

N° d'ordre : 4196

# THÈSE

Présentée à

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX I

École Doctorale des Sciences Chimiques

Par

VINCENT PALLUAULT

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : Doctorat en Polymères

---

**Nouveaux traitements de surface respectueux de  
l'environnement par des gels polymères réticulables**

**Application à la préparation des surfaces d'usage dans le secteur  
aéronautique**

---

Présentée et soutenue le 20 Décembre 2010

## COMPOSITION DU JURY

M.	<b>Alain SOUM</b>	LCPO (Bordeaux)	Président du jury
M.	<b>Maurice BROGLY</b>	UHA (Mulhouse)	Rapporteur
M.	<b>Jean-François CHAILAN</b>	MAPIEM (Toulon)	Rapporteur
M.	<b>Marc ANTON</b>	INRA (Nantes)	Examineur
M.	<b>Guy LARNAC</b>	EADS Astrium (Bordeaux)	Examineur
Mme	<b>Marie-Pierre FOULC</b>	RESCOLL (Bordeaux)	Commanditaire industriel
M.	<b>Eric PAPON</b>	LCPO (Bordeaux)	Directeur de thèse
M.	<b>Fernando LEAL-CALDERON</b>	TREFLE (Bordeaux)	Co-Directeur de thèse



*A ma mère*



## Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé dans le cadre du dispositif de Conventions Industrielles de Formation par la Recherche (CIFRE) mis en œuvre par l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie. Thèse associant le Centre de Ressources Technologiques RESCOLL, le laboratoire TREFLE et le Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques (LCPO). Le dispositif CIFRE m'a permis de réaliser mes travaux dans des entités bien distinctes mais très complémentaires et d'être épaulé par des gens formidables par leurs compétences et leur gentillesse.

Je remercie les membres du jury dont les nombreuses remarques et suggestions ont contribué à améliorer la qualité de ce mémoire. Je remercie aussi les membres extérieurs du jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail.

Je remercie les instigateurs de ce projet, José Alcorta, Fernando Leal-Calderon et Eric Papon, pour m'avoir fait confiance, mais aussi pour leur soutien et leurs conseils durant ces trois années.

Je remercie tous ceux sans qui cette thèse ne serait pas ce qu'elle est : aussi bien par les discussions que j'ai eu la chance d'avoir avec eux, que par leurs suggestions ou leurs contributions. Je pense particulièrement à MM. Laurent Servant et Jean-Luc Bruneel de l'Institut des Sciences de Bordeaux pour leur aide précieuse en spectroscopie Raman, M. Michel Lahaye et Mme. Christine Labrugère du Centre de Caractérisation des Matériaux Avancés pour leur gentillesse et leur disponibilité ainsi qu'à M. Emmanuel Ibarboure du LCPO pour toutes ces heures passées dans les sous-sols du Centre de Recherche Paul Pascal à percer le secret des alginates par AFM.

Enfin, je tiens à mentionner le plaisir que j'ai eu à travailler au sein de Rescoll. Je souhaite remercier l'ensemble des techniciens, ingénieurs, docteurs et doctorants que j'ai eu le privilège de côtoyer depuis 2007 et qui ont permis, par leurs encouragements et leur assistance aussi bien matérielle que morale, de faire cette thèse dans les meilleures conditions.



