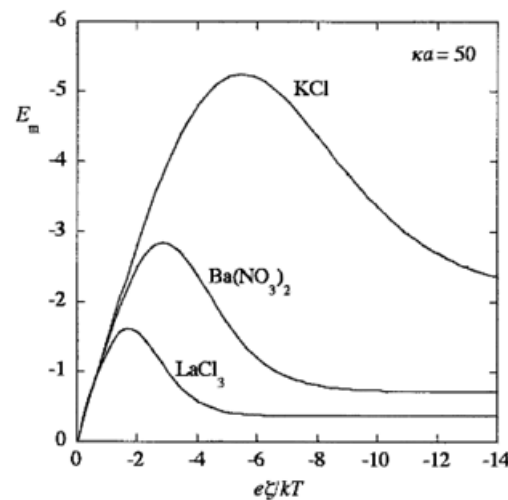


Figure 1.18. Mobilité électrophorétique mesurée $E_m = \left(\frac{3\eta e}{2\varepsilon_r \varepsilon_0 kT}\right)\mu$ d'une particule sphérique chargée négativement de rayon a dans trois types d'électrolyte en solution aqueuse (KCl, $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ et LaCl_3) en fonction du potentiel zêta calculé.

Enfin, la figure 1.19 montre le domaine de validité des différentes expressions de la mobilité en fonction de κa pour une particule sphérique.

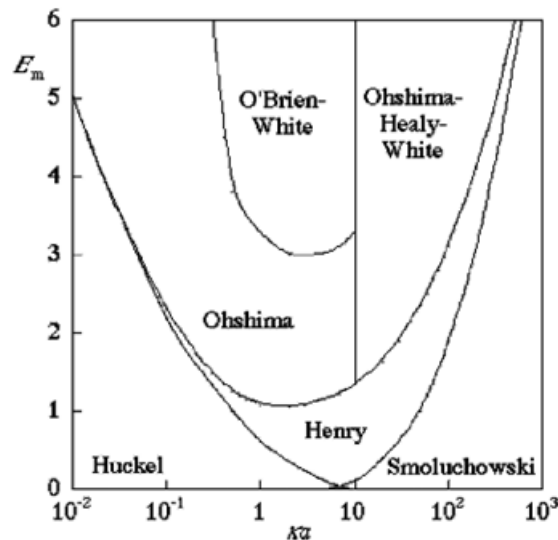


Figure 1.19. Domaine de validité de différentes expressions de la mobilité.

1.10.4 Electrophorèse des sphères molles perméables

Le potentiel ζ joue un rôle déterminant dans la théorie de l'électrophorèse des sphères dures, mais il est inapproprié aux systèmes mous dont la pénétration graduelle du flux dans la couche perméable rend impossible et physiquement irréaliste la localisation d'un plan de coupure hydrodynamique [40, 110].

La théorie de l'électrophorèse des particules perméables a été décrite suivant une variété de modèles [38, 111-115]. Dans la plupart de ces modèles, la couche perméable est perçue comme une phase continue, avec une perméabilité hydrodynamique et une charge électrique, qui reflète la densité et les propriétés physico-chimiques des matériaux perméables.

Quelques modèles des équations de la mobilité pour des particules molles sont données par les relations suivantes :

- Hermans et Fujita (1955), (approximation de Debye-Hückel) [39] :

$$\mu = \frac{\rho_{fix}}{\eta_0 \lambda^2} \left[1 + \frac{2}{3} \left(\frac{\lambda}{\kappa} \right)^2 \frac{1 + \lambda/2\kappa}{1 + \lambda/\kappa} \right] \quad (1.26)$$

$$\lambda = \left(\frac{\gamma}{\eta_0} \right)^{1/2} \quad (1.27)$$

- Ohshima [38], pour un électrolyte de valence z-z symétrique, la distribution des charges fixes dans la couche perméable des particules

molles pouvant être du même ordre de grandeur que la longueur de Debye :

$$\mu = \frac{2\varepsilon_r\varepsilon_0}{3\eta_0} \frac{\Psi_0/\kappa_m + \Psi_{DON}/\lambda}{1/\kappa_m + 1/\lambda} \left[1 + \frac{1}{2(1+d/a)^3} \right] + \frac{\rho_{fix}}{\eta\lambda^2} \quad (1.28)$$

$$\kappa_m = \kappa \left[1 + \left(\frac{\rho_{fix}}{2ze_i n_i^\infty} \right)^2 \right]^{1/4} \quad (1.29)$$

$$\Psi_{DON} = \frac{k_B T}{ze_l} \ln \left\{ \frac{\rho_{fix}}{2ze_i n_i^\infty} + \left[\left(\frac{\rho_{fix}}{2ze_i n_i^\infty} \right)^2 + 1 \right]^{1/2} \right\} \quad (1.30)$$

Où λ est le paramètre de mollesse hydrodynamique, caractérisant les interactions hydrodynamiques entre le solvant et le polyélectrolyte.

$1/\lambda$ (dans la relation d'Ohshima) représente la longueur caractéristique de pénétration du flux hydrodynamique dans la couche perméable de la particule; κ_m est le paramètre de Debye-Hückel de la couche perméable due à la contribution du paramètre de Debye-Hückel de l'électrolyte (κ) et de la densité volumique des charges fixes ρ_{fix} , e est la charge élémentaire; n_i^∞ le nombre d'ions par unité de volume; Ψ_{DON} est le potentiel de Donnan dans la couche polyélectrolyte (figure 1.20), et Ψ_0 est le potentiel de surface, correspondant à l'interface entre la couche polyélectrolyte et l'électrolyte.

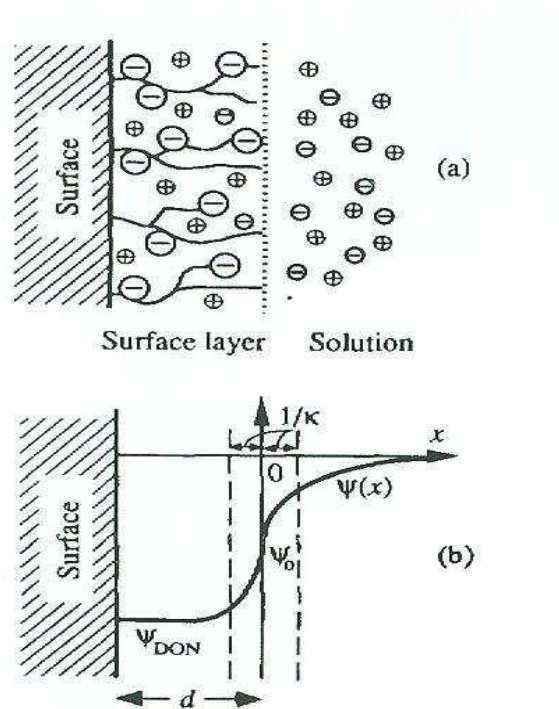


Figure 1.20. Modèle de distribution des ions (a) et distribution du potentiel (b) à proximité de la surface perméable d'une particule perméable chargée (d'après Ohshima).

Un modèle numérique rigoureux basé sur les équations fondamentales de transport et de l'électrostatique des particules perméables diffuses de taille, charge et épaisseur de double couche variables a été développé par Duval *et al.* [40, 110]. En lieu et place de la couche perméable homogène proposée par Ohshima, Duval *et al.* ont développé un modèle d'interface plus général, dit interface perméable diffuse (figure 1.21) dans le contexte des propriétés électrocinétiques des gels macroscopiques chargés puis de particules colloïdales. Ce modèle consiste en une interface où les propriétés de la couche perméable changent graduellement depuis le gel jusqu'à la solution électrolytique. Cette hypothèse leur a permis de montrer clairement que la distribution hétérogène des segments de polymère chargés affecte substantiellement la réponse électrocinétique globale, notamment dans les conditions de basse force ionique où les caractéristiques électrocinétiques de la couche perméable deviennent très sensibles à la distribution des chaînes dans l'interface diffuse.

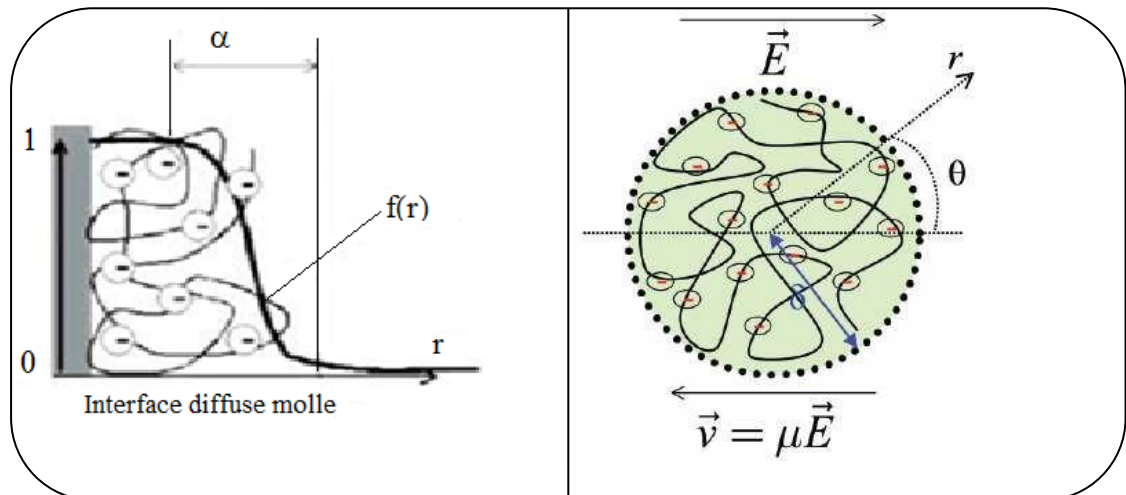


Figure 1.21. Profil de distribution de segments de chaîne à l'interface diffuse perméable et modèle d'une particule perméable diffuse.

1.10.5 Informations fournies par ce type de mesures

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 1.22.

- 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 \mathbf{H}^+ et \mathbf{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 1.22). 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].

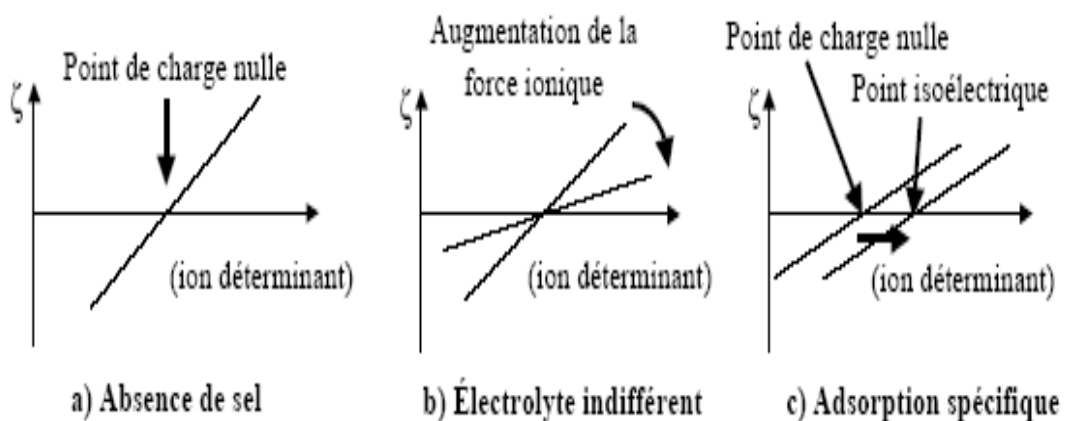


Figure 1.22. Evolution du potentiel zêta en fonction de la teneur en ions déterminant le potentiel.

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.

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériels

2.1.1. Gomme xanthane

La gomme xanthane est un bio polysaccharide anionique naturel. Elle est soluble dans l'eau mais pas dans les solvants organiques. C'est une particule colloïdale rigide qui adopte une structure double hélicoïdale cylindrique à l'état natif (température ambiante (25°C) et faible force ionique) [14, 116]. Le produit a été fourni gracieusement par RHODIA (ORKILA, Algérie).

2.1.2 Caséinate de sodium

Le caséinate de Sodium est une protéine anionique provenant du lait de vache, il se présente sous forme de poudre blanche soluble dans l'eau à pH neutre. Il a des propriétés émulsifiantes et de liaison. Le tableau 2.1 représente la fiche technique du caséinate fournie avec le produit par ARMOR Protéines, France.

Tableau 2.1 : Caractéristiques physico-chimiques du caséinate

<ul style="list-style-type: none"> • <u>Caractéristique physique</u> 		
Aspect	Poudre	
Couleur	Crème	
Goût	Typique	
pH	6.5-7.0	
<ul style="list-style-type: none"> • <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%	
<ul style="list-style-type: none"> • <u>Analyse microbiologiques</u> 		
Flore aérobie mésophile	30 000/g max.	5 000/g 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	

2.2. Préparation des échantillons

2.2.1. Solutions de xanthane

La gomme xanthane est mise en solution dans de l'eau distillée contenant 3mM d'azide de sodium pour prévenir contre les contaminations bactériennes. Différentes concentrations ont été préparées : 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5% (g/g). Pour assurer la dissolution complète de la poudre, les échantillons ont été mis sous agitation magnétique à température ambiante pendant 20 heures. Le pH des solutions était aux alentours de 7, sinon, un ajustement est nécessaire avec des solutions de soude ou de HCl. La force ionique des solutions a été modifiée en ajoutant des solutions de KCl et de CaCl₂ à différentes concentrations.

2.2.2. Emulsions : planification expérimentale

La phase aqueuse est constituée du mélange caséinate de sodium, xanthane et de tween20.

La démarche adoptée dans ce travail est basée sur la planification des expériences. Le recours à cette méthode des plans d'expériences permet d'obtenir des modèles prévisionnels des réponses étudiées, ainsi que les conditions optimales, et ce avec un minimum d'essais et un maximum de crédibilité.

Compte tenu de l'objectif visé, à savoir la détermination des effets des concentrations des différents ingrédients sur la stabilité des émulsions, la stratégie de planification expérimentale a été adoptée. La méthode la plus adéquate repose sur une modélisation en surface de réponse (RSM), par un modèle d'ordre 2 tenant compte de toutes les interactions doubles entre les facteurs :

$$y = a_0 + a_1 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + a_{11}x_1^2 + a_{22}x_2^2 + a_{33}x_3^2 + a_{44}x_4^2 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{14}x_1x_4 + a_{23}x_2x_3 + a_{24}x_2x_4 + a_{34}x_3x_4 \quad (2.1)$$

Où: y est la réponse et x_1, x_2, x_3 et x_4 sont les composantes centrées réduites des facteurs.

❖ Définition des facteurs

- x_1 correspond à la concentration massique du caséinate de Sodium (par rapport à la solution aqueuse) variant dans le domaine [1% - 6%] ;
- x_2 correspond à la concentration massique du tween 20 (par rapport à la solution aqueuse) comprise entre [0 et 0.2%] ;
- x_3 correspond à la concentration massique de la gomme xanthane (par rapport à la solution aqueuse) prise dans l'intervalle [0 – 0.5%] ;
- x_4 correspond à la concentration en volume de l'huile (par rapport à l'émulsion), variant dans le domaine [10 – 50 %].

La phase interne de l'émulsion est de l'huile de tournesol commercialisée par Cevital.

La matrice d'expériences choisie qui répond à cette stratégie est de type D-optimal, ce type minimise l'erreur dans l'estimation des coefficients, ainsi que l'erreur globale. La matrice contient 23 essais, avec 3 répétitions au centre des différents domaines de variation des facteurs, pour minimiser l'erreur au centre, et estimer l'écart type de la variabilité naturelle (l'erreur expérimentale).

Le tableau 2.2 représente la matrice d'expériences déduite du plan adopté dans cette étude.

Les solutions aqueuses ont été préparées en faisant dissoudre les quantités appropriées de caséinate de Sodium, de xanthane et de tween 20, suivant la matrice d'expérience, dans de l'eau distillée à 3mM d'azidure de sodium, à pH neutre. La dissolution des constituants est assurée à l'aide d'agitateurs magnétiques, pendant 20 heures, à température ambiante.

La préparation des émulsions a été faite en rajoutant de l'huile de tournesol comme phase dispersée à la phase aqueuse tout en respectant les compositions des ingrédients indiquées dans la matrice d'expériences. On effectue l'émulsification à l'aide de l'homogénéiseur en fixant la vitesse à 24000 tr/mn., pendant 15 minutes.

Après la préparation des émulsions, on met les échantillons dans des tubes à essai de diamètre de 1 cm et de hauteur de 13 cm, pour contrôler leur stabilité. Les émulsions instables sont identifiées par observation d'une séparation de leurs phases, quantifiée par un paramètre qui est l'indice de crémage. Ce dernier a pour formule.

$$IC = \frac{H_{aq}}{H_T} \cdot 100 \quad (2.2)$$

Avec : IC est l'indice de crémage ;

H_{aq} Est la hauteur de la phase aqueuse (la phase inférieure) ;

H_T Est la hauteur totale de l'émulsion.

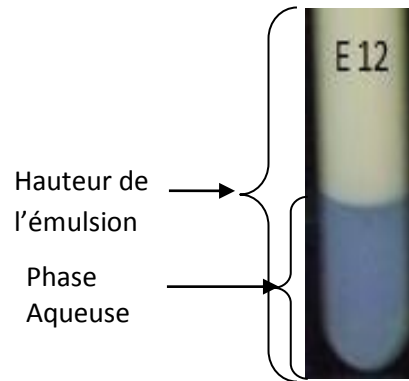


Figure 2.1 : Photo d'une émulsion présentant une séparation de phase.

Tableau 2.2 : Matrice d'expériences

Essai	Concentration du caséinate de sodium (%)	Concentration du tween 20 (%)	Concentration de la gomme xanthane (%)	Concentration de l'huile (%)
01	1.000	0.000	0.000	10.000
02	6.000	0.200	0.500	10.000
03	6.000	0.000	0.000	50.000
04	6.000	0.200	0.000	50.000
05	1.000	0.200	0.500	50.000
06	1.000	0.000	0.500	36.666
07	1.000	0.000	0.333	50.000
08	1.000	0.200	0.000	36.666
09	1.000	0.200	0.166	10.000
10	1.000	0.133	0.000	50.000
11	1.000	0.066	0.500	10.000
12	6.000	0.000	0.500	23.333
13	6.000	0.000	0.166	10.000
14	6.000	0.200	0.333	50.000
15	6.000	0.133	0.000	10.000
16	6.000	0.066	0.500	50.000
17	4.333	0.000	0.500	10.000
18	2.666	0.000	0.500	50.000
19	4.333	0.200	0.000	10.000
20	3.500	0.100	0.250	30.000
21	3.500	0.100	0.250	30.000
22	3.500	0.100	0.250	30.000
23	3.500	0.100	0.250	30.000

2.3. Méthodes de caractérisation

Les propriétés mécaniques et électrocinétiques des solutions de xanthane ont été réalisées grâce à la rhéologie et la détermination du potentiel zêta par électrophorèse. L'étude rhéologique des émulsions formulées a été établie afin de contrôler leur stabilité.

Cette partie présente d'une part, les protocoles de mesure et d'autre part les techniques de caractérisation ainsi que les principes théoriques de ces dernières.

2.3.1. Analyse rhéologique

L'étude rhéologique des solutions de polymère a été traitée expérimentalement selon deux types d'expériences : une analyse de la viscoélasticité des solutions en régime linéaire et une analyse sous écoulement en dehors du régime linéaire.

2.3.1.1. Analyse viscoélastique

Elle permet de déterminer les propriétés viscoélastiques d'un matériau (module de conservation G' et de perte G''). On impose, dans le cas d'un rhéomètre à déformation imposée, une déformation sinusoïdale $\gamma(t)$ et on mesure une contrainte sinusoïdale $\sigma(t)$ de la forme (figure 2.2) :

$$\gamma(t) = \gamma_0 \sin(\omega t) \quad (2.3)$$

$$\sigma(t) = \sigma_0 \sin(\omega t + \delta) \quad (2.4)$$

où ω est la pulsation des oscillations. δ représente le déphasage et est appelé angle de perte. δ est égal à 90° dans le cas d'un liquide purement visqueux ou à 0° pour un solide purement élastique. On peut réciproquement imposer, dans le cas d'un rhéomètre à contrainte imposée, une contrainte sinusoïdale et mesurer la déformation sinusoïdale résultante.

On définit les modules de conservation G' et de perte G'' , relatifs respectivement à l'élasticité et au caractère dissipatif de l'échantillon, comme étant :

$$G' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad (2.5)$$

$$G'' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad (2.6)$$

La tangente de perte est définie comme le rapport des dissipations sur le stockage d'énergie :

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (2.7)$$

Les polysaccharides en solutions sont généralement viscoélastiques : ils ont un comportement intermédiaire entre le solide élastique et le liquide visqueux. Sous cisaillement, ils 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 macromoléculaire 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.

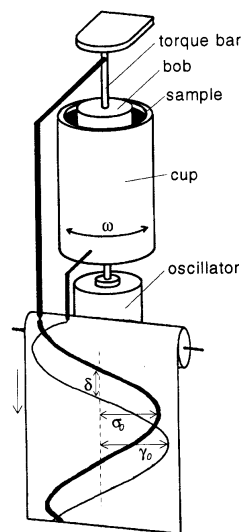


Figure 2.2 : Représentation schématique d'une mesure rhéométrique en mode oscillatoire.

2.3.1.2. Analyse sous écoulement

2.3.1.2.1. Equation rhéologique d'état, rhéogrammes

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 σ . C'est la relation qui dépend des propriétés et de la nature du matériau, cette relation s'écrit :

$$\gamma = f(\sigma) \quad (2.8)$$

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:

$$\gamma = f(\sigma, P, T) \quad (2.9)$$

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 dont on le cisaille. Ces derniers peuvent exprimer les relations entre :

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

Toutes ces expériences sont données à T et P constants.

2.3.1.2.2. Viscosité

Il est bien connu que lorsque l'on communique un mouvement à une partie d'un liquide, il se transmet graduellement au reste du liquide. La résistance du liquide à l'écoulement uniforme et sans turbulence est définie comme sa viscosité. D'une manière générale, on peut dire que la viscosité est due aux forces attractives qui s'exercent entre des éléments voisins, et s'opposent aux mouvements relatifs des uns par rapport aux autres. La viscosité tient une place importante dans l'étude hydrodynamique des solutions

macromoléculaires. Elle est reconnue comme l'une des propriétés différenciant les composés macromoléculaires des autres molécules organiques. Afin d'évaluer la perturbation liée aux particules, indépendamment du milieu dispersant, on définit habituellement :

- la viscosité relative

$$\eta_R = \frac{\eta}{\eta_0} \quad (2.10)$$

- la viscosité spécifique

$$\eta_{SP} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \cong \frac{t - t_0}{t_0} \quad (2.11)$$

- la viscosité spécifique réduite (ou viscosité réduite)

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{SP}}{C} \quad (2.12)$$

- la viscosité intrinsèque

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{CP}}{C} \right) \quad (2.13)$$

C étant la concentration du polymère en g.L⁻¹.

2.3.1.2.3. Effet polyélectrolyte

La viscosité réduite des solutions de polymères neutres est proportionnelle à leur concentration en régime dilué. Cette relation permet de déterminer la viscosité intrinsèque de ce type de polymères simplement en extrapolant la viscosité réduite à concentration nulle en polymère. Cela n'est pas le cas pour les polyélectrolytes dont le comportement hydrodynamique diffère de celui des polymères non-ionisables. En effet, la viscosité spécifique réduite des polyélectrolytes augmente rapidement avec la dilution [117-119], d'où la notion d'effet polyélectrolyte. Cet effet polyélectrolyte a été mis en évidence dans le cas de régimes extrêmement dilués en polyion en milieu aqueux sans sel, ou en solution très faiblement saline (moins de 50 mM) [120]. L'origine de l'effet polyélectrolyte est attribuée à une transition conformationnelle du polyion liée à l'expansion des segments de chaîne en raison des forces électrostatiques intramoléculaires répulsives [35, 120]. En effet, aux faibles concentrations en polyélectrolyte, les contre-ions forment un nuage très diffus autour de la

macromolécule. Les forces coulombiennes entre les charges portées par la chaîne étant très fortes, il s'ensuit une dilatation de la chaîne. Et c'est cette augmentation de taille qui se traduit qualitativement par une croissance de la viscosité. Il y a toutefois une controverse au sujet du sens physique de l'effet polyélectrolyte, son origine est aussi attribuée aux interactions électrostatiques intermoléculaires [121]. La contribution majeure à l'effet polyélectrolyte proviendrait, selon Antonietti *et al.* (1996), d'une augmentation de la longueur d'écrantage électrostatique et, d'un couplage interparticulaire avec la diminution de la concentration en polyélectrolyte [122].