# Table des matières

<b>INTRODUCTION</b>	<b>5</b>
<b>CHAPITRE I ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>9</b>
I.1 GENERALITES SUR LA PREPARATION DES SURFACES	9
I.1.1 Contexte	9
I.1.2 Préparation des surfaces	10
I.1.3 Les fluides de coupe	13
I.2 DEVELOPPEMENT DES OBJECTIFS DE LA THESE	14
I.3 ETAT DE L'ART	17
I.3.1 Les alginates	17
I.3.2 Composition des alginates	19
I.3.3 Propriétés des alginates	24
I.4 FORMATION DES HYDROGELS D'ALGINATE DE CALCIUM	27
I.4.1 Les hydrogels	27
I.4.2 Modèle de la boîte à œufs (Egg-box model)	28
I.4.3 Etapes de formation des gels d'alginate de calcium	31
I.4.4 Etats de gel	33
I.4.5 Synérèse	37
I.4.6 Stabilité des hydrogels	37
I.4.7 Propriétés mécaniques des gels d'alginates	39
I.4.8 Diffusion des espèces à travers l'hydrogel	42
I.4.9 Conclusion	43
<b>CHAPITRE II MATERIEL ET METHODES</b>	<b>45</b>
II.1 LES TECHNIQUES DE MISES EN ŒUVRE DES FILMS	45
II.1.1 Technique du spin-coating	45
II.1.2 Méthodes de dépose des solutions	46
II.2 LES TECHNIQUES D'ANALYSE	49
II.2.1 Mesures d'angle de contact	49
II.2.2 Diffusion Dynamique de la Lumière	50
II.2.3 Chromatographie en phase Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse (GCMS)	52
II.2.4 Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	53
II.2.5 Analyses thermiques (DSC et ATG)	55
II.2.6 Microscopie à force atomique	57
II.2.7 Rhéologie	58
<b>CHAPITRE III PREPARATION DE GELS D'ALGINATE DE CALCIUM</b>	<b>63</b>
III.1 CARACTERISATION DES ALGINATES	63
III.1.1 Détermination de la masse molaire	63
III.1.2 Détermination de la composition des alginates	66
III.1.3 Critères du choix de l'alginate	68
III.2 CARACTERISATION DES SOLUTIONS D'ALGINATE	69
III.2.1 Etude gravimétrique de solutions d'alginate	69
III.2.2 Propriétés rhéologiques des alginates en solution	72
III.2.3 Etude de la morphologie des alginates par AFM	74
III.3 CONDITIONS DE PREPARATION DES GELS D'ALGINATE DE CALCIUM	80
III.3.1 Choix des concentrations de travail	80
III.3.2 Cinétique de migration du calcium dans l'alginate	81
III.3.3 Etude gravimétrique d'une solution d'alginate réticulée au calcium	89
III.3.4 Propriétés thermiques des films d'alginate de calcium	92
III.3.5 Aspect du film d'alginate de calcium	95
III.3.6 Les différentes étapes de formation du film d'alginate de calcium	99

III.3.7	<i>Compétition entre évaporation et diffusion</i>	100
III.4	<b>CARACTERISATION DES FILMS D'ALGINATE DE CALCIUM</b>	<b>103</b>
III.4.1	<i>Caractérisation par Spectrométrie Photoélectronique X</i>	103
III.4.2	<i>Microsonde X</i>	106
III.4.3	<i>Morphologie des brins d'alginate au contact avec le calcium</i>	117
III.4.4	<i>Propriétés mécaniques des films d'alginate de calcium</i>	120
III.5	<b>CONCLUSION</b>	<b>129</b>
<b>CHAPITRE IV</b>	<b>MISE AU POINT DE LA SOLUTION DETERGENTE PELABLE</b>	<b>133</b>
IV.1	<b>CHOIX DE LA FORMULATION DETERGENTE ET DES SOUILLURES</b>	<b>133</b>
IV.1.1	<i>Mise au point du protocole de dégraissage</i>	133
IV.1.2	<i>Préparation des souillures modèles</i>	137
IV.2	<b>PROTOCOLE DE DEGRAISSAGE DES SURFACES SOUILLEES</b>	<b>140</b>
IV.2.1	<i>Application de la solution détergente</i>	141
IV.2.2	<i>Pulvérisation du calcium</i>	148
IV.2.3	<i>Temps d'attente avant pelage</i>	150
IV.2.4	<i>Conclusions sur le choix du procédé de détergence</i>	151
IV.2.5	<i>Effet de la solution détergente sur l'alginate</i>	153
IV.3	<b>PROPRIETES DES FILMS PELES</b>	<b>157</b>
IV.3.1	<i>Propriétés mécaniques des films pelés</i>	157
IV.3.2	<i>Identification des souillures</i>	158
IV.3.3	<i>Angles de contact d'une surface composite traitée</i>	160
<b>CONCLUSION GENERALE</b>		<b>163</b>





# Introduction

De nombreux utilisateurs industriels des procédés de dégraissage des surfaces sont, ou seront amenés, pour des raisons environnementales ou réglementaires, à mettre en œuvre des traitements de surface permettant une diminution de l'impact écologique de ces procédés. Ces démarches ont déjà été entamées et certains solvants toxiques ont été remplacés (substitution de la méthyléthyl cétone par d'autres compositions solvantes à volatilité contrôlée par exemple).

D'une façon générale, l'ambition des industriels est de réduire la quantité de déchets ultimes générés par leur activité. Dans le cas des opérations de dégraissage lessiviel, les quantités de déchets à traiter sont très importantes (solutions détergentes, solutions de rinçage). Or actuellement, si les technologies pour un dégraissage lessiviel de surface efficace sont connues et de mieux en mieux maîtrisées, très peu de systèmes permettent une diminution du volume de déchets généré.

Dans le monde actuel du « tout écologique » et du développement durable, l'intérêt de mettre au point et proposer un procédé permettant cette diminution est évident et stratégique.

Aussi RESCOLL centre technologique, le laboratoire TREFLE et le Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques (LCPO) ont-ils choisi d'initier des travaux dans le but de mettre au point un procédé innovant de dégraissage des surfaces pouvant être utilisé dans de nombreux domaines et en particulier en aéronautique, afin d'assurer le dégraissage des surfaces de matériaux composites usinés.

La principale idée de cette thèse est de développer un procédé de dégraissage de surface à base d'une solution détergente réticulable qui peut être pelée une fois l'action détergente effectuée. Les propriétés de réticulation des solutions aqueuses d'alginate en présence de calcium ont été mises à profit pour permettre la réticulation d'une solution détergente. Ce défi technologique soulève de nombreuses questions sur le plan scientifique :

- ❑ Quelle est la cinétique de diffusion du calcium dans la phase aqueuse d'alginate ?
- ❑ Quelle est l'influence de l'évaporation de la phase aqueuse dans le processus de gélification ?

- ❑ Quelles sont les propriétés mécaniques du gel formé ?
- ❑ Quelles sont les interactions entre la solution détergente et l'alginate ? Quelle est leur compatibilité ?

Compte-tenu de l'absence totale de travaux antérieurs sur ce sujet, une étude bibliographique a été indispensable pour obtenir de plus amples informations sur les différentes propriétés des alginates (chapitre I).

Sur la base de cette étude, les différents paramètres qui gouvernent le procédé de réticulation des alginates ont été évalués afin de démontrer la faisabilité d'un procédé de détergence utilisant ces alginates comme matrice potentiellement réticulable. En particulier, la cinétique de formation des gels d'alginate de calcium a été étudiée (chapitre III).

Enfin, une formulation détergente réticulable a été mise au point et son efficacité a été caractérisée. Des essais exploratoires sur des surfaces de matériaux composites souillés ont été effectués. Dans l'optique d'une exploitation industrielle de ce procédé, différentes méthodes de mise en œuvre ont été testées afin d'en optimiser l'efficacité (chapitre IV).





# Chapitre I Etude bibliographique

## I.1 Généralités sur la préparation des surfaces

### I.1.1 Contexte

La préparation des surfaces est l'une des phases essentielles de tout procédé industriel impliquant des opérations de collage, d'enduction ou de peinture. En effet, il est impératif que ces surfaces soient dénuées de toute pollution, souillure ou couche de faible cohésion avant de pouvoir y effectuer un dépôt, qu'il s'agisse d'un adhésif ou d'un revêtement de protection ou de finition. Le dégraissage des surfaces en particulier permet de nettoyer et préparer la surface d'un matériau tout en lui conférant un état de surface connu.

La préparation de surface des matériaux composites après l'opération d'usinage constitue un enjeu industriel de grande envergure. Si on considère le cas d'une aile d'avion construite en matériaux composites (avec un réseau de renforts métalliques par exemple), la voilure joue un double rôle : celui de porter l'avion mais également de contenir le carburant. L'intérieur de la voilure doit donc être parfaitement préparé afin que les produits d'étanchéité (du type mastic élastomère) puissent adhérer correctement aux surfaces et ainsi remplir leur fonction. Or, contrairement à l'extérieur de la voilure, l'intérieur est constitué de surfaces orientées dans les trois dimensions de l'espace, avec de nombreuses cavités et anfractuosités pouvant rendre extrêmement long et difficile le travail de préparation. Celui-ci est d'autant plus difficile que les résidus provenant de l'usinage des composites et des huiles de coupe forment un mélange de viscosité importante qui adhère fortement sur les surfaces des matériaux. Etant donné l'extrême fragilité et le coût important de ces pièces, un nettoyage peu contraignant sur le plan mécanique s'impose. C'est ainsi qu'à ce jour seule l'intervention humaine – opérateurs dégraissant les surfaces à l'aide de chiffons et de solvants organiques - a permis l'obtention de résultats techniques satisfaisants.