2.3.1.2.4. Effets électrovisqueux

Les systèmes colloïdaux chargés ont une viscosité plus grande que celle des particules neutres. En effet, leur comportement hydrodynamique est modifié en milieu salin par la présence de la double couche électrique. Les phénomènes liés aux effets de charge du colloïde peuvent être interprétés en terme d'effets électrovisqueux [123]. Ceux-ci sont de trois ordres: les effets électrovisqueux primaires, secondaires et tertiaires. Les plus familiers sont probablement les effets électrovisqueux primaires et secondaires qui traitent de l'influence que le transport tangentiel de charge le long d'une surface a sur la viscosité apparente. L'effet électrovisqueux primaire est caractérisé par l'augmentation de la viscosité intrinsèque de la suspension colloïdale quand la force ionique du milieu baisse. A ce niveau, les particules sont considérées isolées les unes des autres, et voient leur nuage déformé par le flux de solvant [124-129]. C'est un cas assez récurrent chez les objets sphériques chargés non déformables, c'est à dire les particules ayant un rayon hydrodynamique indépendant des conditions physico-chimiques du milieu. Quand la suspension est plus concentrée, les interactions interparticulaires deviennent importantes. Les particules se rapprochent les unes des autres, donnant lieu au recouvrement de leurs doubles couches électriques. On parle alors d'effet électrovisqueux secondaire [130]. Ici, c'est la viscosité réduite de la suspension de polyélectrolytes qui augmente quand la salinité diminue [131]. L'effet électrovisqueux tertiaire a la particularité d'être une propriété exclusive des polymères flexibles. Il est dû à la variation de la conformation du polyélectrolyte avec la force ionique [125, 132], en raison notamment des interactions intramoléculaires répulsives [133]. Ces trois

effets électrovisqueux sont généralement coexistants chez les polyélectrolytes flexibles puisque la déformation du nuage ionique peut modifier les interactions électrostatiques intra et interchaînes [133].

2.3.1.3. Appareillage et protocole expérimental

Les rhéomètres à contrainte imposée qui ont été utilisés sont :

- MCR 300 (PAAR Physica RHEOLAB) avec un système de mesure de type Couette de rayon 14.46 mm et un gap de 1.13 mm et qui est relié à un thermostat et piloté par un micro-ordinateur utilisant le logiciel US 200, pour l'acquisition et le traitement des données expérimentales.
- AR2000 (TA, instruments). Il possède un système de régulation de température à effet Peltier. Afin d'éviter les problèmes d'évaporation à haute température, de l'huile de paraffine est ajoutée sur les échantillons aqueux et est maintenue en place grâce à un piège en silicone. Le système de mesure choisi est de géométrie plan-plan de 30mm et de gap de 1 mm.

Afin de déterminer les propriétés viscoélastiques des solutions de xanthane ainsi que des émulsions, on a maintenu une fréquence constante $\omega = 1\text{Hz}$ et on fait varier le pourcentage de déformation γ de 1 % à 10^{+4} % en rampe logarithmique. On a prélevé ainsi des valeurs du module de conservation G' et des valeurs du module de perte G'' . La figure ci-dessous montre la courbe issue de ce test pour une solution de xanthane à 0.5%.

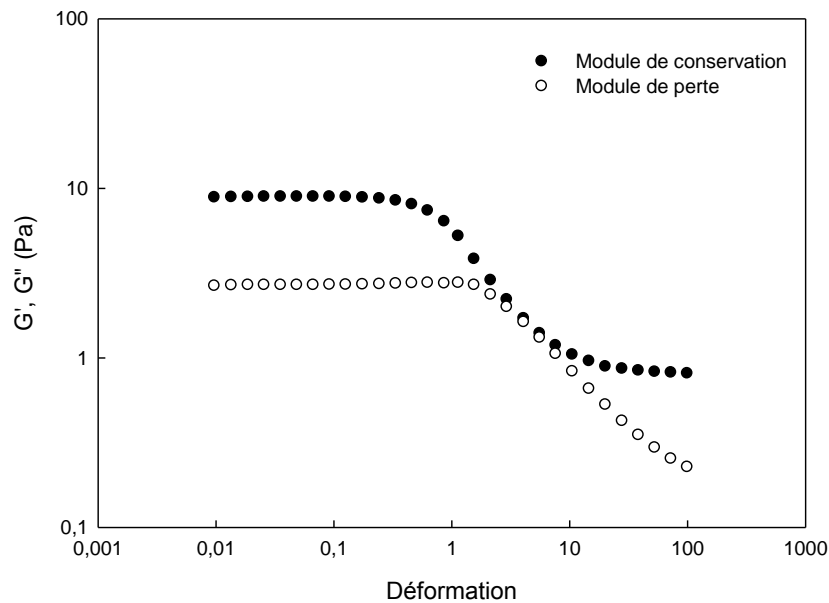


Figure 2.3: Courbe de viscoélasticité du xanthane à 0.5% à $T = 20^{\circ}\text{C}$.

Pour l'analyse sous écoulement, un ensemble des forces (F) sont appliquées sur l'échantillon et induit une contrainte de cisaillement (σ) qui est parallèle à la surface de la couche du produit (S). La variation de déplacement des couches de matériau les unes sur les autres correspond à la déformation γ . Sa dérivée par rapport au temps $\dot{\gamma}$ est le gradient de vitesse, autrement appelé taux de cisaillement.

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.

2.3.2 Caractérisation électrocinétique

2.3.2.1. Description du comportement électrophorétique des colloïdes chargés

Les propriétés électrocinétiques d'une particule renvoient aux effets combinés du mouvement et du phénomène de charge de la particule sur son comportement migratoire. Spécifiquement, l'électrophorèse qui fait référence au mouvement d'une particule par rapport à un liquide stationnaire sous l'influence

d'un champ électrique appliqué.

Un effort considérable a été déployé dans le développement de modèles électrocinétiques théoriques pour des phénomènes comme l'électrophorèse. Cet engouement fait suite à la contribution de plusieurs facteurs qu'il est possible de suivre simultanément dans cette méthode d'analyse. Les effets conjugués de la charge, de la force ionique, des interactions hydrodynamiques et électrostatiques entre particules en sont les exemples majeurs. L'intérêt de l'électrophorèse dans notre étude consistera à collecter des données expérimentales concrètes qui permettront de corrélérer rigoureusement la mobilité électrophorétique des particules avec les conditions physico-chimiques.

2.3.2.2. Protocole expérimental

La mesure de la mobilité électrophorétique des solutions de xanthane a été réalisée à l'aide d'un zétamètre de marque « ZETASIZER 2000 » de MALVERN, piloté par microordinateur. Le zétasizer utilise la méthode LDE (laser dopler electrophoresis), appelé tout simplement l'électrophorèse. Cette méthode consiste à mesurer le mouvement des particules colloïdales lorsqu'elles sont soumises à un champ électrique.

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. Les résultats ont montré une bonne reproductibilité.

CHAPITRE 3

COMPORTEMENT ELECTROKINETIQUE DU XANTHANE EN SOLUTION EN FONCTION DE LA CONCENTRATION ET DE LA FORCE IONIQUE

3. 1. Introduction

L'électrophorèse, qui est le mouvement des particules colloïdales chargées dans un champ électrique, est très utile pour les techniques analytiques et de préparation pour la séparation et la purification des biopolymères. Elle permet de contrôler les interactions électrostatiques.

Dans une suspension suffisamment diluée, les particules ne peuvent pas s'interagir, ainsi la mobilité moyenne des particules dans la suspension est approximativement égale à la moyenne des mobilités des particules isolées. Lorsque la concentration en biopolymère augmente, la mobilité électrophorétique diminue. Cependant les données expérimentales dans la littérature relatives à la dépendance de la mobilité à la concentration sont rares. Il y a eu beaucoup de controverse sur la meilleure manière d'expliquer l'effet de la concentration en biopolymère. Il a été proposé, par exemple que la diminution de la mobilité peut être expliquée par la contribution de la charge de la molécule à la force ionique de la solution, ou par les théories basées sur les modèles de cellule ou en résolvant directement les forces entre les particules en solution [134]. Shugai a étudié cette dépendance avec la concentration d'une protéine et il a tenté d'élaborer un modèle qui puisse exprimer cette dépendance [135, 136]. Sa connaissance reste jusqu'à nos jours difficile à déterminer à cause la technique de mesure qui suppose la sphéricité des particules et la valeur du rayon hydrodynamique qui reste inconnu (elle varie d'un chercheur à un autre selon la technique utilisée).

Le comportement électrocinétique du xanthane permet de contrôler les interactions électrostatiques. L'expression de la mobilité électrophorétique dépend notamment du produit $\kappa \cdot a$, c.à.d. de la taille de la particule (a) et de l'épaisseur de la double couche électrique κ^{-1} conditionnée par la force ionique [109].

Les équations reliant la mobilité électrophorétique et le potentiel zêta d'une particule colloïdale dans un liquide contenant un électrolyte, sous un champ électrique appliqué reposent sur les équations électrocinétiques qui gouvernent le mouvement des particules. Elles dépendent essentiellement de la forme, de la taille et de la charge des particules, aussi bien de la valeur du potentiel.

L'objectif visé par cette étude est de déterminer le modèle exprimant la dépendance de la mobilité électrophorétique avec la concentration du xanthane dans le régime étudié. Puis déterminer la relation reliant le potentiel zêta à la mobilité électrophorétique afin de voir l'effet de la force ionique ainsi que du pH.

3. 2. Etude de la dépendance de la mobilité électrophorétique à la concentration des solutions de xanthane

Les mesures de la mobilité électrophorétique des solutions de xanthane à différentes concentrations et à faible force ionique (3 mM d'azidure) sont présentées sur la figure 3.1. A noter qu'il a été difficile de mesurer la mobilité dans le régime dilué (des concentrations inférieures à 0.02%).

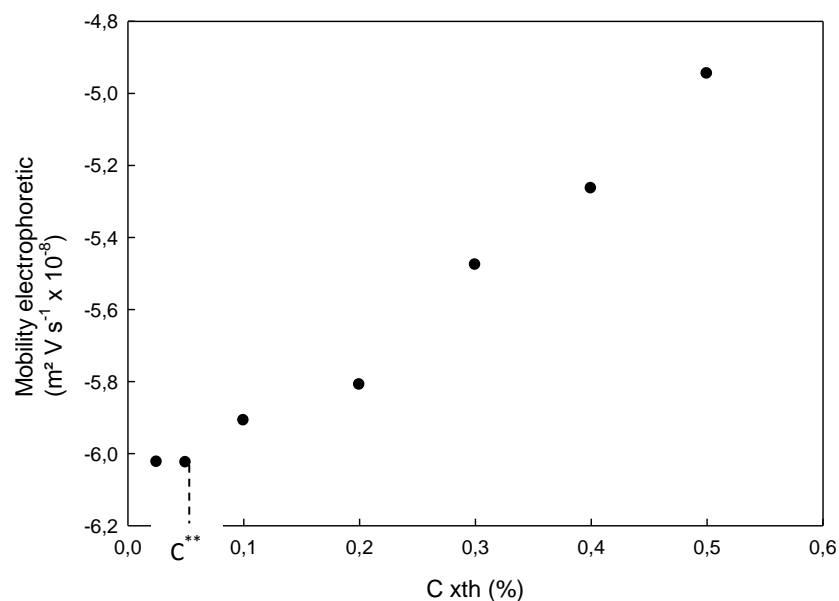


Figure 3.1 : Mobilité électrophorétique en fonction de la concentration des solutions de xanthane

Au vu de cette courbe, on peut départager le domaine de concentration en deux : (a) en deçà d'une certaine concentration (C^{**}), la mobilité paraît être insensible en dépit du régime semi dilué malgré la présence des interactions

intermacromoléculaires, et (b) au-delà de C^{**} , la mobilité diminue sensiblement (en valeur absolue). La valeur de C^{**} est aux alentours de 0.05%, elle est proche de celle trouvée par Southwick et al. (1981) et Rodd et al. (2000) et qui est de 0.07% [81]. Contrairement à Milas et al. (1990) qui avaient trouvé une valeur de 0.6 - 0.78% ainsi que Meyer et al. (1993) ($C^{**} = 0.2\%$) [137].

Ainsi, on peut considérer qu'on est dans le domaine concentré.

La dépendance de la mobilité à la concentration du xanthane peut être expliquée par trois théories : contribution du polysaccharide à la force ionique de la solution, théorie basée sur le modèle de la cellule ou bien la théorie basée sur les interactions de deux corps [135].

Beaucoup de méthodes de calcul étaient utilisées afin d'élaborer des modèles pouvant exprimer la variation de la mobilité électrophorétique avec la fraction volumique du polyélectrolyte. Pour les suspensions concentrées, les interactions hydrodynamiques et électrostatiques entre les particules deviennent importantes. La manière la plus simple et la plus efficace de tenir compte des interactions interparticules est d'utiliser le modèle de cellule de Kuwabara [138, 139]. Dans ce modèle chaque particule de rayon (a) est considérée être entourée par une coquille sphérique de la solution électrolytique, ayant un rayon extérieur (b) de telle sorte que le rapport volumique particule- solution dans une cellule unité est égal à la fraction volumique de la particule ϕ dans tout le système, comme c'est indiqué sur la figure 3.2.

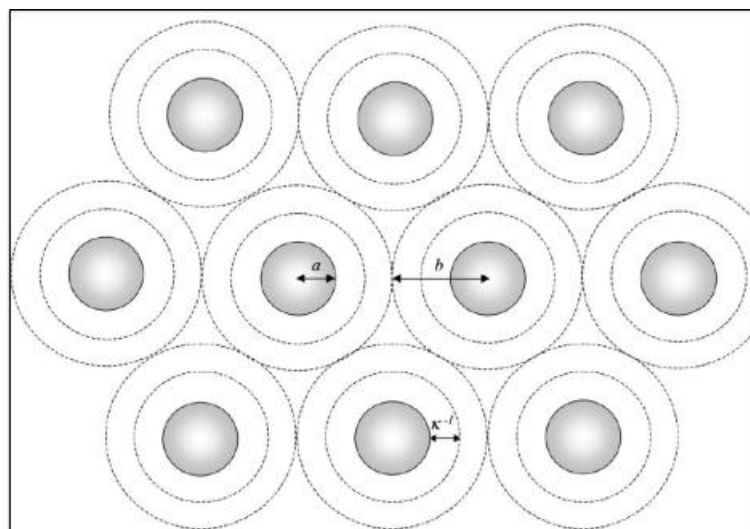


Figure 3.2. Image schématique d'un ensemble de particules sphériques dans une suspension concentrée selon le modèle de cellule de Kuwabara [138].

Dans le domaine de notre étude ($C > C^{**}$), et pour des particules ayant le même potentiel zêta, Anderson [134] a employé le modèle s'écrivant de la manière suivante :

$$\frac{\mu}{\mu_0} = \frac{1-0,32\varphi}{1+0,68\varphi} \quad (3.1)$$

Aussi Shugai, pour une mince double couche électrique, il a exprimé la mobilité électrophorétique en fonction de la fraction volumique par le modèle suivant [135] :

$$\mu_{sus} = \mu_0(1 + \alpha\varphi) \quad (3.2)$$

$$\text{Avec } \alpha = -\frac{3}{2} + \frac{K(\kappa a)}{f(\kappa a)}$$

L'ajustement de nos résultats par les modèles de Shugai et d'Anderson est présenté sur la figure 3.3. Une bonne concordance est bien observée avec le modèle de Shugai avec $\alpha = -0,373$.

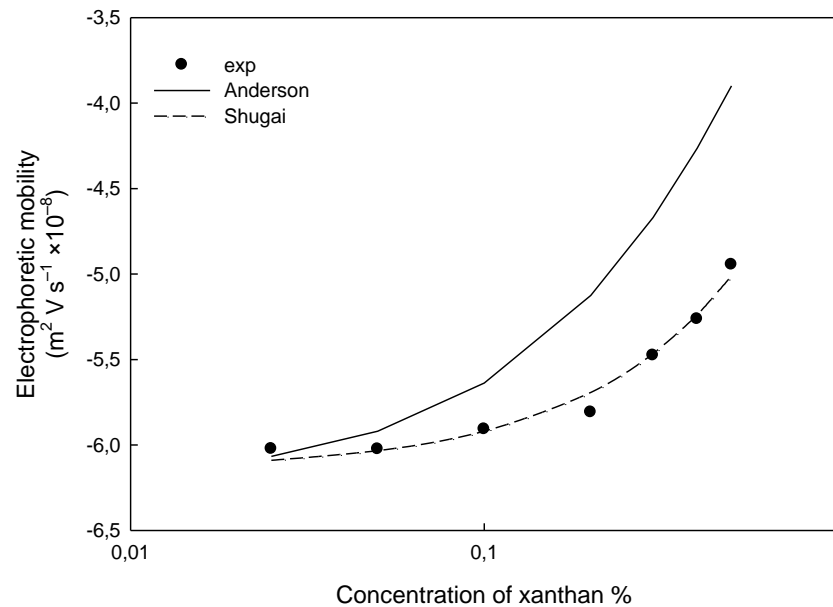


Figure 3.3. Ajustement des valeurs expérimentales avec les modèles de Shugai et d'Anderson

Cette diminution peut être expliquée par la contribution de la charge du xanthane à la forme ionique en solution, et les interactions hydrodynamiques dues à la formation des agrégats qui sont volumineux.

3.3. Détermination du potentiel zêta

Le phénomène électrocinétique dépend fortement de la double couche électrique et du potentiel zêta. Le potentiel zêta est une propriété de la surface chargée de la particule, elle devrait être indépendante de la méthode de mesure. La connaissance de ce paramètre est basée sur les théories électrocinétiques qui doivent être correctement posées dans le domaine de validité.

Il est important d'exprimer la mobilité électrophorétique en fonction du potentiel zêta. Pour cela, il faut trouver l'expression qui représente le mieux notre système.

Les modèles trouvés dans la littérature dépendent essentiellement du produit $\kappa \cdot a$, où κ^{-1} est l'épaisseur de la double couche électrique et a est le rayon de la particule. Il est donc indispensable de calculer cette grandeur.

3.3.1. Calcul de κa

Le produit $\kappa \cdot a$ est le rapport entre la taille de la particule, défini par son rayon a , et l'épaisseur de la double couche électrique κ^{-1} . Lorsque la particule est très grande devant la double couche électrique, le produit $\kappa \cdot a$ serait très grand ($\gg 1$) et lorsque, au contraire, la double couche est plus grande, le produit $\kappa \cdot a$ devient petit.

L'expression de l'épaisseur de la double couche est donnée par [109]:

$$\kappa^{-1} = \left(\sum_{i=1}^n \frac{n_i^{\infty} e^2 z_i^2}{\varepsilon \varepsilon_0 k_B T} \right)^{-1/2} \quad (3.5)$$

Où z_i est la charge des espèces ioniques, e est la charge d'un électron, ($= 1.6 \times 10^{-19}$ C); ε est la constante diélectrique statique du milieu ($= 78.5$), et ε_0 est la constante diélectrique de l'espace libre ($= 8.854 \times 10^{-12}$ C²/Nm²), k_B est la constante de Boltzman ($= 1.381 \times 10^{-23}$ J/K) et $T = 298^\circ\text{K}$. n_i^{∞} (m⁻³), est la densité des espèces ioniques dans un volume loin de la surface, où le potentiel électrique est nul. Il représente la concentration du nombre ionique et il est donné par:

$$n_i^{\infty} = M_i \times 1000 \times N_A \quad (3.6)$$

N_A est le nombre d'Avogadro ($= 6.022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$), M_i est la molarité (concentration molaire) de l'électrolyte (mol/L); 1000: pour convertir L au m^3 .

La valeur de κ^{-1} dépend de la concentration des électrolytes et de leurs valences. Ces deux paramètres varient, puisque justement l'objectif de l'étude est de voir l'effet du sel par sa concentration et sa valence. A noter qu'à ces concentrations s'ajoute les 3mM d'azidure de sodium (le conservateur) qui contribue aussi à la force ionique des solutions étudiées.

La solution électrolytique est composée donc de deux types de sels :

- KCl + NaN_3 (un mélange de 1-1 électrolytes dont la concentration est différente) ;
- CaCl_2 + NaN_3 (un mélange de 2-1 électrolyte + 1-1 électrolyte dont la concentration est différente également).

Pour ces deux cas, l'expression de κ^{-1} s'écrit comme suit [140] :

1^{er} cas : KCl + NaN_3 de concentrations n_1 et n_2 respectivement.

$$\kappa^{-1} = \left(\frac{2 e^2 (n_1 + n_2)}{\varepsilon \varepsilon_0 k_B T} \right)^{-1/2} \quad (3.7)$$

2^{ème} cas : CaCl_2 + NaN_3 de concentrations n_1 et n_2 respectivement.

$$\kappa^{-1} = \left(\frac{2 e^2 (3n_1 + n_2)}{\varepsilon \varepsilon_0 k_B T} \right)^{-1/2} \quad (3.8)$$

Après application des relations (3.7) et (3.8) et calcul, on trouve les valeurs de κ^{-1} présentées sur le tableau 3.1 en fonction des concentrations de KCl et de CaCl_2 . Au vu de ces valeurs, on voit bien que l'épaisseur de la double couche diminue avec l'augmentation de la concentration en électrolyte. Résultat évident du fait que l'électrolyte rajouté à la solution comprime cette double couche.

La valeur du rayon des particules de xanthane en solution est un paramètre difficile à obtenir. Les chercheurs, par utilisation de la DLS essentiellement, ont trouvé des résultats divergeant. Cela dépend du type de xanthane utilisé (poids moléculaire, degré d'acétylation, rayon de giration,...), de sa concentration

(régime dilué, semi dilué ou concentré) et de sa conformation qui dépend principalement de la force ionique et de la température.

Parmi les résultats trouvés dans la littérature, ceux de Nash paraissent les plus adéquats à notre cas [81]. Par application de la DLS, ils ont trouvé, pour une concentration de 0,1% de xanthane qu'il y a un seul mode à une fréquence de relaxation Γ de 200 s^{-1} .

Par application de la relation de Stokes- Einstein donnant le coefficient de diffusion D_0 d'une particule de forme quelconque, on a pu trouver la valeur du rayon hydrodynamique R_h , comme suit [141]:

$$D_0 = \frac{k_B T}{6\pi \cdot \eta_s \cdot R_h} \quad (\text{relation de Stokes-Einstein}) \quad (3.9)$$

Pour des solutions d'agrégats monodisperses, on a :

$$\Gamma = \frac{1}{\tau} = D \cdot q^2 \quad (3.10)$$

Avec

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \sin(\theta/2) \quad (3.11)$$

Où : $\lambda_0 = 488 \text{ nm}$ et $\theta = 90^\circ$ [142].

La valeur de a (R_h) ainsi calculée est de 640 nm .

Les résultats du calcul sont présentés dans le tableau (3.1)

Tableau 3.1 : Valeur de κ^{-1} en fonction de la concentration du sel rajouté

KCl			CaCl₂		
[KCl] (mM)	κ^{-1} (nm)	$\kappa \cdot a$	[CaCl ₂] (mM)	κ^{-1} (nm)	$\kappa \cdot a$
0	5,28	121,12	0	5,28	121,12
1	4,58	139,86	0,1	5,038	127,03
2,51	3,90	164,15	0,25	4,72	135,41
6,39	2,99	214,28	0,63	4,13	154,63
15,85	2,11	303,61	1,58	3,29	194,55
39,81	1,40	457,54	3,98	2,36	270,29
100	0,90	709,70	10	1,59	401,71

3.3.2. Calcul du ζ

Les valeurs de $\kappa.a$ ainsi calculées sont très grandes dans tout les cas de figure ($\kappa.a \gg 1$), et la mobilité n'est pas insensible à la concentration de l'électrolyte, comme on l'a bien vu dans la première partie de cette étude. La relation reliant la mobilité électrophorétique au potentiel zêta dépend des valeurs approximatives de ce dernier, calculées par la formule HS. Pour des valeurs inférieures à 50, on peut considérer que la formule HS est applicable et que les valeurs trouvées sont bonnes.

Pour les valeurs de potentiel zêta supérieures à 50 mV, et c'est la cas pour les faibles concentrations de sel, la théorie de HS n'est donc pas applicable. On doit utiliser des modèles plus élaborés. Deux possibilités se présentent : (i) les calculs numériques de O'Brien et White, et (ii) les équations dérivées par Dukhin et Semenikhin [109].

O'Brien simplifie la relation proposée, négligeant le paramètre $\kappa.a$, et il propose le modèle pour un z-z électrolyte symétrique donné dans la relation suivante, qu'on peut appliquer dans le cas du KCl (1-1 électrolyte) avec $z = 1$ [143]:

$$\frac{3}{2} \frac{\eta e}{\varepsilon_{rs} \varepsilon_0 kT} \mu = \frac{3}{2} y - \frac{6 \left[\frac{y}{2} - \frac{\ln 2}{z} \{1 - \exp(-zy)\} \right]}{2 + \frac{\kappa a}{1 + 3m/z^2} \exp\left(-\frac{zy}{2}\right)} \quad (3.12)$$

Avec :

η est la viscosité du milieu dispersant,

y est un nombre adimensionnel de potentiel zêta et il s'écrit comme suit:

$$y = \frac{e\zeta}{kT} \quad (3.13)$$

z est la charge des espèces ioniques = 1 ; κa le rapport entre le rayon de la particule colloïdale et l'épaisseur de la double couche électrique ; m est la mobilité adimensionnelle des ions, elle est donnée par la relation suivante :

$$m = \frac{2}{3} \left(\frac{kT}{e} \right)^2 \frac{\varepsilon_{rs} \varepsilon_0}{\eta D} \quad (3.14)$$

Où D est le coefficient de diffusion ionique. m est de 0,15 pour les solutions aqueuses [109].

En appliquant toutes les données présentées ci-dessus, on peut calculer les vraies valeurs du potentiel zêta représentant notre système étudié.

La figure 3.4 permet de faire une comparaison entre les prédictions des différents modèles proposés pour le calcul du potentiel zêta dans le cas de $\kappa \cdot a \gg 1$, à savoir HS et O'Brien. La courbe montre bien que les prédictions sont conditionnées par les valeurs du potentiel zêta. Lorsque celui-ci est petit, plus précisément ≤ 50 mV, les deux modèles sont confondus. Pour des valeurs plus grandes, une légère courbure prend naissance pour mettre en erreur le modèle de HS et donc il n'est plus valable dans ce domaine. La théorie d'O'Brien et White montre que lorsque le potentiel zêta augmente, la mobilité est plus petite que celle prédite par les calculs de HS. L'existence de la conduction à la surface peut expliquer ceci.

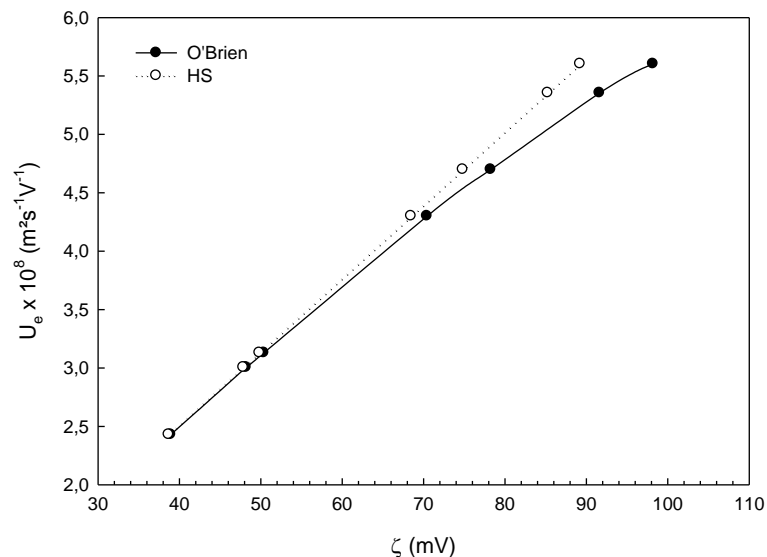


Figure 3.4 : Comparaison entre le potentiel zêta calculé par la formule HS et celle de O'Brien, pour une solution à 0,1% de xanthane à différentes concentrations de KCl.

Dans le cas de CaCl_2 , le modèle d'O'Brien n'est plus valable car ce n'est plus un électrolyte symétrique, il s'agit d'un 2-1 électrolyte. La relation proposée par Ohshima peut être appliquée, elle s'écrit comme suit [108]:

$$\mu = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0}{\eta} \left\{ \zeta + \frac{2F}{1+F} \left(\frac{kT}{e} \right) \ln \left[\frac{1}{2} \exp \left(-\frac{e\zeta}{2kT} \right) + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{1}{3} \exp \left(\frac{e|\zeta|}{kT} \right) + \frac{2}{3}} \right] \right\} \quad (3.15)$$

$$F = \frac{\sqrt{3}}{\kappa a} (1 + 3m_+) \left\{ \exp\left(\frac{e|\zeta|}{kT}\right) - 1 \right\} \quad (3.16)$$

Le paramètre F correspond au nombre de Dukhin, il est relié à la conductance de la surface ou bien au courant du contre-ion dans la double couche.

$$m_+ = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0 kT}{6\eta e^2} \lambda_+ \quad (3.17)$$

λ_+ est le coefficient du contre-ion (Ca^{2+}), il est défini en fonction de la conductance limite des espèces ioniques Λ_i° par la relation suivante :

$$\lambda_i = \frac{N_A e^2 |z_i|}{\Lambda_i^\circ} \quad (3.18)$$

La conductance limite du contre-ion Ca^{2+} à 25°C est de $\Lambda_{\text{Ca}^{2+}}^\circ$ est de $119.10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \Omega^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$.

3.4. Etude de l'effet de la force ionique sur le comportement électrocinétique des solutions de xanthane

Afin d'étudier l'effet de la force ionique sur le comportement électrocinétiques des solutions de xanthane, il a fallu d'abord convertir les valeurs de la mobilité électrophorétiques en potentiel zêta.

La force ionique des solutions de xanthane a été modifiée en ajoutant différentes concentrations de KCl et de CaCl_2 , on a mesuré à chaque fois la mobilité électrophorétique puis on a calculé le potentiel zêta correspondant à l'aide de la relation appropriée. La figure 3.5 présente l'évolution du potentiel zêta en fonction de la concentration du xanthane et du sel. Au vu de ces courbes, on peut constater les points suivants :

- Avant l'ajout du sel, les valeurs du potentiel zêta dépendent des concentrations du xanthane, comme ça a été démontré dans la première partie de cette étude. Plus la concentration en xanthane est importante, plus le potentiel zêta est grand.
- L'ajout de sel fait abaisser le potentiel zêta, la pente de cet abaissement est la même quel que soit la concentration de xanthane et le type de sel.

- Les valeurs du potentiel se rejoignent à une concentration maximale de sel
- Les valeurs du potentiel sont plus petites en présence de CaCl_2 qu'en présence de KCl.

La diminution du potentiel traduit la réduction des charges négatives sur les macromolécules de xanthane. Ceci doit être dû soit à l'écrantage (compression de la double couche électrique) ou l'adsorption des contre-ions (K^+ et Ca^{2+}) sur les sites anioniques du xanthane.

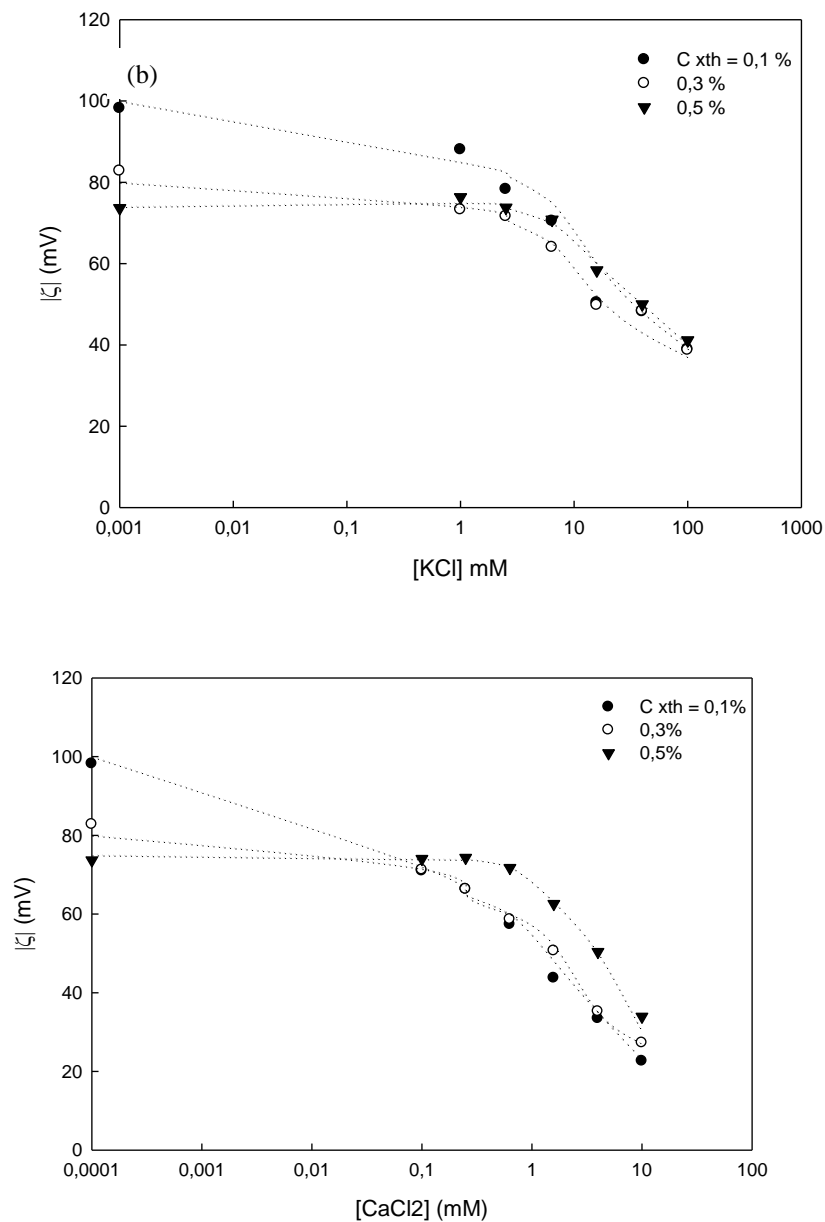


Figure 3.5 : Potentiel zêta des solutions de xanthane à différentes concentrations en fonction de la concentration en sel (a) monovalent (KCl), (b) divalent (CaCl_2)

Pour savoir s'il s'agit d'une adsorption ou d'un écrantage la détermination du point isoélectrique des solutions s'avère nécessaire.

3.3.1. Effet du pH sur le potentiel ζ des solutions xanthane:

L'effet du pH sur le potentiel ζ des solutions xanthane à 0.3%, en présence de chlorure de potassium et de chlorure de calcium est présenté sur la figure (3-6). Les valeurs du potentiel ont été calculées par l'équation de HS. Les résultats obtenus sont inférieurs à 50 et donc le modèle de HS est satisfaisant.

Au vu des courbes de la figure 3.6, les valeurs du potentiel zêta sont positives à faible pH, puis elles diminuent au fur et à mesure que le pH augmente jusqu'à ce qu'elles deviennent négatives en passant par le zéro. La valeur du pH à laquelle le potentiel zêta s'annule correspond au point isoélectrique (pI), ce dernier semble varier avec la concentration du sel. Le tableau 3.2 résume les différentes valeurs de potentiel zêta à pH avant et après le pI en fonction de la concentration de KCl et de CaCl₂ ainsi que les valeurs de pI déduites.

Tableau 3.2 : Variation du potentiel zêta avec le pH à différentes concentrations de KCl et de CaCl₂

[KCl] (mM)	ζ (mV) à pH=1.3	ζ (mV) à pH=1.9	p.I	[CaCl ₂] (mM)	ζ (mV) à pH=1.3	ζ (mV) à pH=2.3	p.I
1	2.4	-12.8	1.54	0.1	2.5	-26.6	1.45
2.51	4	-11.4	1.5	0.25	2.1	-24.7	1.37
6.39	4.5	-11.5	1.52	0.63	2.9	-24.1	1.43
15.85	4.8	-10.8	1.7	1.58	7.1	-25.8	1.75
39.81	6.6	-6.5	1.75	3.98	7.3	-14.8	1.77
100	9.7	-5	1.8	10	8.5	-15.2	1.8

Pour des concentrations de 1, 2.51 et 6.31 mM de KCl, la valeur du pI est aux alentours de 1.5. Elle augmente pour des concentrations de 15.85, 39.81 et 100 mM de KCl pour devenir entre 1.7 et 1.8. Ces résultats montrent bien que le potentiel zêta est sensible au pH ainsi qu'à la concentration en KCl.

Le même résultat est observé pour différentes concentrations de CaCl₂. Les valeurs du p.I augmentent progressivement avec la concentration du sel bivalent de 1.4 jusqu'à 1.8

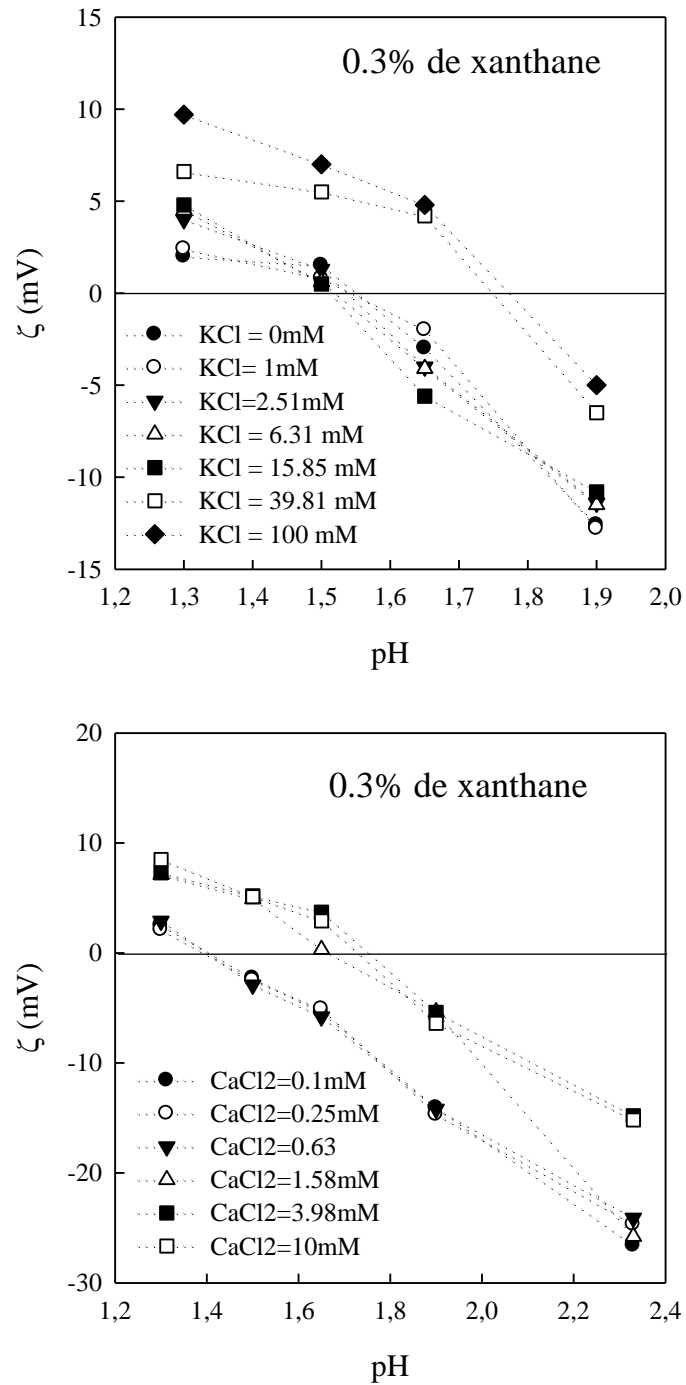


Figure 3.6 : Variation du potentiel zêta en fonction du pH et de la concentration de sel (a) monovalent (KCl) (b) divalent (CaCl₂).

La variation du pH nous a permis de trouver le point isoélectrique (pour lequel la valeur du potentiel zêta s'annule) des solutions de xanthane. Ce point isoélectrique est déplacé vers la droite lorsque la concentration en sel dépasse 15.85 mM pour KCl et 1.58 mM de CaCl₂. Ceci veut dire que les ions provenant du

sel (K^+ ou Ca^{2+}) ne se comportent pas comme des ions indifférents se contentant seulement de compresser la double couche électrique ; cela confirme l'adsorption de ces ions aux sites anioniques du xanthane, réduisant ainsi sa charge et d'où l'augmentation de la valeur du point isoélectrique.

3.5. Conclusion

Au terme de cette étude, il a été trouvé que la mobilité électrophorétique des solutions de xanthane dans le régime concentrée ($C > C^{**}$) dépend de sa concentration. Cette dépendance a été attribuée à la contribution de la charge du xanthane à la force ionique de la solution. Les résultats expérimentaux ont obéi au modèle de Shugai.

L'équation reliant le potentiel zêta à la mobilité électrophorétique est celle d'Helmholtz–Smoluchowski puisque les particules sont grandes et leurs tailles et beaucoup plus importante que l'épaisseur de la double couche électrique ($a \gg \kappa^{-1}$), plus un facteur prenant en compte l'effet de relaxation du aux valeurs élevées du potentiel. Ce facteur dépend de la charge de la surface de la particule colloïdale (qui est anionique pour le xanthane) et de la valence du sel rajouté. Parmi les modèles proposés dans la littérature, on a opté pour la relation d'O'Brien dans le cas de KCl (1-1 électrolyte) et celle d'Ohshima dans le cas de $CaCl_2$ (2-1 électrolyte).

Il a été trouvé également, que le sel est susceptible de modifier la structure du xanthane en s'adsorbant sur les sites anioniques de ce dernier, réduisant ainsi son potentiel zêta. Ceci a été déduit par le déplacement du point isoélectrique lorsque la concentration du sel augmente.

CHAPITRE 4

ETUDE DE LA RHEOLOGIE DU XANTHANE EN SOLUTION

4.1. Introduction

La rhéologie est définie comme étant une discipline qui traite l'écoulement et/ou la déformation des fluides sous l'action de la contrainte. 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. 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.

Dans cette partie du travail, on s'intéresse à l'étude du comportement rhéologique des solutions de xanthane, à différentes concentrations et à différentes forces ioniques, traitée expérimentalement selon deux types d'expériences : une analyse de la viscoélasticité des solutions en régime linéaire et une analyse sous écoulement en dehors du régime linéaire.

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.

On s'est également intéressés à l'étude du polysaccharide sous cisaillement oscillatoire en fonction de la température, afin de voir l'effet de celle-ci sur son comportement, ainsi de pouvoir présenter les courbes maitresses à une température référence de 20°C.

4.2. Test de viscoélasticité

L'analyse du comportement viscoélastique des solutions de xanthane a été réalisée à différentes concentrations de xanthane (de 0,1 à 0,5% g/g) et différentes concentrations de KCl (de 0 à 100 mM) et de CaCl_2 (de 0 à 10 mM). A l'issue de cette analyse, on a retenu les valeurs du module de conservation, G' exprimant la rigidité du système et le module de perte G'' représentant la composante visqueuse du gel.

La figure 4.1 représente G' et G'' en fonction de la déformation. Dans tout le domaine balayé de la courbe de viscoélasticité du xanthane, $G' > G''$ ce qui confère à nos solutions le caractère « Gel ». Pour de faibles déformations, G' et G'' enregistrent un palier ce qui correspond au domaine de viscoélasticité linéaire. Au fur et à mesure que la déformation augmente, les deux modules accusent une chute. On peut dire que le matériau devient relativement plus dissipatif avec une rigidité plus faible tout en gardant le caractère gel.

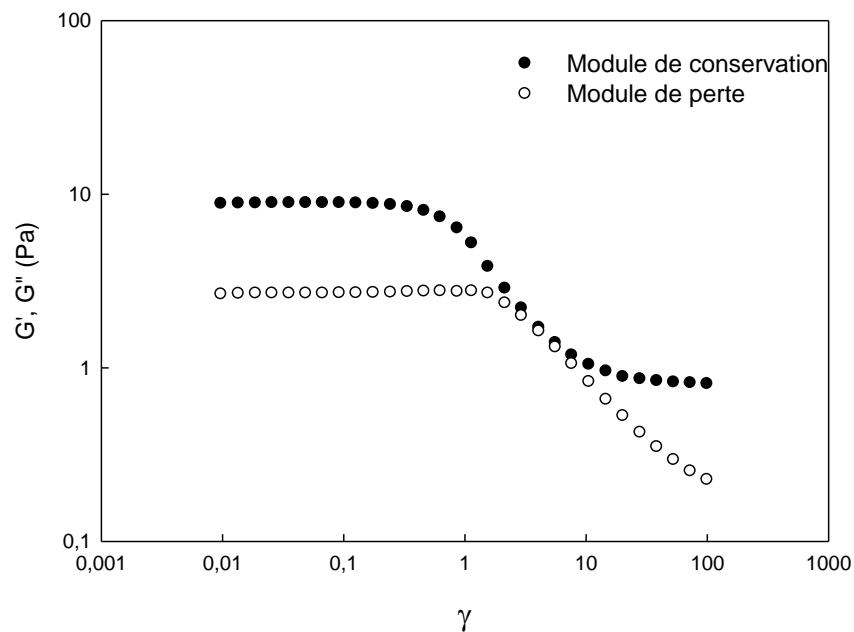


Figure 4.1 : Courbe de viscoélasticité d'une solution de xanthane à 0,3% exempte de sel.

La figure 4.2 représente le module de conservation G' en fonction de la déformation, à différentes concentrations de xanthane sans rajout de sel. Au vu de cette courbe, on constate que plus la solution est concentrée en xanthane plus la rigidité est importante. Beaucoup de travaux ont été faits sur la molécule de

xanthane et confirment que le xanthane natif a une structure double hélicoïdale qui lui confère son caractère rigide [14].

E. Choppe et al. (2010) [144], en revanche ont montré que G' reste insensible à la concentration, dans le domaine (0,3 – 2%), à diverses forces ioniques (3 - 100 mM). Ils ont expliqué ceci par le fait que les solutions du xanthane sont dans le régime semi dilué et donc les molécules s'interagissent sans pour autant s'enchevêtrer. A noter qu'il a été démontré, dans le chapitre précédant, par la mobilité électrophorétique que la concentration critique, C^{**} , correspondant au début du régime concentré, est aux alentours de 0,05%.

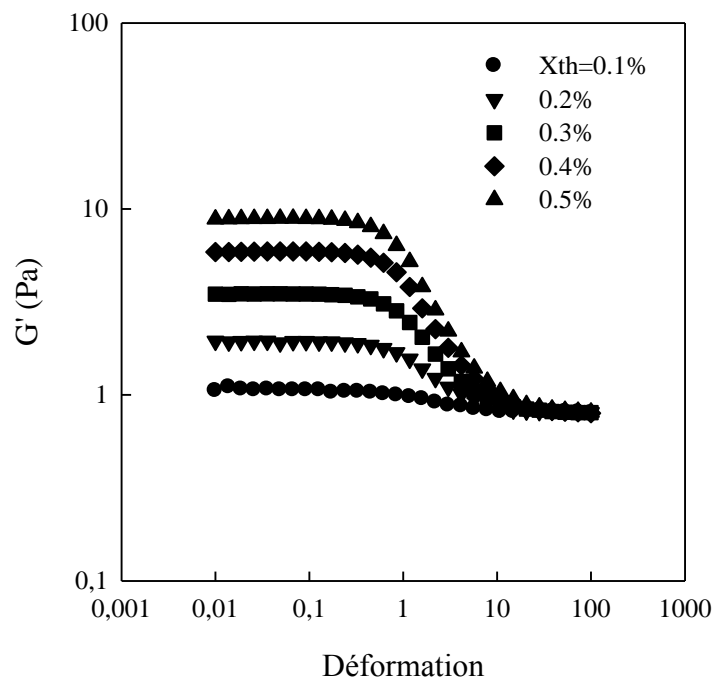


Figure 4.2 : Variation du module de conservation en fonction de la déformation des solutions de xanthane à différentes concentrations.