Cette opération présente cependant des inconvénients considérables. Outre son aspect chronophage qui la rend pénalisante sur le plan financier, elle présente un manque de répétitivité évident du fait de l'intervention manuelle et de résultats obtenus qui sont fonctions de la variable « opérateur » non maîtrisable. De plus, en raison des évolutions de la législation, mais surtout de la nécessité de protéger l'environnement ainsi que les opérateurs, il est aujourd'hui essentiel de proposer des alternatives à l'emploi de solutions oxydantes (qui associent généralement des composés très agressifs à base de chrome ou de phosphore) ou qui nécessitent l'emploi de solvants par nature volatils et toxiques.

## I.1.2 Préparation des surfaces

Il est nécessaire de distinguer le traitement des surfaces de la préparation des surfaces. Dans la suite de ce document, la préparation des surfaces des matériaux composites regroupe toutes les opérations postérieures à la fabrication des pièces : élimination des produits de démoulage, traitement des surfaces, abrasion, etc. Le traitement des surfaces sera considéré comme une étape à part entière de la préparation des surfaces car il conduit à une modification de l'état de surface du matériau composite grâce à des processus physiques (flamage, traitement Corona, traitement Plasma, etc) ou chimiques (bain sulfo-chromique, traitement au sodium naphthalénide, au résorcinol, etc.).

Pour bien comprendre l'impact des préparations de surface sur les propriétés des matériaux composites, il est nécessaire de distinguer les composites non-usinés des composites usinés. Les composites non-usinés présentent l'avantage de ne pas avoir subi de modifications postérieures à la fabrication des pièces. La plupart du temps, celles-ci sont utilisées telles quelles après avoir subi quelques opérations mineures de préparation de surface, essentielles lorsque ces surfaces sont destinées à être collées. Ces opérations peuvent être :

- ❑ **L'élimination des produits de démoulage.** Pour faciliter le démoulage des pièces, il est possible d'utiliser un agent de démoulage (silicone, stéarate ou autre). Ces produits peuvent ensuite être éliminés à l'aide d'une solution détergente ou de solvants.
- ❑ **L'utilisation d'un système « Tear Ply » ou tissu de délaminage afin d'obtenir une surface propre.** Ce système consiste à appliquer lors de la fabrication du composite un feuillet très résistant (type Dacron) dans la couche superficielle de la résine. Il suffit alors de peler ce feuillet au moment de la pose de la matière adhésive afin d'obtenir une surface propre de toute pollution (agent de démoulage, pollution extérieure).

A contrario, les composites usinés sont susceptibles de subir de nombreuses modifications consécutives à leur fabrication :

- ❑ **L'usinage par enlèvement de copeaux.** C'est la méthode d'usinage conventionnelle. Elle regroupe toutes les techniques du type : cisailage, poinçonnage, sciage, tournage, fraisage, perçage, etc. Ces techniques créent de très nombreuses salissures.
- ❑ **La découpe au LASER.** Cette technique est très pratique car elle ne génère pas de résidus durant la découpe (la matière est vaporisée). Elle est en revanche très couteuse et le matériau traité peut présenter des dégradations dues aux fortes températures qui sont atteintes.

- ❑ **L'usinage par jet d'eau.** Cette méthode permet de s'affranchir des problèmes d'échauffement (pas de dégradation thermique). De plus, les poussières issues de la découpe sont emportées par l'eau. Cette technique est cependant limitée par la divergence et la perte de puissance du jet.

Une autre opération essentielle et préalable à toute opération de collage est le dégraissage. Il a essentiellement pour but d'éliminer les graisses animales, végétales ou minérales ainsi que leurs produits de dégradation et toutes les souillures qu'elles retiennent. Cette opération s'effectue, soit par voie chimique ou électrolytique au moyen de solvants organiques ou en milieu aqueux lessiviel, soit par voie plus mécanique au moyen de fluides supercritiques, billes de glace, ultrasons et même plasmas froids.

Dans la pratique, l'opération de dégraissage se subdivise en deux grandes classes :

- ❑ Un prédégraissage aux solvants ou aux produits lessiviels, qui contribue à éliminer l'essentiel des polluants organiques,
- ❑ Un dégraissage chimique réalisé en milieu aqueux avec une étape de finition à base d'un traitement électrolytique qui contribue à détruire les résidus de corps gras de faible épaisseur.

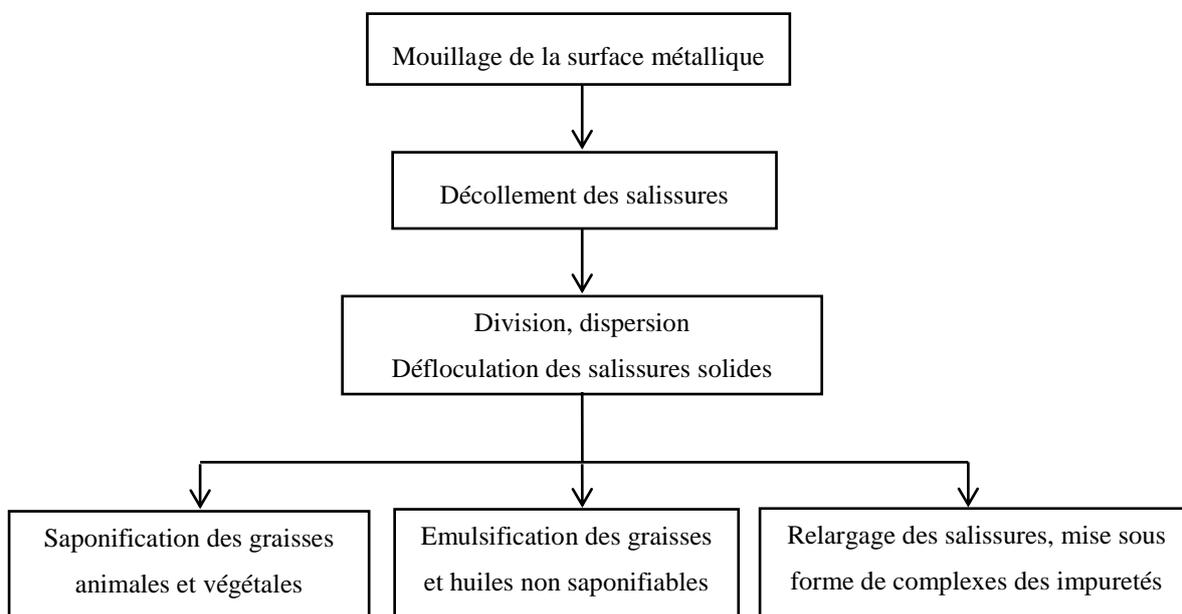
Choisir un procédé de dégraissage nécessite de connaître les constituants des salissures à éliminer et le mode d'action des dégraissants sur ces dernières. Ces salissures proviennent essentiellement des opérations mécaniques suivantes :

- ❑ Elaboration et mise en forme du matériau (usinage, emboutissage, étirage, etc.)
- ❑ Traitement thermique ou thermochimique
- ❑ Protection temporaire pendant les périodes de stockage

Le dégraissage chimique en phase aqueuse est un ensemble de mécanismes complexes et complémentaires (Figure 1) visant pour l'essentiel à assurer les opérations suivantes :

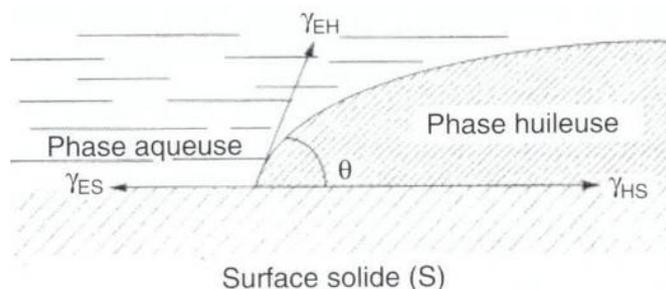
- ❑ **Émulsification** : c'est la migration des corps gras, depuis la surface de la pièce vers la solution et maintien à l'état d'émulsion stable des gouttelettes d'huile ainsi formées
- ❑ **Déflocculation** : détachement des particules solides emprisonnées dans le film gras et maintien de ces dernières en dispersion
- ❑ **Saponification** : transformation des graisses en composés solubles

- ❑ Complexage : éviter la formation de sels insolubles susceptibles de se former sur la surface ou de se déposer à partir de sels présents dans l'eau, comme les sels de calcium et de magnésium



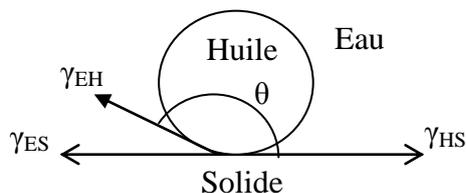
**Figure 1 : Description schématique des séquences de dégraissage chimique**