Nous avons également tracé les courbes de viscoélasticité avec différentes concentration de sel. Le sel rajouté n'a pas un effet notable sur le comportement viscoélastique des solutions étudiées.

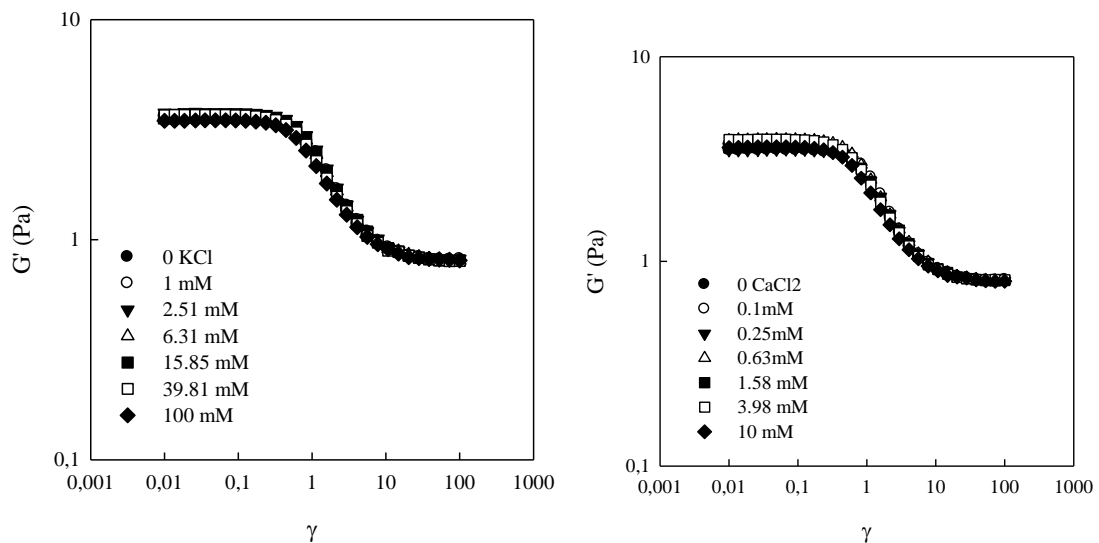


Figure 4.3. Viscoélasticité d'une solution à 0.3% de xth à différentes concentrations de KCl et de CaCl_2

Le rajout de sel monovalent ou divalent n'a pas modifié le comportement viscoélastique des solutions ni leur rigidité (les courbes sont quasiment confondues sur la figure 4.3), alors que normalement il devait diminuer le module de conservation à cause de la réduction des interactions répulsives intramoléculaires. Cependant, quand la concentration de sel dépasse un certain seuil, les ions monovalents peuvent établir, avec de l'eau, un réseau. Ils pourraient former des enchevêtrements polyanion-cation-eau-cation-polyanion avec les chaînes adjacentes en protégeant la répulsion électrostatique des groupements carboxylate [145]. Au fait, le réseau formé par le xanthane dans le régime concentré est tellement rigide, si bien que la force ionique n'a pas d'impact.

4.3. Test d'écoulement

Les courbes d'écoulement des solutions exemptes de sel à différentes concentrations de xanthane sont présentées sur la figure 4.4. Ces solutions ont un comportement newtonien à faible et à fort cisaillement et un comportement rhéofluidifiant aux vitesses intermédiaires, traduisant le comportement structural du xanthane. A faible vitesse de cisaillement les liaisons physiques résistent à l'écoulement. Au fur et à mesure que la vitesse augmente, le cisaillement provoque des phénomènes de rupture des liens physiques dont les cinétiques gouvernent l'évolution de la structure globale du système. Lorsque le cisaillement

est très fort, les macromolécules sont complètement dispersées et orientées suivant l'écoulement et leur résistance devient constante et par la même la viscosité.

Beaucoup de modèles rhéologiques expriment la relation entre la viscosité apparente et la vitesse de cisaillement. Parmi les modèles qui décrivent le comportement structural décrit ci-dessus associé à nos solutions, nous avons opté pour le modèle de Carreau (4.1). Ce modèle nous permet d'avoir les valeurs des viscosités au repos (low shear viscosity).

$$\eta = \frac{\eta_0 - \eta_{inf}}{(1 + (k \cdot \dot{\gamma})^2)^p} \quad (4.1)$$

Où η est la viscosité apparente (Pa.s), $\dot{\gamma}$ est la vitesse de cisaillement (s^{-1}), η_0 est la viscosité à faible vitesse de cisaillement (au repos), η_{inf} est la viscosité estimée à vitesse de cisaillement infinie, k est une constante caractéristique relative au temps de relaxation du polymère en solution, et p est un indice de structure.

Le modèle de Carreau a bien décrit le comportement structural des solutions de xanthane avec un coefficient de corrélation élevé ($R^2 > 0.99$).

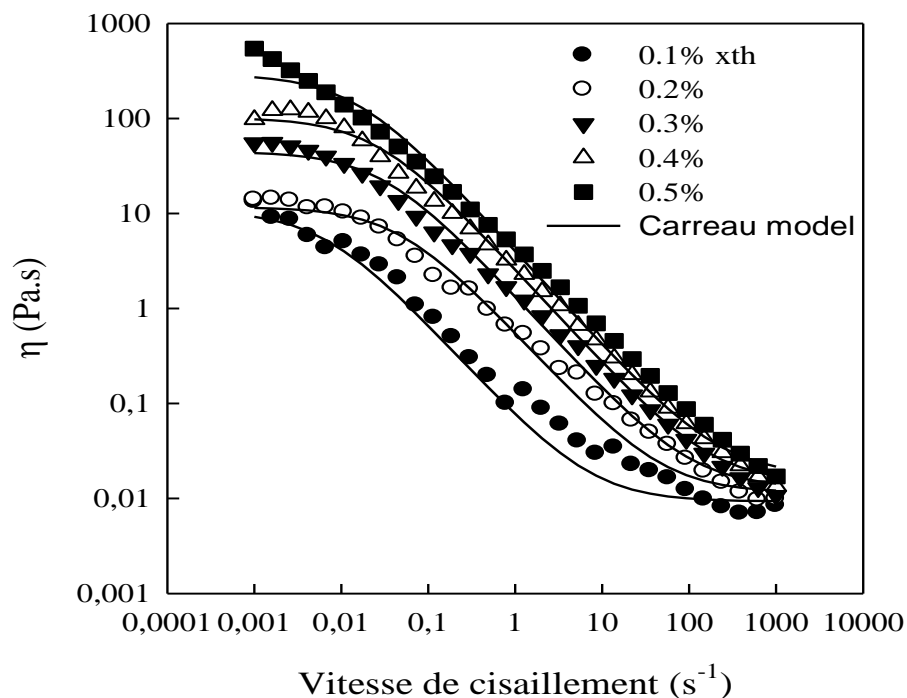


Figure 4.4 : Courbes d'écoulement des solutions de xanthane à différentes concentrations avec 3mM de Na^+

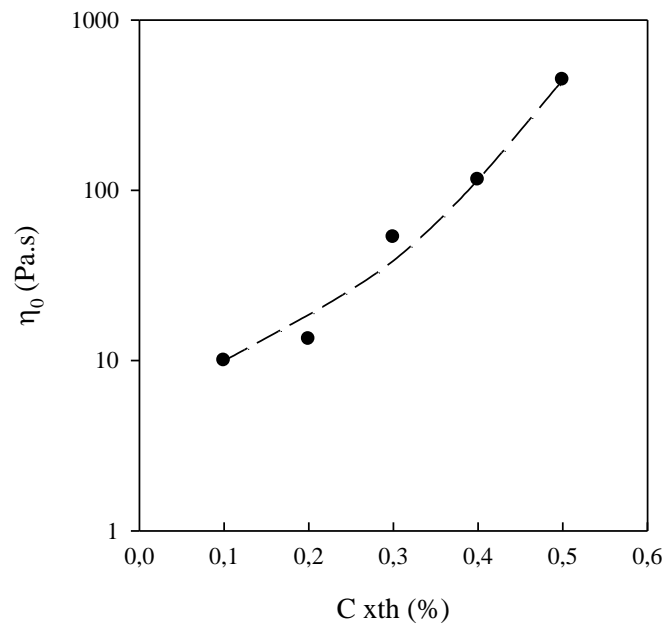


Figure 4.5 : Variation de la viscosité en fonction de la concentration de xanthane

La viscosité à faible cisaillement des solutions de xanthane (η_0) augmente fortement avec l'augmentation de la concentration du polymère, au regard de la figure 4.5. Ce comportement est attribué aux interactions intermoléculaires ou enchevêtrement, augmentant les dimensions de la macromolécule ainsi que son poids moléculaire [42]. La même allure et la même dépendance a été également trouvée récemment par E. Choppe et al [144].

4.3.1. Effet de la force ionique sur les courbes d'écoulement du xanthane

L'ajout de sel n'a pas modifié le comportement rhéologique des solutions de xanthane comme le montre bien les figures (4.6) et (4.7), ce qui nous a permis de modéliser ces courbes d'écoulement par le même modèle rhéologique pour pouvoir faire un zoom à faibles vitesses de cisaillement et faire ressortir la viscosité au repos. Les valeurs de cette dernière sont tracées en fonction de la concentration de KCl et de CaCl₂ respectivement sur les figures (4.8) et (4.9).

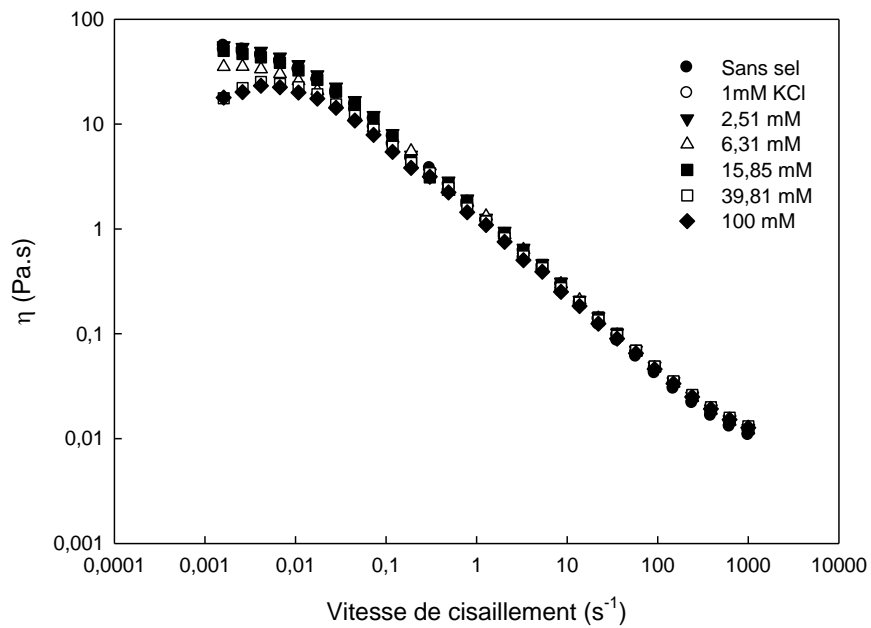


Figure 4.6 : Courbes d'écoulement de solutions de xanthane à 0,3% avec différentes concentrations de KCl

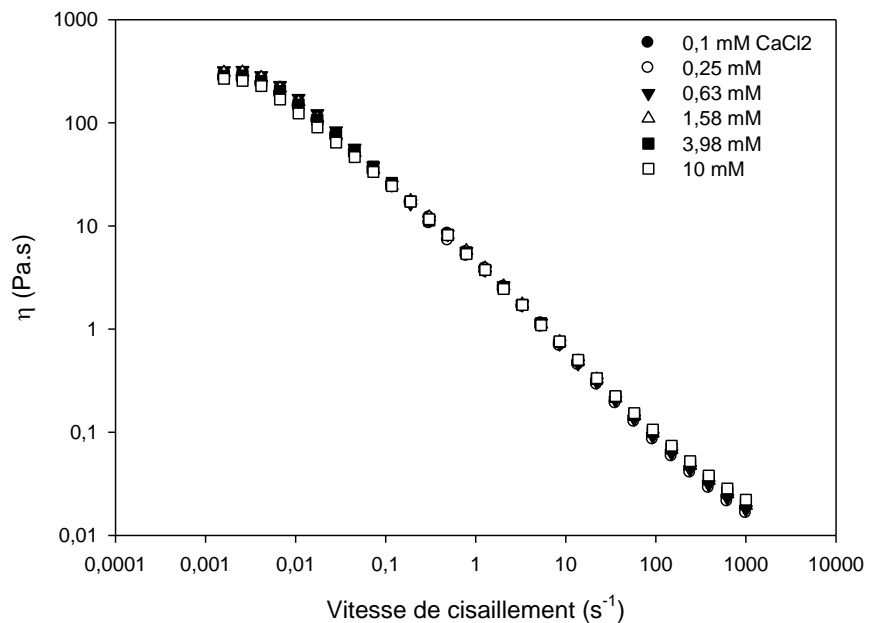


Figure 4.7 : Courbes d'écoulement de solutions de xanthane à 0,5% avec différentes concentrations de CaCl_2

On remarque que les valeurs de la viscosité ne varient presque pas avec la concentration du sel, alors que ce dernier devrait la faire diminuer puisque les contre-ions K^+ et Ca^{2+} s'adsorbent aux sites anioniques de la macromolécule et

donc ils diminuent les interactions répulsives entre le squelette principale et les chainons latéraux menant au repliement de la structure et à la réduction de sa viscosité [146, 147]. Cet effet de sel ne paraît pas sur les solutions concentrées de xanthane. En effet, dans le domaine concentré les interactions sont déjà importantes. A 0,5% ($C \gg C^*$), la solution est à son encombrement maximale et le réseau n'est plus conditionné par le sel.

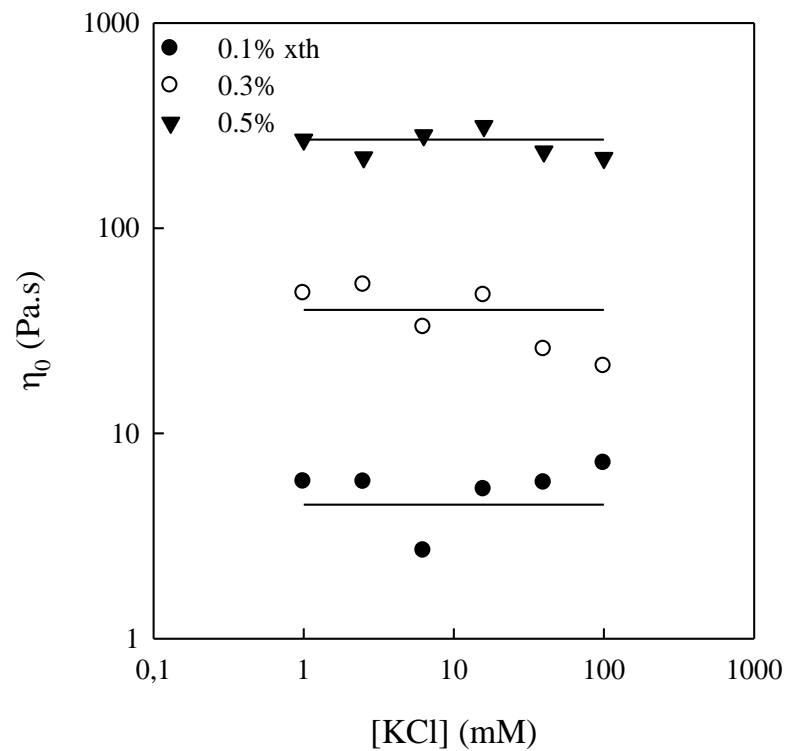


Figure 4.8 : Variation de la viscosité au repos η_0 avec la concentration de KCl.

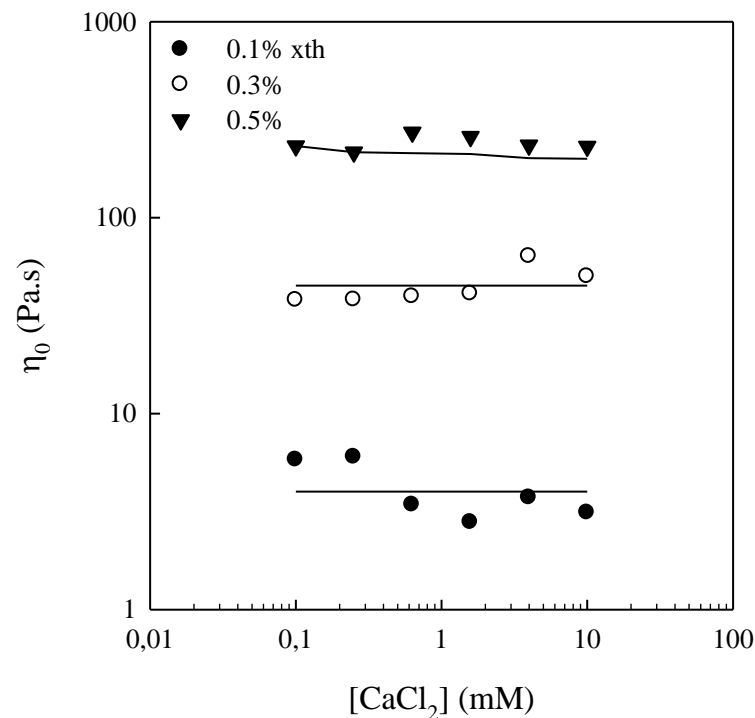


Figure 4.9 : Variation de la viscosité au repos η_0 avec la concentration de CaCl_2 .

4.3.2. Effet du pH sur les courbes d'écoulement du xanthane

Afin de mettre en évidence le changement de la conformation des macromolécules du xanthane, lorsqu'on passe du caractère anionique au caractère non ionique, les courbes d'écoulement des solutions polymériques ont été déterminées pour un pH neutre (= 7.41) et pour un pH = pI (point isoélectrique). A l'issue de ce test, on obtient les courbes présentées sur la figure (4.10).

L'examen de cette courbe montre que la viscosité de la solution associée au pI est en dessous à celle spécifique au pH neutre. Ceci laisse supposer qu'il y a eu un changement au niveau de la conformation de la macromolécule du xanthane. En effet, au pH = 7.41, le xanthane est anionique, et développent en conséquence des interactions répulsives électrostatiques au sein de la macromolécule entre le squelette (la chaîne principale) et les chaînons latéraux. En conséquence, la macromolécule du xanthane, sous l'effet des interactions de répulsions électrostatique va s'étendre et aura un volume hydrodynamique plus important et par la même une viscosité grande.

En revanche, au pI , la molécule du xanthane devient neutre, si bien que les interactions répulsives vont disparaître pour laisser seuls les interactions attractives. Il y aura alors un rapprochement des chaînons latéraux de la chaîne principale et un repliement de la macromolécule. Ainsi, le volume hydrodynamique diminue entraînant la réduction de la viscosité.

Cependant, les deux courbes paraissent se joindre pour une vitesse de cisaillement élevée, car dans ce domaine la macromolécule est soumise principalement aux forces de répulsion de cisaillement.

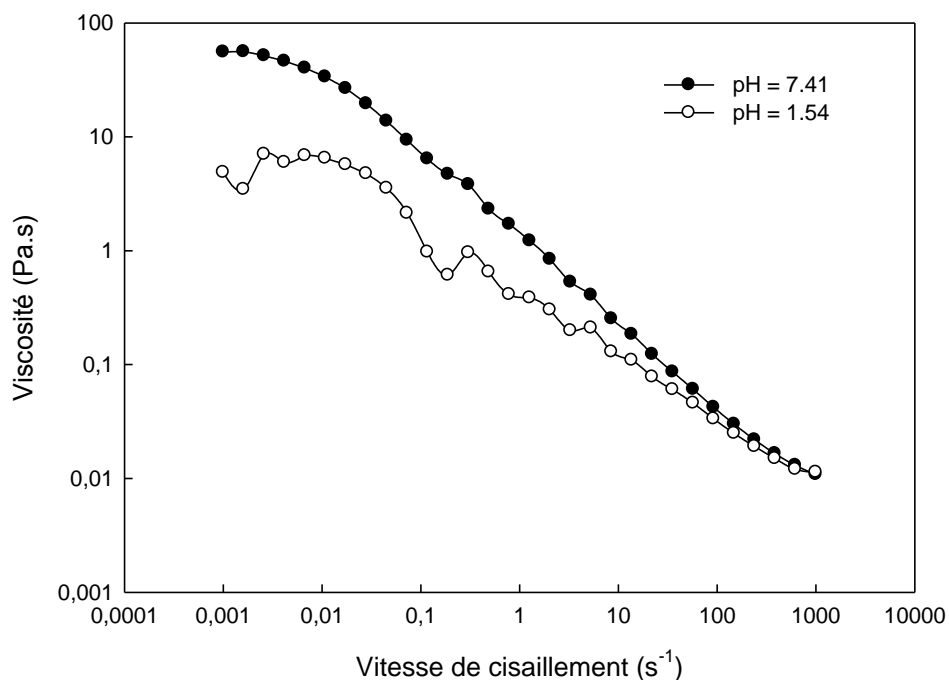


Figure 4.10 : Courbes d'écoulement de la solution en xanthane à $pH=7,41$ et à $pH=pI$.

4.4. Viscoélasticité des solutions de xanthane en fonction de la température

Des mesures préliminaires des modules de cisaillement en fonction de la température ont montré que les résultats du premier chauffage et le refroidissement entre 20 et 80°C étaient différents, comme le montre bien la figure 4.11. Ce phénomène a été étudié en détail par Capron et al. [148] et ils avaient attribué le chauffage à une dénaturation du xanthane natif. Le xanthane dénaturé est renaturé après refroidissement, mais sa structure est différente du

xanthane natif. Afin d'éviter cette ambiguïté de l'état du xanthane en solution, on a préchauffé toutes les solutions pour que les résultats soient indépendants de tout traitement thermique antérieur. Il s'agit donc d'étudier des solutions de xanthane renaturées.

La figure 4.12 montre les modules de conservation G' et de perte G'' en fonction de la fréquence d'une solution de xanthane sans sel (3mM de NaN_3) à différentes températures (10, 50 et 80°C). Cette courbe montre qu'à 80°C le système se comporte comme un liquide dans tout l'intervalle de fréquence étudié ($G' < G''$). A 50°C, G' coupe G'' à $f = 0.24$ Hz. A 10°C par contre le système se comporte comme un solide dans tout le domaine de fréquence ($G' > G''$).

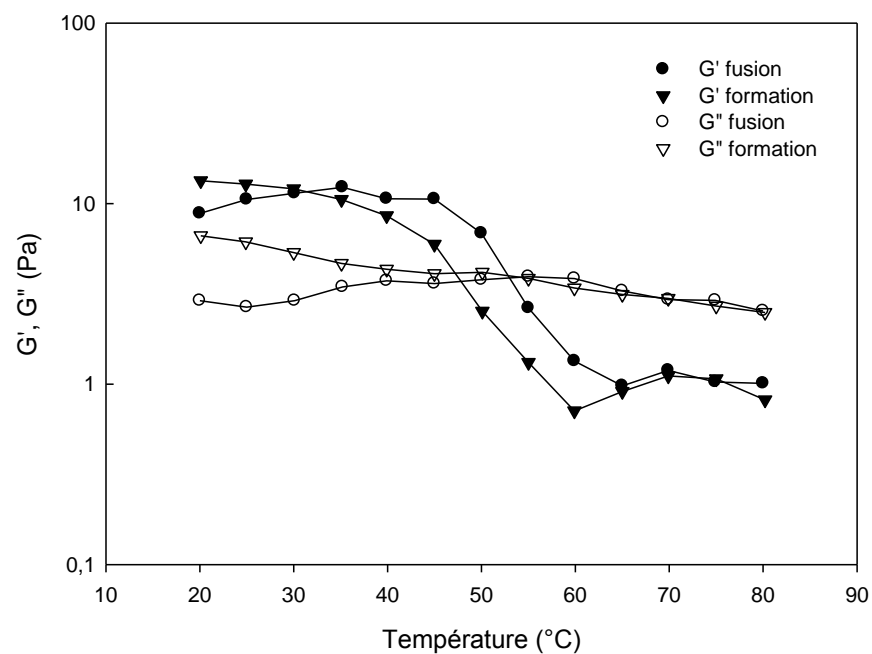


Figure 4.11 : Modules G' et G'' en fonction de la température, lors du chauffage et du refroidissement d'une solution de xanthane.