Ces mécanismes expliquent l'efficacité des différents traitements de surface par voie aqueuse. L'émulsification est l'action principale des dégraissages chimiques et est due à la présence d'agents tensioactifs. Les agents tensioactifs sont des molécules amphiphiles (double affinité pour l'eau et pour l'huile) généralement constituées d'une tête polaire et d'une chaîne hydrocarbonée hydrophobe. Les tensioactifs sont capables de s'adsorber aux interfaces et de rendre la surface mouillable à la solution détergente en abaissant la tension interfaciale eau-solide  $\gamma_{ES}$  (Figure 2). Cette tension, qui est naturellement grande devant la tension interfaciale eau-huile, provoque un angle de raccordement  $\theta$  faible de la phase huileuse avec le substrat.



**Figure 2 : Etalement de la phase huileuse sur une surface métallique**

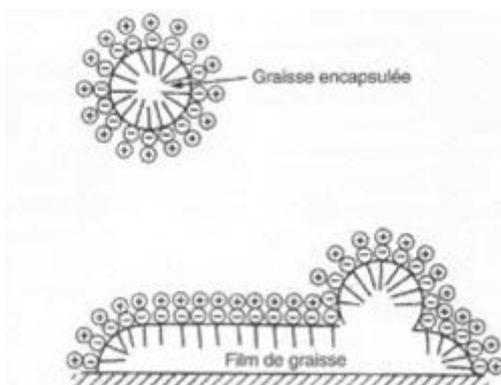
L'adsorption des tensioactifs abaisse  $\gamma_{ES}$  et par conséquent l'angle de raccordement  $\theta$  augmente jusqu'au détachement complet de la goutte d'huile ( $\theta=180^\circ$ ) (Figure 3).



**Figure 3 : Influence de la présence de tensioactifs sur l'angle de contact**

Par ailleurs, les molécules de tensioactifs s'associent spontanément sous la forme d'amas sphériques appelés micelles. La structure sphérique adoptée tend à protéger les queues hydrophobes de l'environnement aqueux. Les micelles peuvent solubiliser de l'huile dans leur cœur hydrophobe, contribuant ainsi à l'action détergente (Figure 4).

Les gouttelettes d'émulsion portent en surface une charge apportée par le tensioactif. Il existe donc un phénomène de répulsion mutuelle entre les gouttelettes d'émulsion qui empêche leur agrégation et garantit leur bonne dispersion dans la phase aqueuse. D'autre part, l'émulsion formée est d'autant plus stable que ces gouttelettes sont petites.



**Figure 4 : Création des gouttelettes d'émulsion**

Un dégraissage chimique en phase aqueuse mettra donc en jeu plusieurs mécanismes dont le rôle consiste d'une part à rompre la liaison huile-substrat en modifiant les énergies d'interaction et d'autre part solubiliser les souillures grasses en les émulsionnant, tout en évitant leur redéposition ultérieure sur la surface traitée.

### I.1.3 Les fluides de coupe

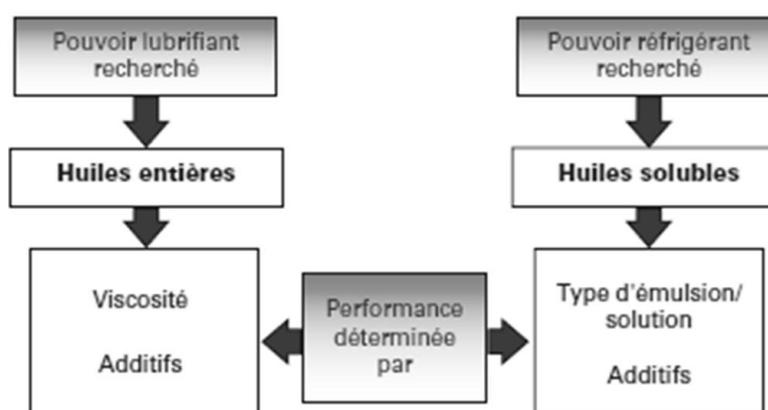
Le frottement entre la pièce à usiner, l'outil et le copeau est la source d'un dégagement de chaleur important. Le lubrifiant a pour rôle soit de limiter cette création de chaleur soit de la

dissiper. Il existe deux catégories principales d'huiles de coupe : les huiles dites « solubles », qui contiennent de l'eau (Tableau 1) et les huiles entières, qui n'en contiennent pas. Les huiles « solubles » sont en réalité des émulsions de type huile-dans-eau.

**Tableau 1 : Différents types d'huiles solubles**

Huiles « solubles » traditionnelles	Emulsions	Fluides semi-synthétiques	Fluides synthétiques
Emulsions laiteuses blanches et grossières (taille des gouttes jusqu'à 10 µm).	Macroémulsions blanches laiteuses et grossières. Taille des gouttes inférieures à 10 µm.	Emulsions fines translucides. Taille des gouttes inférieure à 1 µm.	Solution chimique transparente.
Faible biostabilité. Pas d'agents lubrifiants spécifiques.	Additifs Extrême Pression et antiusure.	Longue durée de vie, biostabilité excellente.	Fort refroidissement et détergence.
Forte teneur en huile pour la protection anticorrosion.	Propriétés d'anticorrosion excellentes.	Coût faible.	Faible moussage, faible lubrification.
Faible prix de revient.	Coût moyen à élevé.		

Pour des opérations d'usinage difficiles, il est conseillé d'utiliser l'huile permettant la meilleure lubrification, c'est-à-dire une huile entière. Pour des opérations d'usinage sources de chaleur pour lesquelles le refroidissement est prioritaire, il est conseillé d'utiliser une huile « soluble » (Figure 5).



**Figure 5 : Critères de choix des fluides de coupe**

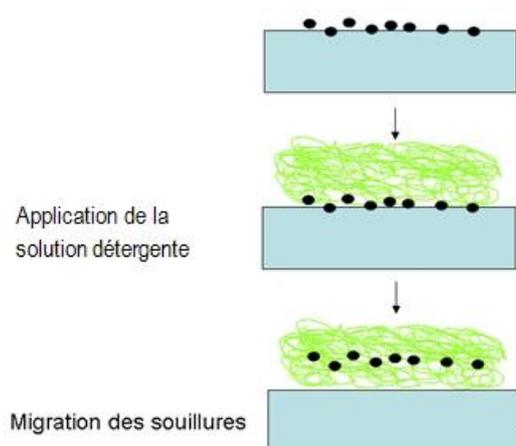
## I.2 Développement des objectifs de la thèse

Dans l'état actuel des connaissances, il semble difficile de proposer de nouvelles méthodes de traitement de surface qui garantissent efficacité et respect de l'environnement. Ainsi l'objectif

principal de la thèse est de proposer une nouvelle méthode de traitement de surface au moyen de solutions aqueuses d'alginate, avec deux objectifs en termes d'efficacité et de respect des contraintes environnementales. Une première phase consiste en la mise au point de solutions d'alginate et l'étude des conditions pour lesquelles des gels tridimensionnels peuvent se former grâce à la complexation d'ions calcium avec les chaînes. Une seconde phase est l'étude du pouvoir détergent des gels réticulés déposés sur des surfaces se rapprochant le plus fidèlement possible des surfaces de composite. Ce concept de dégraissage des surfaces est illustré en Figure 6 et Figure 7.

De nombreux paramètres ont été étudiés comme :

- ❑ la mise en œuvre d'une solution détergente contenant des alginates (mouillabilité, viscosité)
- ❑ la capacité de cette solution détergente à absorber les souillures par migration depuis la surface

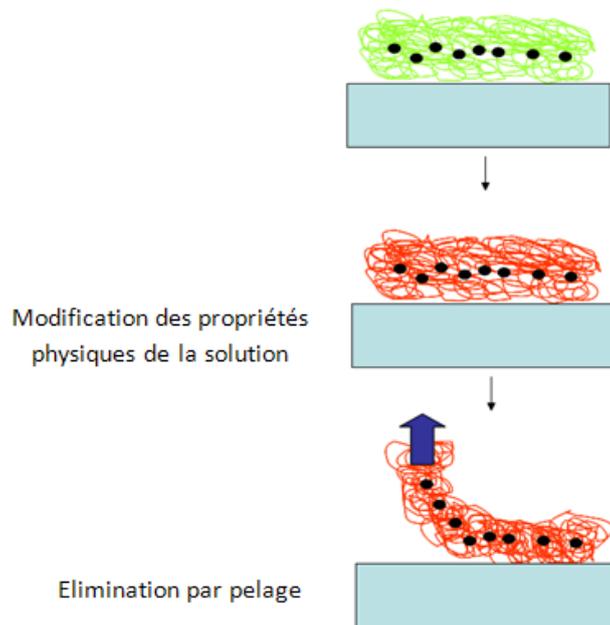


**Figure 6 : Procédé de détergence envisagé**  
**Partie (1/2)**

Une fois les souillures captées, il est possible d'éliminer le mélange {détergent + souillures} par aspiration ou lavage. Cependant, ces opérations ne présentent pas d'intérêt par rapport à une démarche respectueuse de l'environnement car elles nécessitent un traitement des poussières ou des eaux de lavage. Le but de cette thèse est que, conjointement à l'absorption des souillures, la solution détergente puisse changer d'état physique du fait de la réticulation, permettant ainsi son élimination par pelage.