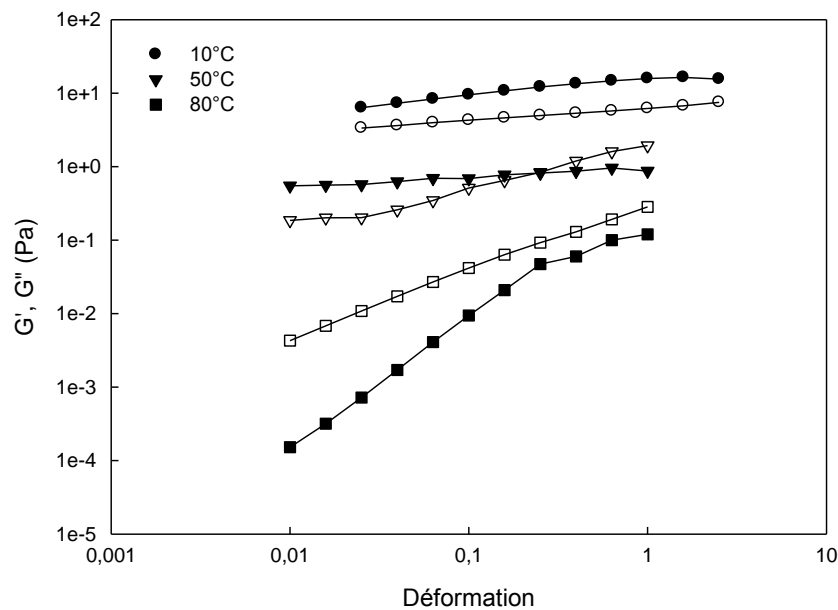


Figure 4.12. Les modules de conservation et de perte en fonction de la fréquence d'une solution de xanthane, à 3 températures. Les symboles pleins représentent G' et ceux creux représentent G'' .

Les courbes maitresses de G' et G'' ont été tracées en faisant un décalage horizontal et vertical. Les résultats sont représentés sur la figure 4.13 avec une température de référence de 20°C . Cette courbe montre une bonne superposition température- fréquence dans tout le domaine de température considéré, à savoir de 10 à 80°C . Ces courbes montrent que les solutions de xanthane sont viscoélastiques avec un comportement de liquide à basses fréquences et un comportement de solide à hautes fréquences. Le changement de comportement du solide au liquide se fait à une température de 50°C et une fréquence de $0,1$ Hz. Cette température correspond à la température de fonte du polysaccharide étudié.

Les coefficients de décalage horizontal (a_T) et vertical (b_T) utilisés pour la superposition Fréquence- température sont présentés sur la figure 4.14. a_T représente la variation des temps de relaxation et b_T représente la variation de l'amplitude du module élastique. On note que lorsque la température est basse les coefficients de décalage sont obtenus avec meilleure précision, contrairement aux températures les plus élevées. Le coefficient a_T diminue avec l'augmentation de la température jusqu'à 50°C . Au-delà de cette température, la pente de la diminution de ce coefficient est encore plus importante. On pourrait associer la température à

laquelle la pente de la diminution augmente, au changement conformationnel du xanthane. En effet, à faible température, le xanthane adopte la conformation double hélicoïdale. Lorsque la température augmente, les macromolécules s'enroulent en pelote. Quant à b_T , lorsque la température augmente, il diminue moins fortement, d'une décade uniquement.

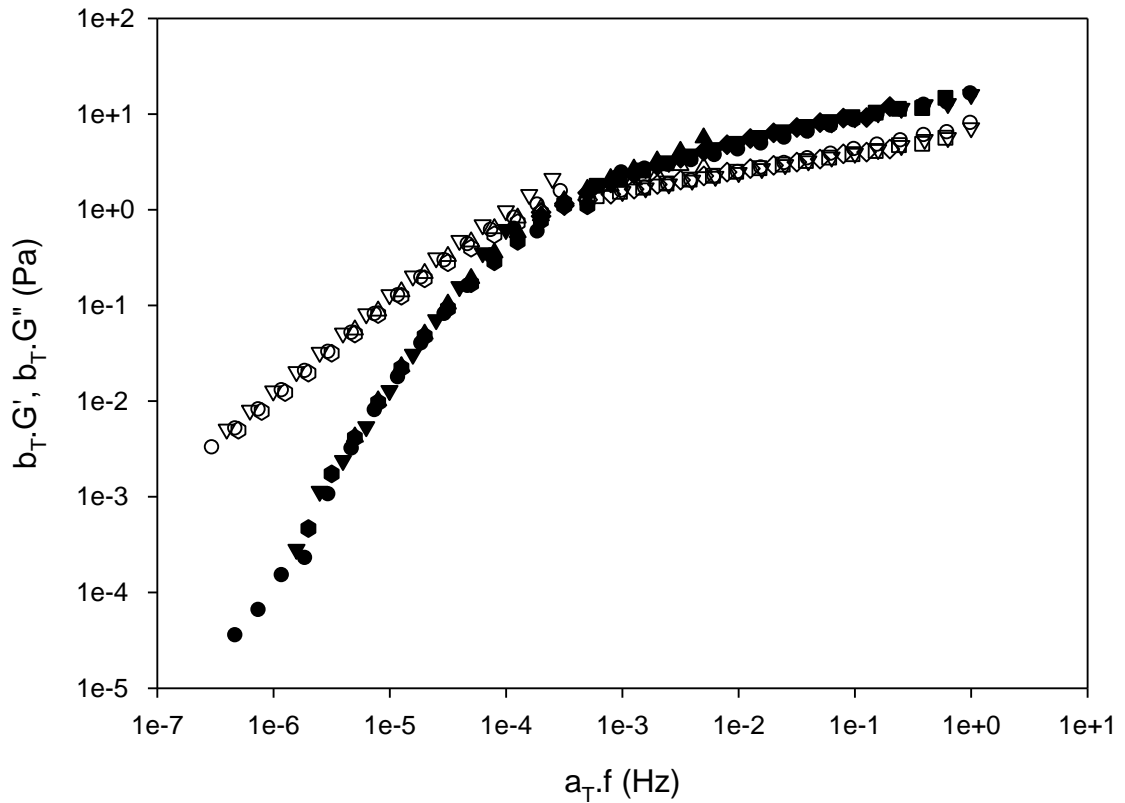


Figure 4.13. Courbes maitresses des modules de conservation et de perte en fonction de la fréquence d'une solution de xanthane sans sel (3mM de NaN_3), à une température de référence de 20°C.

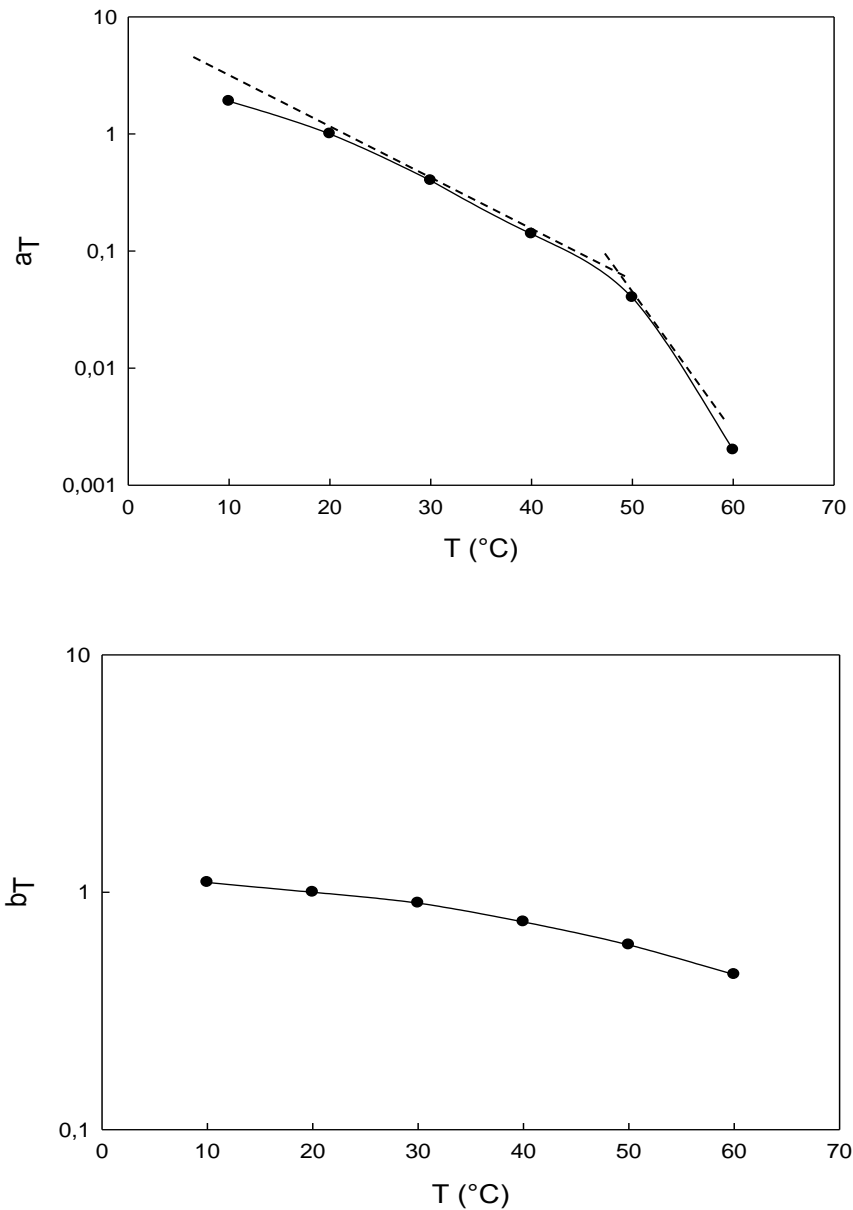


Figure 4.14. Les coefficients de décalage horizontal (a_T) et vertical (b_T) utilisés pour obtenir les courbes maitresses, en fonction de la température.

4.4.2. Effet de l'ajout du caséinate sur les courbes maitresses des solutions de xanthane :

Le comportement rhéologique du mélange protéine/ polysaccharide en solution mérite d'être étudié, car il pourrait nous renseigner sur les interactions qui peuvent naitre entre les deux macromolécules. En effet, cette étude a été réalisée dans le travail de thèse de A. Hadj Sadok (2009) [141] qui a mis en évidence des

interactions ségrégatives, sous certaines conditions de concentrations, menant à une séparation de phase et il a même établi leur diagramme de phase [149, 150].

Dans cette partie de l'étude, on s'intéresse à l'effet de la température sur les propriétés viscoélastiques du mélange.

La courbe maitresse présentée sur la figure 4.15 a été tracée à une température de référence de 20°C, en faisant des décalages horizontaux et verticaux. On remarque que la température à laquelle le comportement du mélange s'inverse du solide au liquide n'est pas la même température que la solution de xanthane seul, ni la fréquence d'ailleurs. La température de fonte est de 60°C à une fréquence de 0,04 Hz.

Au regard de la figure 4.16, présentant les courbes des coefficients de décalage horizontal, a_T , et vertical, b_T , on pourrait tirer la même valeur de température de fusion, qui est de 60°C. Cette valeur correspond à l'augmentation de la pente de la diminution de a_T avec la température. La variation de b_T par contre pour le mélange est pratiquement la même que pour les solutions de xanthane seul. Il diminue uniquement d'une seule décade.

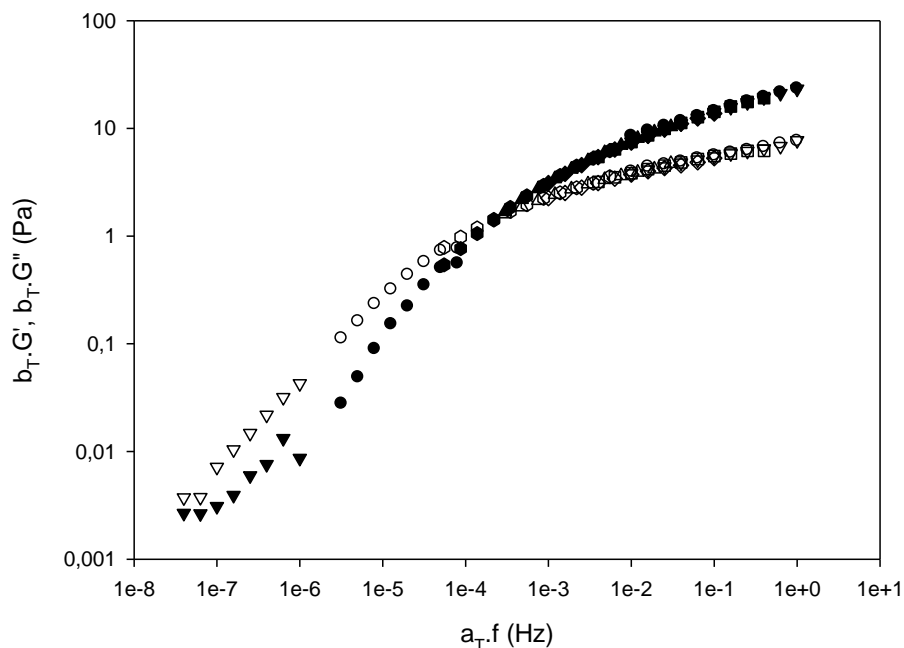


Figure 4.15. Courbes maitresses des modules de conservation et de perte en fonction de la fréquence du mélange constitué de 1% de caséinate de sodium et de 2% de xanthane à une température de référence de 20°C.

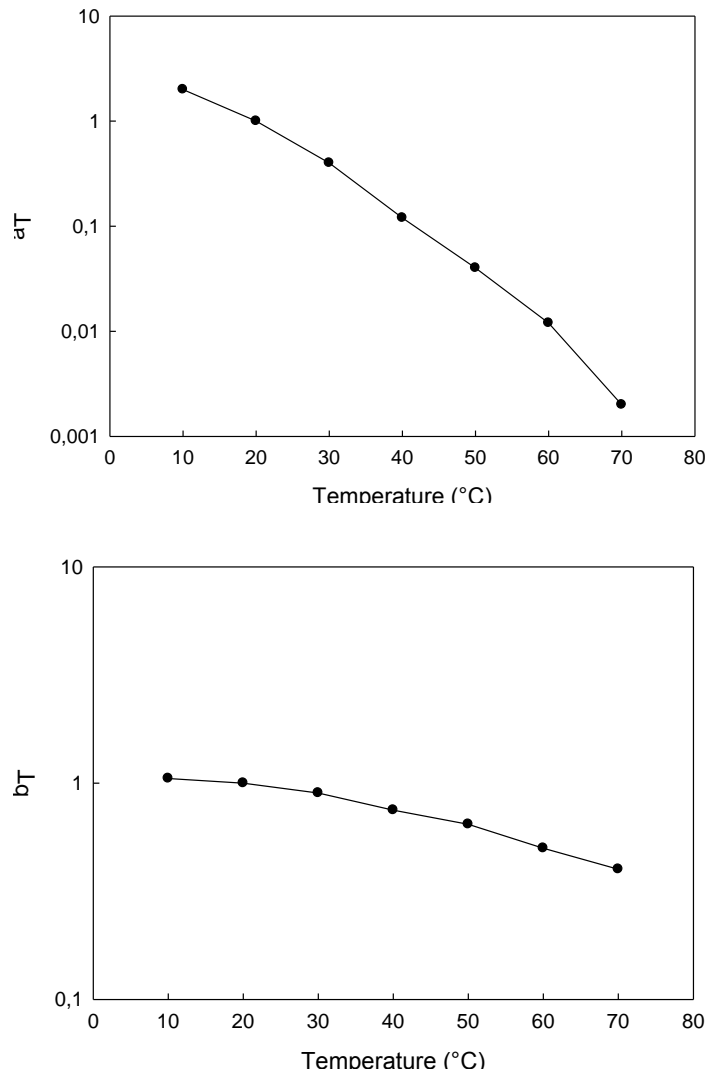


Figure 4.16. Les coefficients de décalage horizontal (a_T) et vertical (b_T) utilisés pour obtenir les courbes maitresses du mélange xanthane/ caséinate, en fonction de la température.

4.5. Conclusion :

Au terme de cette étude, il a été conclu que la rigidité des solutions de xanthane augmente avec la concentration, ceci a été attribué à sa structure double hélicoïdale à l'état natif.

L'augmentation de la force ionique des solutions de xanthane en ajoutant du sel monovalent et bivalent à différentes concentrations n'a pas modifié ni le caractère viscoélastique du xanthane ni sa rigidité. L'intervalle de concentration des solutions étudiées correspond au régime concentré ($C > C^{**}$), dans lequel le

système est suffisamment rigide et les interactions inter macromoléculaires sont déjà importantes que l'effet de la force ionique ne se fait pas sentir.

La modélisation des courbes d'écoulement à l'aide du modèle de carreau nous a permis de faire ressortir la viscosité au repos. Cette dernière augmente avec l'augmentation de la concentration traduisant sa rigidité. Aussi, ce paramètre était insensible à la force ionique.

La viscosité des solutions du xanthane à $\text{pH} > \text{pI}$ est plus importante, car les macromolécules sont anioniques et développent des interactions répulsives électrostatiques entre le squelette principal et les chaînons latéraux. La macromolécule s'ouvre, induisant l'augmentation de la viscosité. A $\text{pH} = \text{pI}$, la molécule du xanthane devient neutre et les chaînons latéraux se rapprochent de la chaîne principale, générant le repliement de la macromolécule. Ainsi la viscosité est réduite.

L'étude de la viscoélasticité du xanthane en fonction de la température nous a permis de tracer les courbes maitresses à une température de référence de 20°C , en faisant un décalage horizontal sur la fréquence et un décalage vertical sur les modules viscoélastiques. Ces courbes étaient parfaitement superposables. Les solutions de xanthane se comportent comme un liquide à haute température et elles ont le comportement d'un solide à faible température.

Le rajout du CnNa aux solutions de xanthane a rendu le système plus rigide et plus résistant à la température, puisque il a fait augmenter la température de fonte du système colloïdal.

Cette dernière partie, relative à l'étude de l'effet de la température sur le comportement viscoélastique, mérite d'être approfondie. Il serait intéressant de voir l'effet de la concentration du xanthane et du caséinate ainsi que l'effet de la force ionique sur les courbes maitresses.

CHAPITRE 5

ETUDE DE LA FORMATION ET DE LA STABILITE D'UNE EMULSION HUILE DANS EAU A BASE DE XANTHANE ET DE CASEINATE DE SODIUM.

5.1. Introduction

On s'intéresse dans cette partie de travail à l'étude des propriétés viscoélastiques et la stabilité des émulsions à base de caséinate de sodium, de xanthane et de tween 20, se traduisant respectivement par le module de conservation dans le domaine linéaire G' issu de l'étude de la viscoélasticité des émulsions préparées, et l'indice de crémage IC tiré des observations macroscopique de l'évolution des émulsions au cours du temps.

Notre intérêt s'est porté sur le caséinate de Sodium, protéine très utilisée de part ses propriétés émulsifiantes et sa structure macromoléculaire, le xanthane qui est un polysaccharide hydrocolloïdal souvent employé comme agent stabilisant et viscosifiant et le tween 20 qui possède d'excellentes propriétés de surface et de bas poids moléculaire. Quant à la phase dispersée choisie est l'huile de tournesol.

L'objectif de cette étude est de comprendre les mécanismes responsables du comportement et de la stabilité des émulsions, en déterminant les effets de la concentration de chacun des constituants sur les propriétés viscoélastiques de l'émulsion.

5.2. Etude rhéologique

Parmi les différents tests rhéologiques, on s'intéresse à l'étude de la viscoélasticité en régime dynamique.

L'étude des propriétés viscoélastiques linéaires d'un corps permet de caractériser sa structure au repos puisque le comportement linéaire est relié à l'aptitude du matériau à supporter des déformations, sans modification de sa structure à l'échelle microscopique. Dans ce qui suit, on étudiera ce comportement en cisaillement simple, en faisant subir aux émulsions des tests oscillatoires par variation de l'amplitude de la déformation γ de 0.1 à 100%, avec une fréquence ω de 10 s^{-1} , à une température égale à 20°C .

Les tests viscoélastiques sont réalisées 24h après l'émulsification. A l'issue de ce test, on obtient la courbe tracée sur la figure 5.1.

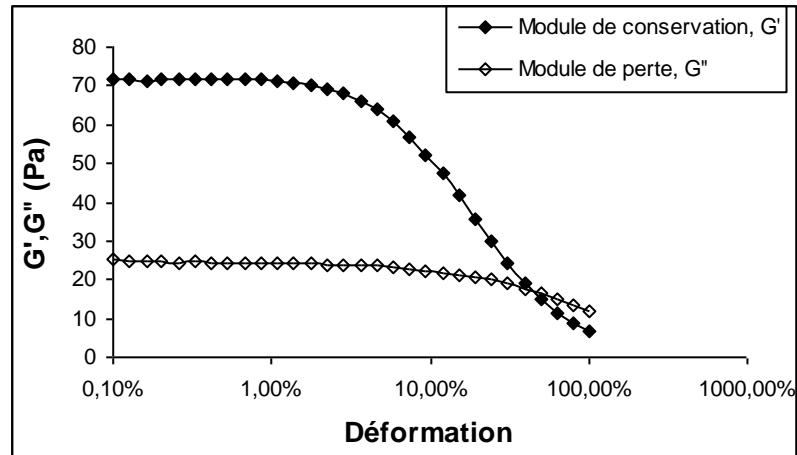


Figure 5.1. Courbe de viscoélasticité de l'essai N° 5 à T = 20°C.

Au regard de l'évolution des deux paramètres rhéologiques en fonction de l'augmentation de l'amplitude de la déformation (donc le temps), à savoir, les deux modules de conservation et de perte, on constate qu'il existe une zone de déformation dans laquelle ces deux grandeurs enregistrent des paliers. Ceci permet donc de faire ressortir deux constantes caractéristiques du matériau, lorsque ce dernier est sollicité dans le domaine linéaire. On note ces deux paramètres : G'_0 et G''_0 .

5.3. Résultats de l'analyse statistique :

Le tableau 5.1 résume les valeurs des paramètres caractéristiques des réponses étudiées, obtenues de la réalisation et la caractérisation des différentes émulsions formulées.

Tableau 5.1 : Valeurs des réponses expérimentales obtenues suite à l'analyse des émulsions.

Essai	Module de conservation, G'_0 , (Pa)	Module de perte, G''_0 (Pa)	Indice de Crémage IC (%)
01	01.04	00.28	88.70
02	13.20	04.85	62.99
03	02.50	02.07	29.20
04	04.60	08.00	32.47
05	71.80	24.50	00.00
06	11.60	04.43	00.45
07	22.60	12.90	01.62
08	01.60	01.30	45.60
09	05.00	04.00	86.95
10	01.30	00.60	36.00
11	21.00	07.15	00.00
12	11.23	06.49	06.40
13	04.67	03.70	26.85
14	79.60	31.20	00.00
15	00.70	00.10	88.00
16	68.40	37.70	00.00
17	11.00	04.81	13.88
18	45.00	18.30	00.00
19	03.28	02.40	87.50
20	07.90	05.10	43.47
21	07.87	05.06	39.00
22	07.60	04.50	40.00
23	07.45	04.88	38.00

Le tableau 5.2 représente la matrice de corrélation réponse-réponse pour déceler celles qui sont fortement corrélées.

Tableau 5.2 : Matrice de corrélation entre les réponses.

Réponses	Module de conservation	Module de perte	Indice de Crémage
Module de conservation	1.00	0.96	- 0.60
Module de perte	0.96	1.00	- 0.59
Indice de Crémage	- 0.60	- 0.59	1.00

A l'examen de ces résultats, il apparaît que G'_0 et G''_0 sont fortement corrélés (5.1) :

$$G''_0 = 0.40 G'_0 + 1.2 \quad R = 0.96 \quad (5.1)$$

Ainsi, il est judicieux de retenir seulement un des deux paramètres pour des considérations d'interprétation physiques. En conséquence, les réponses sélectionnées, à l'issue de cette étude, sont I-C et G'_0 .

Les paramètres du modèle polynomial associé à ces deux réponses sont calculés par la méthode de régression multilinéaire, en utilisant les valeurs expérimentales de G'_0 et de IC, présentées dans le tableau 5.1, correspondantes aux concentrations de caséinate de sodium, de xanthane, de tween 20 et de l'huile (tableau 2.2). Ces modèles sont donnés par les équations suivantes :

$$G'_0 = 8.92 + 2.72X_1 + 7.80X_2 + 19.03X_3 + 13.10X_4 - 0.43X_1^2 - 2.19X_2^2 - 2.17X_3^2 + 16.27X_4^2 - 1.83X_1X_2 + 1.74X_1X_3 + 4.64X_1X_4 + 2.90X_2X_3 + 6.08X_2X_4 + 12.76X_3X_4 \quad (5.2)$$

$$IC = 38.84 - 0.91X_1 + 8.71X_2 - 22.89X_3 - 19.65X_4 - 7.47X_1^2 + 1.09X_2^2 + 8.55X_3^2 - 5.09X_4^2 + 3.61X_1X_2 + 6.24X_1X_3 + 0.62X_1X_4 + 7.55X_2X_3 - 9.93X_2X_4 + 5.91X_3X_4 \quad (5.3)$$

L'analyse statistique de ces modèles a été exécutée par le test de Fisher de l'analyse de la variance (ANOVA). Les résultats de l'ANOVA des réponses étudiées montrent que les modèles sont fortement significatifs, à l'image de la valeur de $F_{\text{statistic}}$ (le rapport entre le carré de la régression et le carré de l'erreur réelle), $F_{\text{model (5.2)}} = 29,9228$ et $F_{\text{model (5.3)}} = 13,3230$ et la valeur très petite de la probabilité ($P = 0,001$). Lorsque la valeur de P est inférieure à 0,01, le modèle est considéré statistiquement significatif.

Évidemment, la qualité de ces modèles est satisfaisante. Ceci nous mène à déterminer, par simulation, les effets des concentrations de chaque composant, sur les caractéristiques de l'émulsion, dans le domaine de l'étude.

5.4. Effet des facteurs sur les réponses

La détermination des effets des facteurs est obtenue par simulation en utilisant les différents modèles des surfaces de réponses.

5.4.1. Effet des interactions caséinate de sodium – Tween 20 sur les propriétés de l'émulsion

5.4.1.1. Sans ajout de xanthane:

Divers auteurs ont étudié la stabilité des émulsions à base de protéine et de tensioactif de faible poids moléculaire ainsi que les interactions qui résultent de ce mélange [151-154]. Il a été montré [155] que les deux espèces tensioactives rentrent en compétition pour l'interface et que le tween 20 est susceptible de déplacer le CnNa dans la phase aqueuse. Aussi, il a été mis en évidence que les émulsions à base de 2 % de CnNa et de 30% d'huile de n-tétradécane, enregistrent un taux de crémage qui est d'autant important que la quantité du tween 20 est élevée. Le mécanisme d'interaction proposé, pour rendre compte de cette instabilité, est que les macromolécules de CnNa inadsorbées flocculent par déplétion les globules gras [156]. Ainsi, dans ces conditions, cet ingrédient a un effet néfaste sur la stabilité des émulsions à base de cette protéine.

Dans ce contexte d'analyse, on se propose d'étudier cet effet par simulation, en utilisant les modèles de G'_0 et de l'indice de crémage, donnés respectivement par les équations (5.2) et (5.3).

Il était impossible d'utiliser le modèle de G'_0 en absence de xanthane, parce que les résultats de la viscoélasticité de l'analyse rhéologique étaient très

irréguliers et fluctuants; donc ce paramètre n'est pas pris en considération dans cette partie d'étude d'effet.

On fixe la concentration d'huile à 30 %, celle du xanthane à 0 % et on prend trois niveaux du caséinate : 1 %, 3 % et 5 %. On note que l'effet est évalué par le degré de la pente de la courbe (pente > 0 → effet positif et pente < 0 → effet négatif). Il apparaît ainsi, au vu de l'évolution des courbes d'influence du tween 20 sur le taux de crémage IC, figure (5.2), que celles-ci sont fortement conditionnées par la concentration du CnNa. En effet, au fur est à mesure qu'on diminue la quantité de la protéine, la pente de la courbe diminue et devient même négative pour des concentrations inférieures à 3 %.

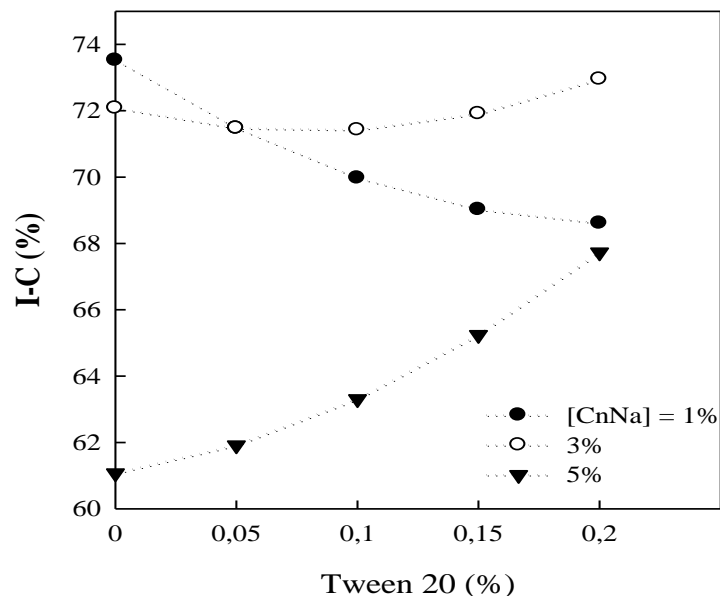


Figure 5.2 : Courbes d'effet du Tween 20 sur IC à différentes concentrations de CnNa, Xth = 0%, huile = 30%; T = 20 °C

La raison pour laquelle la vitesse de crémage augmente avec Tween 20, lorsque [CnNa] > 3%, est que cette quantité est plus importante que la concentration de saturation nécessaire pour couvrir les gouttelettes huileuses et qui est aux alentours de 2% pour une fraction volumique d'huile de 0,35 [156]. Par conséquent, en absence de Tween 20, il y aurait un excès de caséinate, qui va occuper la phase aqueuse de l'émulsion. Le rajout du tween 20 provoque incontestablement le déplacement du caséinate vers la phase aqueuse. Ce dernier, se trouvant en grande quantité dans la phase aqueuse, flocule aussitôt

par déplétion les gouttelettes huileuses. A noter que cette masse développe également des interactions stériques, qui contribuent à l'affaiblissement des valeurs de IC, à l'image de la courbe à 5 % de CnNa qui enregistre les valeurs les plus faibles pour les petites concentrations de tween 20.

Par ailleurs, pour une concentration de caséinate inférieure à 3%, l'ajout du Tween 20 dans l'émulsion réduit son crémage (la pente devient négative), par le fait que ce tensioactif s'adsorbe à l'interface des gouttelettes limitant ainsi la floculation par pontage [157], essentiellement lorsque la concentration du caséinate est de 1%.

Lorsque le CnNa = 3%, l'évolution du taux de crémage paraît être insensible à l'ajout du tween 20. Néanmoins, on peut remarquer que la courbe d'influence de IC est non monotone, elle décroît légèrement pour les faibles concentrations du tween 20, inférieures à 0.07 %, lesquelles vont déplacer des quantités insuffisantes de CnNa pour générer des interactions de floculation mais suffisantes pour développer des interactions stériques. Dans la partie croissante de la courbe, associée à une concentration de tween 20 supérieure à 0.7 %, le CnNa inadsorbé manifestent des interactions de floculation plus importantes.

5.4.1.2. En présence de xanthane

- Avec 0.25% de xanthane

Les émulsions, en présence de polysaccharide sont relativement épaisses. Elles enregistrent des valeurs significatives de G'_0 . Il apparaît que le Tween 20 a une influence positive sur la rigidité de la structure et qui est plus importante lorsque la quantité de caséinate est maximale (= 6%).

On peut déduire, à partir de ces observations, que la quantité de caséinate non adsorbée ne développe pas d'interactions ségrégatives avec le xanthane. Aussi, par effet du volume exclu entre les deux biopolymères dans la phase aqueuse, la protéine non adsorbée se présente sous forme de micelles par forces hydrophobiques et va floculer par déplétion les globules huileuse, pour produire ainsi une émulsion instable. En effet, la figure 5.4 montre que l'augmentation de la concentration du Tween 20 provoque une augmentation de l'indice de crémage, due à l'augmentation de caséinate non adsorbée. A l'examen microscopique, il est possible d'observer un ensemble de gouttelettes huileuses floculé dans une

émulsion formulée avec 0.25% de xanthane (essai N° 20 du tableau 2.2), comme le montre bien la photo de la figure 5.5.

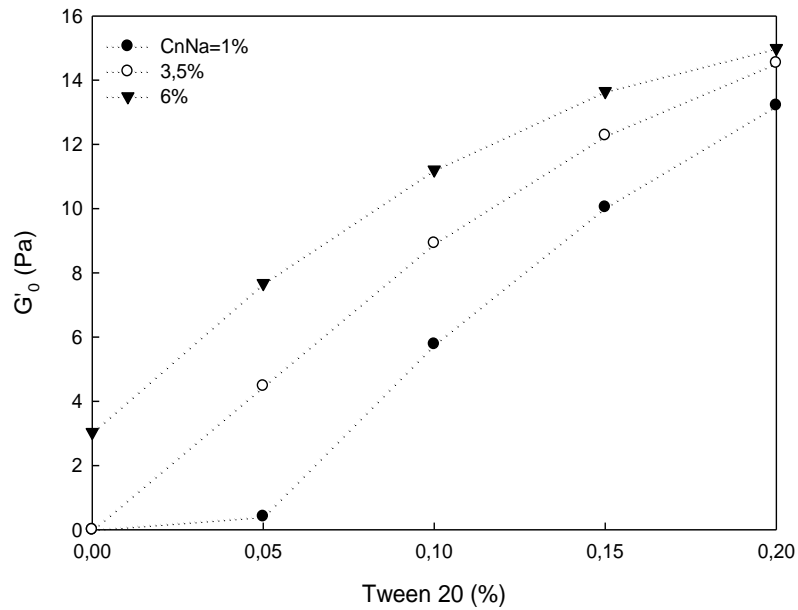


Figure 5.3. Courbes d'effet du Tween 20 sur G'_0 , à différentes concentrations de CnNa; Xth = 0.25%, huile = 30%, et $T = 20^\circ\text{C}$.

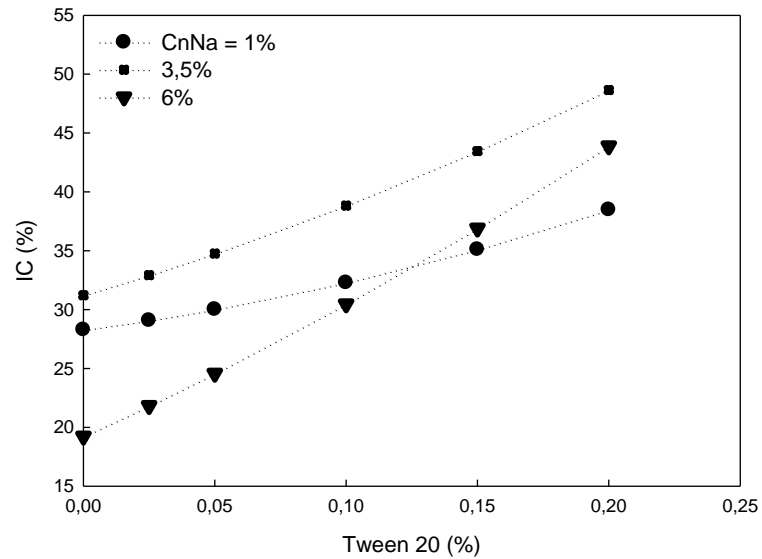


Figure 5.4. Courbes d'effet du Tween 20 sur IC, à différentes concentrations de CnNa; Xth = 0.25%, huile = 30%, et $T = 20^\circ\text{C}$.

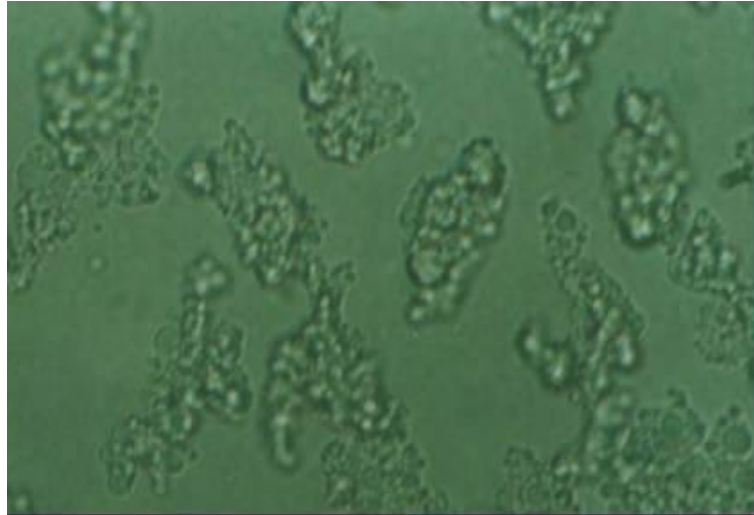


Figure 5.5 : Analyse microscopique de l'essai N°20 après 24h, CnNa = 3.5%, Xanthane = 0.25%, Tween20 = 0.1%, Huile = 30%.

- Avec 0.5% de xanthane

En ajoutant 0.5% de xanthane, les émulsions obtenues deviennent stables, comme on peut bien le voir, suite à l'examen microscopique de l'essai N°5 (figure 5.6), où la concentration de caséinate est de 1% et celle de l'huile est de 50%. Dans ce cas, le polysaccharide joue parfaitement son rôle de stabilisant en augmentant la viscosité de l'émulsion et développe des interactions hydrodynamiques dans la phase aqueuse. La structure devient ainsi ferme, suite à l'augmentation du module de conservation.

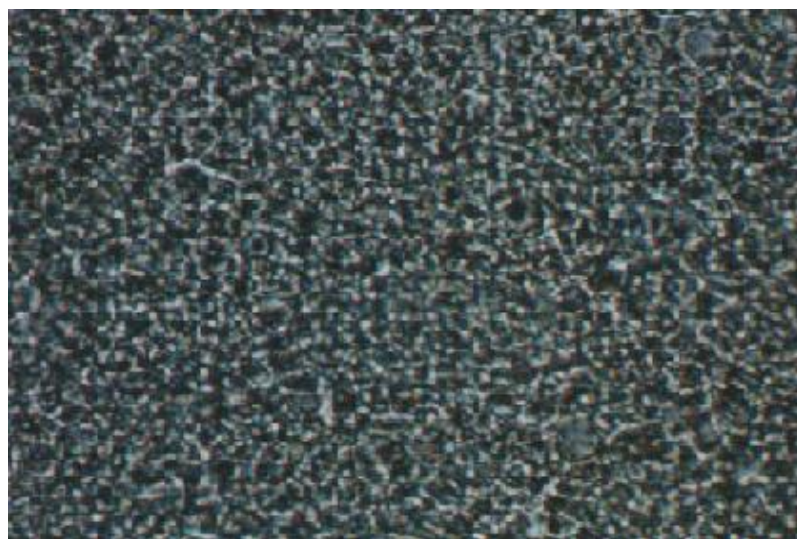


Figure 5.6 : Analyse microscopique de l'essai N°5 après 2 mois, CnNa = 1%, Xth = 0.5%, Tween20 = 0.2%, Huile = 50%.

La figure 5.7 montre que l'effet du Tween 20 sur G'_0 est positif, surtout lorsqu'une quantité importante de caséinate est déplacée dans la phase aqueuse (courbe associée à 6% de caséinate). Ceci montre qu'en effet, les interactions inter-biopolymère sont de type hydrodynamique et elles font augmenter la rigidité du système colloïdal. Cependant, cette bonne rigidité n'est pas synonyme de stabilité, si on compare les valeurs de l'indice de crémage associées particulièrement aux concentrations de 3.5 et 6% de caséinate (figure 5.8).

En plus des interactions hydrodynamiques, le caséinate exprime des interactions de floculation par déplétion des gouttelettes huileuses. Le seul cas intéressant où on note un indice de crémage nul pour toute quantité de Tween 20 ajoutée dans le domaine étudié, est celui correspondant à une faible quantité de caséinate (1%). Les émulsions relatives à ce cas sont stables à cause de l'absence des interactions de déplétion avec les globules gras et l'incompatibilité avec les macromolécules de xanthane [149].

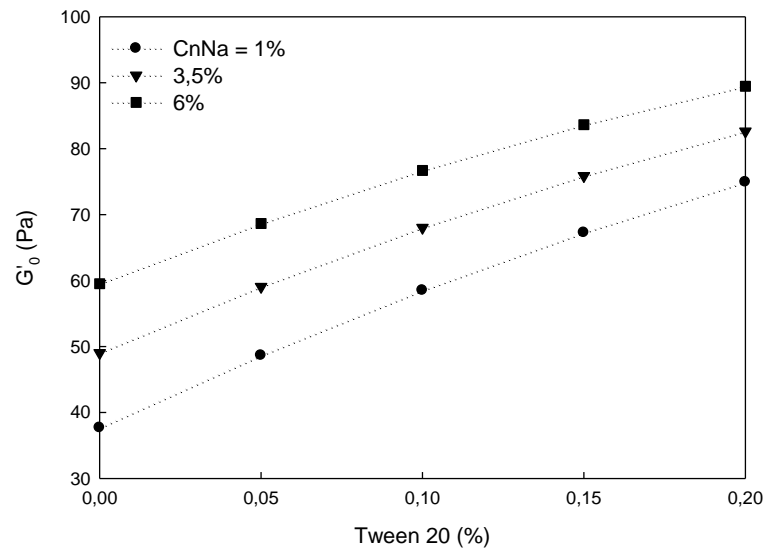


Figure 5.7 : Courbes d'effet du Tween 20 sur G'_0 , pour différentes concentrations de caséinate (Xth = 0.5%, huile= 50 %, et T = 20°C)

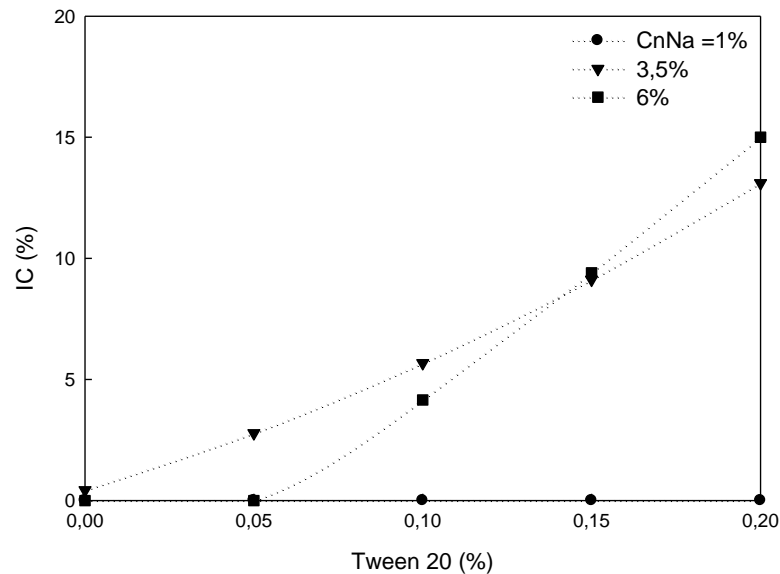


Figure 5.8 : Courbes d'effet du Tween 20 sur IC, pour différentes concentrations de caséinate (Xth = 0.5%, huile= 50 %, et T = 20°C)

5.4.2. Effet des interactions huile- caséinate de sodium sur les propriétés de l'émulsion

Les effets des interactions huile- caséinate de sodium sur la stabilité de l'émulsion sont étudiés sous conditions extrêmes. Le maximum de Tween 20 et de xanthane sont introduits afin de déplacer le maximum de protéine dans la phase aqueuse et obtenir une interaction négative entre les deux biopolymères. Cependant, en comparant les résultats présentés sur la figure 5.9, l'huile a pratiquement le même effet sur G'_{o} , selon la variation du caséinate. Par contre, la variation de ce paramètre ne dépend pas de la concentration du caséinate et on en déduit que la protéine non adsorbée ne réagit pas avec le polysaccharide dans la phase aqueuse de l'émulsion.

La figure 5.10 montre que l'indice de crémage diminue avec l'augmentation de la fraction huileuse. Ceci est dû au fait que le maximum de caséinate mis en solution occupe l'interface et donc les interactions par déplétion sont réduites.

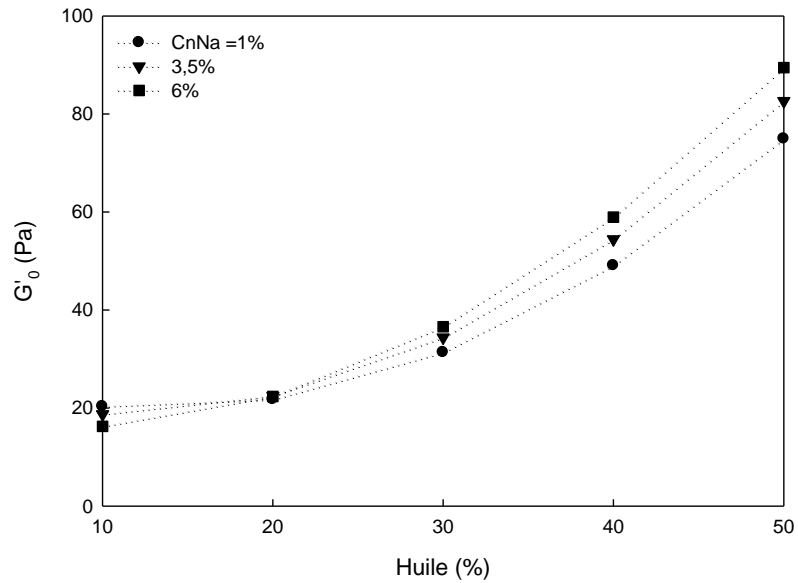


Figure 5.9 : Courbes d'effet de l'huile sur G'_0 , pour différentes concentrations d'huile (xanthane = 0.5%, Tween 20 = 0.2 %, et $T = 20^\circ\text{C}$)

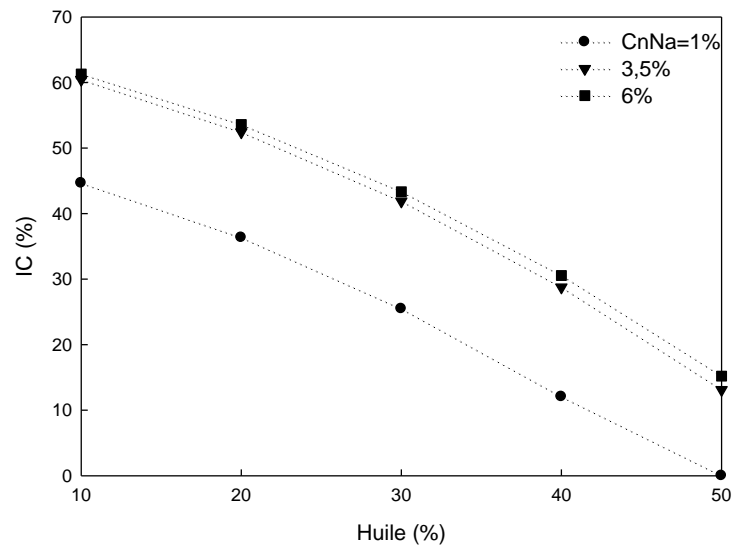


Figure 5.10 : Courbes d'effet de l'huile sur IC, pour différentes concentrations d'huile (Xth=0.5%, Tween 20 = 0.2 %, et $T = 20^\circ\text{C}$)

5.4.3. Effet des interactions xanthane- caséinate de sodium sur les propriétés de l'émulsion

De la même manière, afin d'évaluer les interactions entre le caséinate de sodium et le xanthane, une quantité de Tween 20 maximale a été introduite dans

l'émulsion pour déplacer le maximum de caséinate dans la phase aqueuse. La fraction volumique de l'huile a été figé à 30%. De la figure 5.11, on note que le xanthane a un effet positif sur le module de conservation, contrairement au caséinate qui n'a aucun effet sur cette réponse. Ainsi, il est clair que le polysaccharide est responsable de la texture de l'émulsion et les interactions ségrégatives entre les deux biopolymères ne sont pas présentes dans ce cas.

D'ailleurs, l'indice de crémage diminue avec l'augmentation de xanthane (figure 5.12) et enregistre des valeurs plus importantes avec l'augmentation du caséinate. Donc, le xanthane contribue à la stabilité de l'émulsion par interactions hydrodynamiques et le caséinate contribue son instabilité par floculation par déplétion.

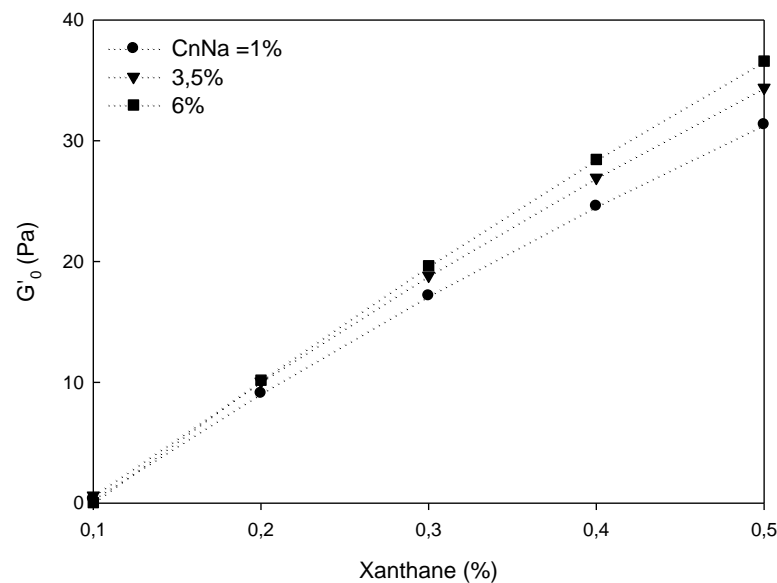


Figure 5.11 : Courbes d'effet de l'huile sur G'_0 , pour différentes concentrations de xanthane (huile = 30 %, Tween 20 = 0.2 %, et $T = 20^\circ\text{C}$)

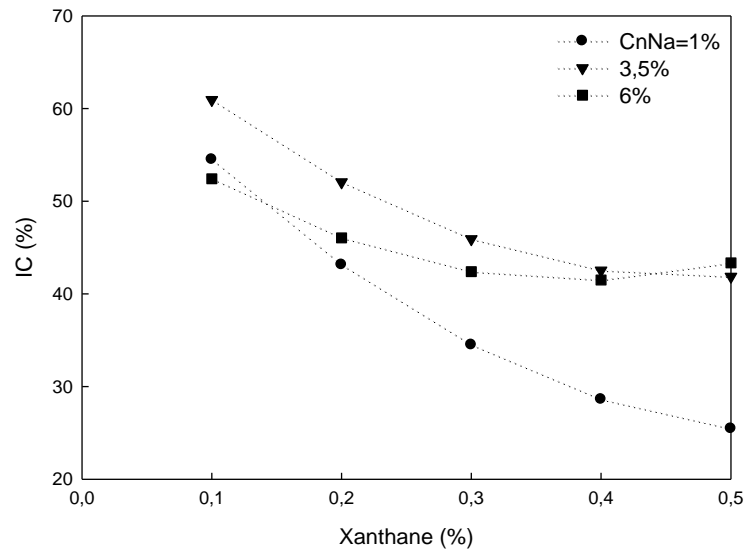


Figure 5.12 : Courbes d'effet de l'huile sur IC, pour différentes concentrations de xanthane (huile = 30 %, Tween 20 = 0.2 %, et T = 20°C)

5.5. Conclusion

Il a été question dans ce travail d'étudier l'effet des interactions inter-ingrédients sur la texture et la stabilité d'une émulsion alimentaire à base de caséinate de sodium. Pour atteindre cet objectif, nous avons fait appel à la méthode des plans d'expériences pour obtenir des résultats crédibles avec le minimum de variabilité. Les modèles exprimant les propriétés viscoélastiques et de stabilité en fonction des constituants du système ont été obtenus, à l'issue d'une modélisation de surface de réponses, ce qui permet de déterminer les différentes courbes d'influences des facteurs de mélange. Ainsi, les points importants qui ressortent de cette analyse sont :

- L'effet du tween 20 sur la stabilité, en absence du polysaccharide, est conditionné par la quantité des protéines mises en jeu, comptée par rapport à la concentration effective de recouvrement de toute l'interface huileuse.
 - CnNa = 1 %, le tween 20 améliore la stabilité par réduction de la floculation par pontage causées par les macromolécules du CnNa.
 - CnNa = 3 %, le tween 20 n'a pas d'effet significatif sur la stabilité

- CnNa > 3%, le tween 20 a un effet néfaste sur la stabilité, en déplaçant des protéines de CnNa dans la phase aqueuse qui elles mêmes flocculent par déplétion les globules gras.
- L'effet du tween 20 sur la texture, en présence du polysaccharide, est positif, et s'intensifie avec l'augmentation du caséinate. Toutefois, cet effet est nuisible quant à la stabilité de l'émulsion.
- L'effet de l'huile est avantageux pour la texture et la stabilité, du fait qu'il permet au caséinate d'occuper l'interface, synonyme d'une meilleure stabilité. A noter que cet effet ne dépend pas du niveau du CnNa.
- Egalement, il a été trouvé que le xanthane influe positivement sur la rigidité de la structure et sur la stabilité, ce qui prouve que cet élément joue son rôle de viscosifiant et de stabilisant.

Cette étude nécessite un approfondissement sur le plan procédé d'émulsification, par utilisation d'un homogénéiseur à haute pression suivie d'une analyse granulométrique, pour examiner si l'émulsion est monodispersée ou autre ?

CONCLUSION

L'objectif de cette thèse consistait à comprendre les mécanismes qui contrôlent la structure, la conformation et les propriétés rhéologiques de la gomme xanthane grâce à l'étude de l'influence de différents paramètres tels que la force ionique, le pH, la concentration en biopolymères, la nature du sel et la température.

Pour ce faire, des études expérimentales ont été réalisées principalement en rhéologie et en zétamétrie.

Afin de comprendre les interactions mises en jeu dans les systèmes mixtes, nous avons également étudié les interactions qui peuvent avoir lieu entre les mélange caséinate de sodium/ xanthane et son impact sur la stabilité d'une émulsion huile dans eau.

Dans un premier lieu, nous avons étudié le comportement électrocinétique des solutions de xanthane sans sel ajouté. Cette étude nous a permis de conclure que la mobilité électrophorétique des solutions de xanthane dans le régime concentrée ($C > C^{**}$) dépend de la concentration. Cette dépendance a été attribuée à la contribution de la charge du xanthane à la force ionique de la solution. Les résultats expérimentaux ont obéi au modèle de Shugai.

L'équation reliant le potentiel zêta à la mobilité électrophorétique est celle d'Helmholtz–Smoluchowski puisque les particules sont grandes et leurs tailles et beaucoup plus importante que l'épaisseur de la double couche électrique ($a \gg \kappa^{-1}$), plus un facteur prenant en compte l'effet de relaxation du aux valeurs élevées du potentiel. Ce facteur dépend de la charge de la surface de la particule colloïdale (qui est anionique pour le xanthane) et de la valence du sel rajouté. Parmi les modèles proposés dans la littérature, on a opté pour la relation d'O'Brien dans le cas de KCl (1-1 électrolyte) et celle d'Ohshima dans le cas de CaCl_2 (2-1 électrolyte).

Il a été trouvé également, que le sel est susceptible de modifier la structure du xanthane en s'adsorbant sur les sites anioniques de ce dernier, réduisant ainsi son potentiel zêta. Ceci a été déduit par le déplacement du point isoélectrique lorsque la concentration du sel augmente.

Au terme de l'étude rhéologique, il a été conclu que la rigidité des solutions de xanthane augmente avec la concentration, ceci a été attribué à sa structure double hélicoïdale.

L'augmentation de la force ionique des solutions de xanthane en ajoutant du sel monovalent et bivalent à différentes concentrations n'a pas modifié ni le caractère viscoélastique du xanthane ni sa rigidité.

La modélisation des courbes d'écoulement à l'aide du modèle de carreau nous a permis de faire ressortir la viscosité au repos. Cette dernière augmente avec l'augmentation de la concentration traduisant sa rigidité. Aussi, ce paramètre était insensible à la force ionique, du fait que le système est assez concentré et les interactions inter macromoléculaires sont déjà importantes que l'effet de la force ionique ne s'est fait pas sentir.

L'étude de l'effet du pH a montré qu'au $\text{pH} > \text{pI}$, la viscosité des solutions du xanthane est plus importante. Dans ce cas, les macromolécules sont anioniques et développent des interactions répulsives électrostatiques entre le squelette principal et les chaînons latéraux. A $\text{pH} = \text{pI}$, la molécule du xanthane devient neutre et les chaînons latéraux se rapprochent de la chaîne principale, générant le repliement de la macromolécule.

L'étude de la viscoélasticité du xanthane en fonction de la température nous a permis de tracer les courbes maitresses. Ces courbes étaient parfaitement superposables. Les solutions de xanthane se comportent comme un liquide à haute température et elles ont le comportement d'un solide à faible température.

La détermination des courbes maitresses du mélange caséinate/ xanthane a été également réalisée afin de les comparer avec celles du xanthane seul. Le rajout du CnNa aux solutions de xanthane a rendu le système plus rigide et plus résistant à la température, puisque il a fait augmenter la température de fonte du système colloïdal.

Au terme de l'analyse des émulsions de type huile dans eau stabilisées par le mélange caséinate/ xanthane, il a été montré que l'effet du Tween 20 sur la stabilité, en absence de polysaccharide, est conditionné par la quantité de protéine mise dans la phase aqueuse. Ainsi, pour une concentration de caséinate

de 1%, le Tween 20 améliore la stabilité de l'émulsion en réduisant la floculation causée par les macromolécules de caséinate inadsorbé. Pour une concentration de caséinate de 3%, le Tween 20 n'a pas un effet significatif sur la stabilité. Par contre, lorsque la concentration en caséinate est supérieure à 3%, le Tween 20 a un effet néfaste sur la stabilité, en déplaçant la protéine vers la phase continue et qui flocule les gouttelettes huileuses par déplétion. L'effet du Tween 20 sur la texture est positif, en présence de polysaccharide et augmente avec l'augmentation du caséinate.

L'effet de l'huile est positif sur la texture et la stabilité, en raison du fait qu'elle offre au caséinate de l'interface à occuper, menant ainsi à une meilleure stabilité. Il est à noter que cet effet ne dépend pas de la concentration du caséinate. En outre, il a été trouvé que le xanthane influe positivement sur la rigidité de la structure et la stabilité de l'émulsion, ce qui prouve que cet élément joue parfaitement son rôle de viscosifiant stabilisant.

Ce travail est loin d'être achevé. Il serait intéressant de voir l'effet de la concentration du xanthane et du caséinate ainsi que l'effet de la force ionique sur les courbes maitresses.

Aussi, l'étude des émulsions nécessite un approfondissement sur le plan procédé, par utilisation d'un homogénéiseur à haute pression suivie d'une analyse granulométrique, et de microscopie confocale pour examiner si l'émulsion est monodispersée ou autre ?

APPENDICE A : Liste des symboles et des abréviations

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

a	Rayon de la particule
a_T	Coefficient de décalage horizontal
b_T	Coefficient de décalage vertical
C	Concentration
C_{CnNa}	Concentration du caséinate de sodium
C_i	Concentration ionique
C_{KCl}	Concentration du chlorure de sodium
C_{Xth}	Concentration du xanthane
C^*	Concentration critique de recouvrement
C^{**}	Concentration critique d'enchevêtrement
$CaCl_2$	Chlorure de calcium
$CnNa$	Caséinate de sodium
D_0	Coefficient de diffusion
d	épaisseur de la couche polyélectrolyte perméable
DLS	Dynamic light scattering
e	charge de l'électron
F	Nombre de Dukhin
f	Fréquence
f	Fraction de monomères ionisables
FI	Force ionique

f M	Monomères ionisables
f(κa)	Fonction de Henry
G'	Module d'élasticité (de conservation)
G' ₀	Module élastique dans le domaine linéaire
G''	Module de perte
G'' ₀	Module de perte dans le domaine linéaire
H _{aq}	Hauteur de la phase aqueuse
H _T	Hauteur totale de l'émulsion
IC	Indice de crémage
KCl	Chlorure de potassium
k _B	Constante de Boltzman
L	Taille du monomère.
L _C	Longueur du contour
L _e	Longueur électrostatique
L ₀	Longueur intrinsèque
L _p	Longueur de persistance
M	Monomères
N _a	Nombre d'Avogadro
NaCl	Chlorure de sodium
n [∞] _i	Densité des espèces ioniques dans un volume loin de la surface
NRRL	Northern Regional Research Laboratory.
P _M	Poids moléculaire
pH	potentiel hydrogène
pl	Point isoélectrique

R_g	Rayon de giration
R_h	Rayon hydrodynamique
S	Surface
T	Température
t	Temps
T_m	Température de Transition ordre-désordre
Xth	La gomme xanthane
Z	Valence de l'ion
δ	Angle de perte
ε	Constante diélectrique statique
ε_0	Constante diélectrique de l'espace libre
ϕ	Fraction volumique
Γ	Fréquence de relaxation
γ	Déformation
$\dot{\gamma}$	Vitesse de cisaillement
η	Viscosité
η_0	Viscosité au repos
η_{CP}	Viscosité intrinsèque
η_{inf}	Viscosité au cisaillement infini
η_R	Viscosité relative
η_{red}	Viscosité réduite
η_{SP}	Viscosité spécifique
κ^{-1}	Longueur de Debye-Hückel
Λ°_i	Conductance limite des espèces ioniques

λ	Longueur d'onde
μ	Mobilité électrophorétique
σ	Contrainte de cisaillement
ω	Pulsation des oscillations
ψ_d	potentiel du plan externe de Helmholtz
ζ	Potentiel zêta

REFERENCES

1. Rinaudo, M., "Role of Substituents on the Properties of Some Polysaccharides", *Biomacromolecules*, 5(4), (2004), 1155-1165.
2. Rinaudo, M., "Characterization and Properties of Some Polysaccharides Used as Biomaterials", *Macromolecular Symposia*, 245-246(1), (2006), 549-557.
3. Rinaudo, M., "Properties and degradation of selected polysaccharides: hyaluronan and chitosan", *Corrosion Engineering, Science and Technology*, 42(4), (2007), 324-334.
4. Rinaudo, M., "Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials", *Polymer International*, 57(3), (2008), 397-430.
5. Rinaudo, M., Milas, M., Lambert, F., and Vincendon, M., "Proton and carbon-13 NMR investigation of xanthan gum", *Macromolecules*, 16(5), (1983), 816-819.
6. Milas, M. and M. Rinaudo, "Properties of xanthan gum in aqueous solutions: Role of the conformational transition", *Carbohydrate Research*, 158(0), (1986), 191-204.
7. Milas, M., Rinaudo, M., Knipper, M., and Schuppiser, J.L., "Flow and viscoelastic properties of xanthan gum solutions". *Macromolecules*, 23(9), (1990), 2506-2511.
8. Milas, M., Lindner, P., Rinaudo, M., and Borsali, R., "Influence of the Shear Rate on the Small-Angle Neutron Scattering Pattern of Polyelectrolyte Solutions: The Xanthan Example", *Macromolecules*, 29(1), (1996), 473-474.
9. Milas, M., Rinaudo, M., Duplessix, R., Borsali, R., and Lindner, P., "Small Angle Neutron Scattering from Polyelectrolyte Solutions: From Disordered to Ordered Xanthan Chain Conformation". *Macromolecules*, 28(9), (1995), 3119-3124.
10. Heux, L., Brugnerotto, J., Desbrières, J., Versali, M. F., Rinaudo, M., "Solid State NMR for Determination of Degree of Acetylation of Chitin and Chitosan", *Biomacromolecules*, 1(4), (2000), 746-751.

11. Goycoolea, F.M., M. Milas, and M. Rinaudo, "*Associative phenomena in galactomannan-deacetylated xanthan systems*", *International Journal of Biological Macromolecules*, 29(3), (2001), 181-192.
12. Kulicke, W.-M., Kull, A. H., Kull, W., Thielking, H., Engelhardt, J., Pannek, J. B., "*Characterization of aqueous carboxymethylcellulose solutions in terms of their molecular structure and its influence on rheological behaviour*", *Polymer*, 37(13), (1996), 2723-2731.
13. Guetta, O., Mazeau, K., Auzely, R., Milas, M., and Rinaudo, M., "*Structure and Properties of a Bacterial Polysaccharide Named Fucogel*", *Biomacromolecules*, 4(5), (2003), 1362-1371.
14. Sato, T., T. Norisuye, and H. Fujita, "*Double-stranded helix of xanthan: dimensional and hydrodynamic properties in 0.1 M aqueous sodium chloride*", *Macromolecules*, 17(12), (1984), 2696-2700.
15. Milas, M. and M. Rinaudo, "*Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan*". *Carbohydrate Research*, 76(1), (1979), 189-196.
16. Southwick, J.G., McDonnell, M. E., Jamieson, A. M., Blackwell, J., "*Solution Studies of Xanthan Gum Employing Quasielastic Light Scattering*", *Macromolecules*, 12(2), (1979), 305-311.
17. Holzwarth, G., "*Conformation of the extracellular polysaccharide of Xanthomonas campestris*". *Biochemistry*, 15(19), (1976), 4333-4339.
18. Ciszowska, M. and I. Kotlyar, "*Conductometric Detection of Coil-to-Helix Transition of Anionic Polysaccharides. κ -Carrageenan*", *Analytical Chemistry*, 71(22), (1999), 5013-5017.
19. Ciszowska, M. and J.G. Osteryoung, "*Counterion Diffusion Reveals Coil-to-Helix Transition in a Polyelectrolyte*", *Journal of the American Chemical Society*, 121(7), (1999), 1617-1618.
20. Schoeler, B., Delorme, N., Doench, I., Sukhorukov, G. B., Fery, A., Glinel, K., "*Polyelectrolyte Films Based on Polysaccharides of Different Conformations: Effects on Multilayer Structure and Mechanical Properties*", *Biomacromolecules*, 7(6), (2006), 2065-2071.

21. Nilsson, S. and Piculell, L., "*Helix-coil transitions of ionic polysaccharides analyzed within the Poisson-Boltzmann cell model. 2. Effects of salt concentration on the thermal transition*", *Macromolecules*, 22(7), (1989), 3011-3017.
22. Nilsson, S., Piculell, L., and Joensson, B., "*Helix-coil transitions of ionic polysaccharides analyzed within the Poisson-Boltzmann cell model. 1. Effects of polyion concentration and counterion valency*", *Macromolecules*, 22(5), (1989), 2367-2375.
23. Tinland, B., and Rinaudo, M., "*Dependence of the stiffness of the xanthan chain on the external salt concentration*", *Macromolecules*, 22(4), (1989), 1863-1865.
24. Maier, E.E., Krause, R., Deggelmann, M., Hagenbuechle, M., Weber, R., and Fraden, S., "*Liquidlike order of charged rodlike particle solutions*". *Macromolecules*, 25(3), (1992), 1125-1133.
25. Drifford, M. and J.P. Dalbiez, "*Light scattering by dilute solutions of salt-free polyelectrolytes*", *The Journal of Physical Chemistry*, 88(22), (1984), 5368-5375.
26. Borsali, R., Vilgis, T.A., and Benmouna, M., "*Viscosity of weakly charged polyelectrolyte solutions: the mode-mode coupling approach*", *Macromolecules*, 25(20), (1992), 5313-5317.
27. Ghimici, L. and Nichifor, M., "*Electrical conductivity of some cationic polysaccharides. I. Effects of polyelectrolyte concentration, charge density, substituent at the ionic group, and solvent polarity*", *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 43(24), (2005) 3584-3590.
28. Harnsilawat, T., Pongsawatmanit, R., and McClements, D.J., "*Characterization of β -lactoglobulin–sodium alginate interactions in aqueous solutions: A calorimetry, light scattering, electrophoretic mobility and solubility study*", *Food Hydrocolloids*, 20(5), 2006, 577-585.
29. Peniche, C. and Argüelles-Monal, W., "*Chitosan based polyelectrolyte complexes*", *Macromolecular Symposia*, 168(1), (2001), 103-116.
30. Bresolin, T.M.B., Sander, P. C., Reicher, F., Sierakowski, M. R., Rinaudo,

- M., and Ganter, J. L. M. S., "*Viscometric studies on xanthan and galactomannan systems*", *Carbohydrate Polymers*, 33(2–3), (1997), p. 131-138.
31. Bresolin, T.M.B., Milas, M., Rinaudo, M., and Ganter, J. L. M. S., "*Xanthan–galactomannan interactions as related to xanthan conformations*", *International Journal of Biological Macromolecules*, 23(4), (1998), 263-275.
32. Bresolin, T.M.B., Milas, M., Rinaudo, M., Reicher, F., and Ganter, J. L. M. S., "*Role of galactomannan composition on the binary gel formation with xanthan*". *International Journal of Biological Macromolecules*, 26(4) (1999), 225-231.
33. Rinaudo, M., Auzely, R., Vallin, C., and Mullagaliev, I., "*Specific Interactions in Modified Chitosan Systems*", *Biomacromolecules*, 6(5), (2005), 2396-2407.
34. Odijk, T., "*On the ionic-strength dependence of the intrinsic viscosity of DNA*", *Biopolymers*, 18(12), (1979), 3111-3113.
35. Carvalho, A.J.F., and Curvelo, A.A.S., "*Effect of Sulfonation Level on Solubility and Viscosity Behavior of Low to Medium Charged Sulfonated Polystyrenes*", *Macromolecules*, 36(14), 2003, 5304-5310.
36. Tricot, M., "*Comparison of experimental and theoretical persistence length of some polyelectrolytes at various ionic strengths*", *Macromolecules*, 17(9), (1984), 1698-1704.
37. Candau, S.J., Hirsch, E., and Zana, R., "*Light scattering investigations of the behavior of semidilute aqueous micellar solutions of cetyltrimethylammonium bromide: Analogy with semidilute polymer solutions*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 105(2), (1985), 521-528.
38. Ohshima, H., "*Electrophoresis of soft particles*", *Advances in Colloid and Interface Science*, 62(2–3), (1995), 189-235.
39. Hermans, J.J., "*Sedimentation and electrophoresis of porous spheres*", *Journal of Polymer Science*, 18(90), (1955), 527-534.
40. Duval, J.F.L., "*Electrokinetics of Diffuse Soft Interfaces. 2. Analysis Based on the Nonlinear Poisson–Boltzmann Equation*", *Langmuir*, 21(8), (2005), 3247 - 3258.

41. Margaritis, A. and Zajic, J.E., "*Mixing, mass transfer, and scale-up of polysaccharide fermentations*", *Biotechnology and Bioengineering*, 20(7), (1978), 939-1001.
42. Garcia-Ochoa, F., "*Xanthan gum: production, recovery, and properties*", *Biotechnology Advances*", 18(7), (2000), 549-579.
43. Garcia-Ochoa, F., "*Xanthan gum: production, recovery, and properties*", *Biotechnology Advances*, 18(7), (2000), 549-579.
44. Sutherland, I.W., "*Xanthomonas polysaccharides — Improved methods for their comparison*", *Carbohydrate Polymers*, 1(2), (1981), 107-115.
45. Jeanes, A., Pittsley, J.E., and Senti, F.R., "*Polysaccharide B-1459: A new hydrocolloid polyelectrolyte produced from glucose by bacterial fermentation*", *Journal of Applied Polymer Science*, 5(17), (1961), 519-526.
46. Ross-Murphy, S.B., Morris, V.J., and Morris, E.R., "*Molecular viscoelasticity of xanthan polysaccharide*". *Faraday Symposia of the Chemical Society*, 18(0), (1983), 115-129.
47. Morris, E.R., Rees, D. A., Young, G., Walkinshaw, M. D., and Darke, A., "*Order-disorder transition for a bacterial polysaccharide in solution. A role for polysaccharide conformation in recognition between Xanthomonas pathogen and its plant host*", *Journal of Molecular Biology*, 110(1), (1977), 1-16.
48. Lecourtier, J., Chauveteau, G., and Muller, G., "*Salt-induced extension and dissociation of a native double-stranded xanthan*", *International Journal of Biological Macromolecules*, 8(5), (1986), p. 306-310.
49. Liu, W. and Norisuye, T., "*Order–Disorder conformation change of xanthan in 0.01M aqueous sodium chloride: Dimensional behavior*", *Biopolymers*, 27(10), (1988), 1641-1654.
50. Christensen, B.E. and Smidsrød, O., "*Hydrolysis of xanthan in dilute acid: Effects on chemical composition, conformation, and intrinsic viscosity*", *Carbohydrate Research*, 214(1), (1991), 55-69.
51. Shatwell, K.P., Sutherland, I.W., and Ross-Murphy, S.B., "*Influence of acetyl and pyruvate substituents on the solution properties of xanthan*

- polysaccharide*", International Journal of Biological Macromolecules, 12(2), (1990), 71-78.
52. Kitamura, S., Takeo, K., Kuge, T., and Stokke, B.T., "*Thermally induced conformational transition of double-stranded xanthan in aqueous salt solutions*", Biopolymers, 31(11), (1991), 1243-1255.
53. Rochefort, W.E. and S. Middleman, "*Rheology of Xanthan Gum: Salt, Temperature, and Strain Effects in Oscillatory and Steady Shear Experiments*", Journal of Rheology, 31(4), (1987), 337-369.
54. K.S. Kang, D.J.P., "*Xanthan, Gellan, Wellan and Rhamsan*". In: Industrial Gums Whistler R.I. & Bemiller J.N. (Eds), Elsevier Science & Technology Chapter 13, 3rd edition (1992), 341-397.
55. Milas, M. and Rinaudo, M., "*On the existence of two different secondary structures for the xanthan in aqueous solutions*". Polymer Bulletin, 12(6), (1984), 507-514.
56. Muller, G. and Lecourtier, J., "*Temperature-induced extension and dissociation of native xanthan*", Carbohydrate Polymers, 9(3), (1988), 213-225.
57. Norton, I.T., Goodall, D. M., Frangou, S. A., Morris, E. R., and Rees, D. A., "*Mechanism and dynamics of conformational ordering in xanthan polysaccharide*", Journal of Molecular Biology, 175(3), (1984), 371-394.
58. Stokke, B.T., Smidsrød, O., and Elgsaeter, A., "*Electron microscopy of native xanthan and xanthan exposed to low ionic strength*", Biopolymers, 28(2), (1989), 617-637.
59. Lagoueyte, N. and Paquin, P., "*Effects of microfluidization on the functional properties of xanthan gum*". Food Hydrocolloids, 12(3), (1998), 365-371.
60. Muller, G., Aurhourrache, M., Lecourtier, J., and Chauveteau, G., "*Salt dependence of the conformation of a single-stranded xanthan*", International Journal of Biological Macromolecules, 8(3), (1986), 167-172.
61. Young, S.-L., Martino, M., Kienzle-Sterzer, C., and Torres, J. A., "*Potentiometric titration studies on xanthan solutions*", Journal of the Science of Food and Agriculture, 64(1), (1994), 121-127.

62. Morris, D.J., "*Bacterial Polysaccharides*". In: *Food Polysaccharides and Their Applications*, Stephen A.M. (Ed.), Marcel Dekker Inc., New York, (1995). Chap. 11, 341-375.
63. Co., K., "*Xanthan Gum*". *Natural Biogum for Scientific Water Control*, (1996), 6th edition.
64. Carnali, J.O., "*A dispersed anisotropic phase as the origin of the weak-gel properties of aqueous xanthan gum*", *Journal of Applied Polymer Science*, 43(5), (1991), 929-941.
65. Richardson, R.K. and Ross-Murphy, S.B., "*Non-linear viscoelasticity of polysaccharide solutions. 2: Xanthan polysaccharide solutions*", *International Journal of Biological Macromolecules*, 9(5), (1987); 257-264.
66. Candia, J.L.F. and Deckwer, W.D., "*Effect of the Nitrogen Source on Pyruvate Content and Rheological Properties of Xanthan*", *Biotechnology Progress*, 15(3), (1999), 446-452.
67. LOUISOT, P., "*Biochimie générale et médicale- structurale métabolique et sémiologique*", E. Villeurbanne, Paris, (1983), 325-389.
68. DENNISTON, K.J., "*Principles and applications of organic and biological chemistry*", Ed.Wm.c . Brown publishers, (1997).
69. Dickinson, E., "*Les colloïdes alimentaires. Série Sciences de l'Ingénieur*", ed. Masson, Paris, (1996).
70. Reiffers-Magnani, C.K., Cuq, J.L., and Watzke, H.J., "*Depletion flocculation and thermodynamic incompatibility in whey protein stabilised O/W emulsions*", *Food Hydrocolloids*, 14(6), (2000), 521-530.
71. Adrien J., F.R., "*La science alimentaire de A à Z*", Tec et DOC Lavoisier, (1994-1998).
72. Holt, C., "*Casein micelle substructure and calcium phosphate interactions studied by sephacryl column chromatography*", *Journal of Dairy Science*, 81, (1998), 2994-3003.
73. Murphy, J.M. and Fox, P.F., "*Functional properties of α - κ - or β -rich casein fractions*", *Food Chemistry*, 39(2), (1991), 211-228.

74. Leclerc, E. and Calmettes, P., "*Interactions in micellar solutions of b-casein*", *Physica B*, 234-236, (1997), 207-209.
75. Swaisgood, H.E., "*Review and update of casein chemistry*", *Journal of Dairy Science*, 76, (1993), 3054-3061.
76. Morr, C.V., "*Chemistry of Milk Proteins in Food Processing*", *Journal of dairy science*, 58(7), (1975), 977-984.
77. Chu, B., Zhou, Z., Wu, G., Farrell, H.M. Jr., "*Laser light scattering of model casein solutions: effects of high temperature*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 170(1), (1995), 102-112.
78. Lucey, J.A., Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P.A., "*Characterization of commercial and experimental sodium caseinates by multiangle laser light scattering and size-exclusion chromatography*", *Journal. Agricultural. Food Chemistry.*, 48, (2000), 1610-1616.
79. Dickinson, E., Semenova, M.G., Belyakova, L.E., Antipova, A.S., L'in, M.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 Interface Sciences*, 239(1), (2001), 87-97.
80. HadjSadok, A., Pitkowski, A., Nicolai, T., Benyahia, L., and Moulai-Mostefa, N., "*Characterisation of sodium caseinate as a function of ionic strength, pH and temperature using static and dynamic light scattering*". *Food Hydrocolloids*, 22(8), (2008), 1460-1466.
81. Nash, W., Pinder, D. N., Hemar, Y., Singh, H., "*Dynamic light scattering investigation of sodium caseinate and xanthan mixtures*", *International Journal of Biological Macromolecules*, 30(5), (2002), 269-271.
82. Tolstoguzov, V., "*Thermodynamic aspects of dough formation and functionality*". *Food Hydrocolloids*, 11(2), (1997), 181-193.
83. Samant, S.K., Singhal, R. S., Kulkarni, P. R., and Rege, D. V., "*Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulations*", *International Journal of Food Science & Technology*, 28(6), (1993), 547-562.

84. Castelain., C., "*Interaction Protéines - Polysides. In: Propriétés Fonctionnelles de Polysaccharides*". Colonna M. & Thibault M. (Eds.), Éditions Apria., (1986), 281-296.
85. Tolstoguzov, V., Harry Walter, D.E.B., and Paul, A.S., "*Compositions and Phase Diagrams for Aqueous Systems Based on Proteins and Polysaccharides*", in *International Review of Cytology.*, Academic Press. (1999), 3-31.
86. Tolstoguzov, V.B., "*Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction*". *Food Hydrocolloids*, 4(6), (1991), 429-468.
87. Tolstoguzov, V.B., "*Some Physico-chemical aspects of Protein Processing in Foods. Functional Properties. In: Gums and Stabilizers for the Food Industry*", Phillips G.O., Williams P.A. & Wedlock D.J. (Eds.), Oxford University Press. 7, (1994), 115, 124.
88. Tolstoguzov, V.B., "*Functional properties of protein-polysaccharide mixtures. In: Functional properties of food macromolecules*", Elsevier Applied Science, London, (1986), 385 - 415.
89. Tolstoguzov, V.B., "*Some physico-chemical aspects of protein processing in foods. Multicomponent gels*", *Food Hydrocolloids*, 9(4), (1995), 317-332.
90. Sanchez, C. Paquin, P., "*Protein and Protein - Polysaccharide Microparticles*", *Food Proteins and Their Applications*, 17, (1997), 503-528.
91. Dickinson, E. and Golding, M., "*Influence of calcium ions on creaming and rheology of emulsions containing sodium caseinate*", *Colloids and Surfaces. A. Physicochemical and Engineering Aspects*, 144, (1998), 167-177.
92. Ahmed L.S., X.J., Dubin P. and Kokufuta E., "*Stoichiometry and the mechanism of complex formation in protein- polyelectrolyte coacervation*", *J.M.S.-, Pure and Applied Chemistry*, A31 (1), (1994), 17-29.
93. Syrbe, A., W.J. Bauer, and H. Klostermeyer, *Polymer science concepts in dairy systems - An overview of milk protein food hydrocolloid interaction. International Dairy Journal*, 1998. 8: p. 179-193.

94. Burgess, D.J , Carless, J.E., " *Microelectrophoretic studies of gelatin and acacia for the prediction of complex coacervation*", Journal of Colloid and interface Science, 98 (1), (1984), 1-8.
95. Tolstoguzov, V.B., " *Functional Properties of Food Proteins and Role of Protein- Polysaccharide Interaction*", Review, Food Hydrocolloids, 4 (6), (1991), 429-468.
96. Burgess, D.J., " *Complex Coacervation: Micro-Capsule Formation*", In: *Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology*,. Chap. 17, (Dubin P., Bock J., Davies R.M., Schulz D.N. & Thies C. (Eds.), Springer, Berlin, (1994), 285-300.
97. Li Y., Xia J. and Dubin P.L., " *Complex formation between polyelectrolyte and oppositely charged mixed micelles: static and dynamic light scattering study of the effect of polyelectrolyte molecular weight and concentration*", Macromolecules, 27 (24), (1994), 7049-7055. .
98. Tolstoguzov, V.B., " *Structure-property relationships in foods*", In: *Macromolecular Interactions in Foods Technology*, ACS Symposium Series 650, Paris N., Kato A., Creamer L. & Pearce J. (Eds.), American Chemical Society, Washington, DC. (1996), 2-14.
99. Larichev, N.A., Gurov, A.N. and Tolstoguzov, V.B., " *Protein-polysaccharide complexes at the interphase. 1. Characteristics of decane/ water emulsions stabilized by complexes of bovine serum albumin with dextran sulphate*". Colloids and Surfaces, 6(1), (1983), 27-34.
100. Ledward, D.A., " *Protein-polysaccharide interactions*", In: *Protein Functionality in Food Systems*,. Hettlerachchy, N.S. & Ziegler, G.R. (Eds.), Marcel Dekker Inc., NY. (1994), 225-259.
101. Ding, J.M. and H.J. Keh, " *The Electrophoretic Mobility and Electric Conductivity of a Concentrated Suspension of Colloidal Spheres with Arbitrary Double-Layer Thickness*", Journal of Colloid and Interface Science, 236(1) (2001), 180-193.
102. Škvarla, J., " *Hard versus Soft Particle Electrokinetics of Silica Colloids*", Langmuir, 23(10), (2007), 5305-5314.

103. Ohshima, H., "*Electrophoretic mobility of a highly charged soft particle: Relaxation effect*", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 376 (1-3), (2011), 72-75.
104. Ohshima, H., "*Electrophoretic Mobility of Soft Particles*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 163(2), (1994), 474-483.
105. Dukhin, S.S., "*Non-equilibrium electric surface phenomena*". *Advances in Colloid and Interface Science*, 44(0), (1993), 1-134.
106. Dukhin, S.S., R. Zimmermann, and C. Werner, "*Electrophoresis of soft particles at high electrolyte concentrations: An interpretation by the Henry theory*". *Journal of Colloid and Interface Science*, 313(2), (2007), 676-679.
107. O'Brien, R.W., "*The electrical conductivity of a dilute suspension of charged particles*". *Journal of Colloid and Interface Science*, 81(1), (1981), 234-248.
108. Ohshima, H., "*Electrophoretic mobility of rigid colloidal particles*", *Chapter 3 in Interface Science and Technology*, O. Hiroyuki, Editor. (2006), Elsevier, 56-110.
109. Delgado, A.V., González-Caballero, F., Hunter, R. J., Koopal, L. K., and Lyklema, J., "*Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena*". *Journal of Colloid and Interface Science*, 309(2), (2007), 194-224.
110. Duval, J.F.L. and H.P. van Leeuwen, "*Electrokinetics of Diffuse Soft Interfaces. 1. Limit of Low Donnan Potentials*", *Langmuir*, 20(23), (2004), 10324-10336.
111. Ohshima, H., "*A Simple Expression for Henry's Function for the Retardation Effect in Electrophoresis of Spherical Colloidal Particles*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 168(1), (1994), 269-271.
112. Saville, D.A., "*Electrokinetic Properties of Fuzzy Colloidal Particles*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 222(1), (2000), 137-145.
113. Hill, R.J., D.A. Saville, and W.B. Russel, "*Polarizability and complex conductivity of dilute suspensions of spherical colloidal particles with charged (polyelectrolyte) coatings*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 263(2), (2003), 478-497.

114. Hill, R.J., D.A. Saville, and W.B. Russel, "*Electrophoresis of spherical polymer-coated colloidal particles*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 258(1), (2003), 56-74.
115. López-García, J.J., C. Grosse, and J. Horno, "*Numerical study of colloidal suspensions of soft spherical particles using the network method: 1. DC electrophoretic mobility*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 265(2), (2003), 327-340.
116. Morris, E.R., Rees, D. A., Welsh, E. J., Dunfield, L. G., and Whittington, S. G., "*Relation between primary structure and chain flexibility of random coil polysaccharides: calculation and experiment for a range of model carrageenans*", *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (8), (1978), 793-800.
117. Lin, K.-F. and Cheng, H.L., "*A Simple Method To Estimate Chain Conformations of Polyelectrolytes in the Semidilute Regime*", *Macromolecules*, 33(13), (2000), 4961-4965.
118. Antonietti, M., Foerster, S., Zisenis, M., and Conrad, J., "*Solution Viscosity of Polyelectrolyte-Surfactant Complexes: Polyelectrolyte Behavior in Nonaqueous Solvents*", *Macromolecules*, 28(7), (1995), 2270-2275.
119. Antonietti, M., Briel, A., and Förster, S., "*Quantitative Description of the Intrinsic Viscosity of Branched Polyelectrolytes*", *Macromolecules*, 30(9), (1997), 2700-2704.
120. Turner, S.R., Walter, F., Voit, B. I., and, Mourey, T. H., "*Hyperbranched Aromatic Polyesters with Carboxylic Acid Terminal Groups*", *Macromolecules*, 27(6), (1994), 1611-1616.
121. Mylonas, Y., G. Staikos, and M. Ullner, "*Chain conformation and intermolecular interaction of partially neutralized poly(acrylic acid) in dilute aqueous solutions*", *Polymer*, 40(24), (1999), 6841-6847.
122. Antonietti, M., A. Briel, and S. Förster, "*Intrinsic viscosity of small spherical polyelectrolytes: Proof for the intermolecular origin of the polyelectrolyte effect*", *The Journal of Chemical Physics*, 105(17), (1996), 7795-7807.

123. García-Salinas, M.J. and F.J. de las Nieves, "*Anomalous Trends in the Electroviscous Effect of Polystyrene Latexes: Experimental and Theoretical Study*". *Langmuir*, 16(18), (2000), 7150-7155.
124. Bor Chen, S., "*Electroviscous effect of rodlike polyelectrolytes in strong flow*", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 159(2–3), (1999), 381-393.
125. Chen, C. and S. Allison, "*Boundary Element Modeling of the Primary Electroviscous Effect of Dilute Sodium Poly(styrenesulfonate) in Monovalent Salt Solutions*", *Macromolecules*, 34(23), (2001), 8397-8398.
126. García-Salinas, M.J. and F.J. de las Nieves, "*Influence of counterion type and diffusion on the primary electroviscous effect*", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 222(1–3), (2003), 65-77.
127. Rubio-Hernández, F.J., Gómez-Merino, A. I., Ruiz-Reina, E., and Carnero-Ruiz, C., "*The primary electroviscous effect of polystyrene latexes*", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 140(1–3), (1998), 295-298.
128. Ruiz-Reina, E., Carrique, F., Rubio-Hernández, F. J., Gómez-Merino, A. I., and García-Sánchez, P., "*Electroviscous Effect of Moderately Concentrated Colloidal Suspensions*". *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(35), (2003), 9528-9534.
129. Sherwood, J.D., "*Cell Models for the Primary Electroviscous Effect*", *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(13), (2007), 3370-3378.
130. Allison, S.A., "*The Primary Electroviscous Effect of Rigid Polyions of Arbitrary Shape and Charge Distribution*", *Macromolecules*, 31(14), (1998), 4464-4474.
131. Blachford, J., F.S. Chan, and D.A.I. Goring, "*Secondary electroviscous effect. Paths of approach of two charged spheres in a viscous medium*", *The Journal of Physical Chemistry*, 73(4), (1969), 1062-1065.
132. Natraj, V. and S.B. Chen, "*Primary Electroviscous Effect in a Suspension of Charged Porous Spheres*". *Journal of Colloid and Interface Science*, 251(1), (2002), 200-207.

133. Pu, Q., Ng, S., Mok, V., and Chen, S.B., "*Ion Bridging Effects on the Electroviscosity of Flexible Polyelectrolytes*". *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(37), (2004), 14124-14129.
134. Anderson, J.L., "*Concentration dependence of electrophoretic mobility*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 82(1), (1981), 248-250.
135. Ho, A.K., J.M. Perera, and G.W. Stevens, "*The Effect of Protein Concentration on Electrophoretic Mobility*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 224(1), (2000), 140-147.
136. Shugai, A.A., Carnie, S.L., Chan, D. Y. C., and Anderson, J.L., "*Electrophoretic Motion of Two Spherical Particles with Thick Double Layers*". *Journal of Colloid and Interface Science*, 191(2), (1997), 357-371.
137. Rodd, A.B., D.E. Dunstan, and D.V. Boger, "*Characterisation of xanthan gum solutions using dynamic light scattering and rheology*". *Carbohydrate Polymers*, 42(2), (2000), 159-174.
138. Kuwabara, S., "*The Forces experienced by Randomly Distributed Parallel Circular Cylinders or Spheres in a Viscous Flow at Small Reynolds Numbers*". *Journal of the Physical Society of Japan*, 14(4), (1959), 527-532.
139. Carrique, F., F.J. Arroyo, and A.V. Delgado, "*Electrokinetics of Concentrated Suspensions of Spherical Colloidal Particles: Effect of a Dynamic Stern Layer on Electrophoresis and DC Conductivity*". *Journal of Colloid and Interface Science*, 243(2), (2001), 351-361.
140. Ohshima, H., "*Electrical double layer around a charged colloidal particle in an electrolyte solution*", Chapter 1, in *Interface Science and Technology*, O. Hiroyuki, Editor. (2006), Elsevier, 1-38.
141. Hadjsadok, A., "*Etude rhéologique et physicochimique des systèmes à structure complexe à base de caséinate de sodium*". Thèse de doctorat, (2009), Université de Blida.
142. Nash, W., "*A dynamic light scattering investigation into the dynamics of non ideal ternary polymer solutions*". Thesis PhD in Physics (2004), Massey University.

143. O'Brien, R.W., "*The solution of the electrokinetic equations for colloidal particles with thin double layers*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 92(1), (1983), 204-216.
144. Choppe, E., Paud, F., Nicolai, T., and Benyahia, L., "*Rheology of xanthan solutions as a function of temperature, concentration and ionic strength*". *Carbohydrate Polymers*, 82(4), (2010), 1228-1235.
145. Oliveira, J.D., Silva, D. A., de Paula, R. C. M., Feitosa, J. P. A., and Paula, H. C. B., "*Composition and effect of salt on rheological and gelation properties of Enterolobium contortisiliquum gum exudate*", *International Journal of Biological Macromolecules*, 29(1), (2001), 35-44.
146. Camesano, T.A. and K.J. Wilkinson, "*Single Molecule Study of Xanthan Conformation Using Atomic Force Microscopy*", *Biomacromolecules*, 2(4) (2001), 1184-1191.
147. Pelletier, E., Viebke, C., Meadows, J., and Williams, P. A., "*A rheological study of the order–disorder conformational transition of xanthan gum*". *Biopolymers*, 59(5), (2001), 339-346.
148. Capron, I., G. Brigand, and G. Muller, "*Thermal denaturation and renaturation of a fermentation broth of xanthan: rheological consequences*", *International Journal of Biological Macromolecules*, 23(3), (1998), 215-225.
149. HadjSadok, A., N. Moulai-Mostefa, and M. Rebiha, "*Rheological Properties and Phase Separation of Xanthan-Sodium Caseinate Mixtures Analyzed by a Response Surface Method*". *International Journal of Food Properties*, 13(2), (2010), 369-380.
150. Rebiha, M., N. Moulai-Mostefa, A. Hadj Sadok, N. Sabri, "*Comportement rhéologique des systèmes mixtes biopolymères /protéines*". *Journal Physics IV France*, 124, (2005), 183-188.
151. Dimitrova, T.D. and F. Leal-Calderon, "*Forces between Emulsion Droplets Stabilized with Tween 20 and Proteins*", *Langmuir*, 15(26), (1999), 8813-8821.

152. Chen, J. and E. Dickinson, "*Viscoelastic Properties of Protein-Stabilized Emulsions: Effect of Protein-Surfactant Interactions*". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(1), (1998), 91-97.
153. Dickinson, E. and C. Ritzoulis, "*Creaming and Rheology of Oil-in-Water Emulsions Containing Sodium Dodecyl Sulfate and Sodium Caseinate*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 224(1), (2000), 148-154.
154. Chen, J. and E. Dickinson, "*Time-dependent competitive adsorption of milk proteins and surfactants in oil-in-water emulsions*", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(3), (1993), 283-289.
155. Dickinson, E., C. Ritzoulis, and M.J.W. Povey, "*Stability of Emulsions Containing Both Sodium Caseinate and Tween 20*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 212(2), (1999), 466-473.
156. Dickinson, E. and M. Golding, "*Depletion flocculation of emulsions containing unadsorbed sodium caseinate*". *Food Hydrocolloids*, 11(1), (1997), 13-18.
157. Dickinson, E., M. Golding, and M.J.W. Povey, "*Creaming and flocculation of oil-in-water emulsions containing sodium caseinate*". *Journal of Colloid and Interface Science*, 185, (1997), 515-529.