Les paramètres à étudier sont liés :

- ❑ aux mécanismes de gélification de ces systèmes par exposition à une solution de chlorure de Calcium
- ❑ aux propriétés thermomécaniques du gel final pour atteindre une cohésion suffisante qui autorise le pelage, et, enfin,
- ❑ à la qualification et à la quantification des souillures qui restent piégées dans le réseau après gélification.



**Figure 7 : Procédé de détergence envisagé (Partie 2/2)**

La principale difficulté de ce procédé est la compétition entre l'évaporation du solvant, l'absorption des salissures et la gélification. L'étude bibliographique se focalisera essentiellement sur les propriétés particulières des alginates en solution dans l'eau et les gels qui résultent de leur complexation avec les métaux divalents tels que le  $\text{Ca}^{2+}$ .

## I.3 Etat de l'art

### I.3.1 Les alginates

#### *I.3.1.1 Extraction et préparation des alginates*

Les alginates, présents dans tous les types de Phéophycée (algues brunes), sont des polysaccharides structuraux capables non seulement d'apporter la rigidité à l'algue mais aussi d'en prévenir le dessèchement dû à l'exposition à l'air à marée basse (**Andresen, 1977**). On les trouve dans le mucilage des algues brunes, sous la forme d'un sel insoluble, constituant parfois jusqu'à 40% de l'extrait sec de ces algues. Les alginates sont souvent considérés comme l'équivalent marin –en termes de propriétés physiologiques- de la cellulose des plantes terrestres. Les principales espèces à partir desquelles sont extraits les alginates sont :

- ❑ *Macrocystis Pyrifera*, récoltée sur les côtes Australiennes et du Sud de la Californie
- ❑ *Laminaria Hyperborea*, *Laminaria Digitata* et *Ascophyllum Nodosum*, récoltées sur les côtes Européennes

L'acide alginique fut découvert par Stanford dans les années 1880. Son brevet explique que l'alginate peut être obtenu en immergeant les algues dans de l'eau ou dans un acide dilué, puis extrait avec du carbonate de sodium et précipité à l'aide d'une solution acide (**Stanford, 1886**). Ce n'est qu'à partir des années 1930 que la première structure d'acide alginique fut proposée (**Nelson, 1930**). L'analyse des hydrolysats d'alginate révèle alors la présence d'acide d-mannuronique, la nature des liaisons entre les unités d'acide mannuronique étant la même que dans la cellulose soit  $\beta$ 1,4 (**Hirst, 1939**).

Cependant, en 1955, lors d'une étude des acides uroniques et des polyuronides par chromatographie sur couches minces, Fisher et Dörfel (**Fisher, 1955**) ont montré la présence d'un acide uronique différent de l'acide mannuronique dans un hydrolysats d'alginate : l'acide l-guluronique. L'acide alginique est donc un copolymère ayant pour motifs les acides  $\alpha$ -l-guluronique et  $\beta$ -d-mannuronique. La structure de ces motifs sera détaillée au paragraphe 3.2.1.

### 1.3.1.2 Applications industrielles des alginates

La production industrielle d'alginate actuelle est d'environ 30,000 tonnes par an, c'est-à-dire un peu moins de 10% du volume total disponible des algues d'origine naturelle chaque année. Si l'on ajoute à cela la possibilité de cultiver ces algues ou bien encore de les produire par fermentation, alors les ressources pour une production industrielle d'alginate sont considérables. Le coût des alginates peut être très différent selon la qualité de celui-ci. Un alginate non-purifié, utilisé à des fins techniques, a un coût d'environ 1\$/kg. Des grades plus techniques – purifiés et obtenus par fermentation microbienne- coûtent approximativement 20\$/kg (grades purs pour des applications en galénique).

L'alginate produit à grande échelle trouve des applications principalement dans le domaine de l'alimentation, pour laquelle environ la moitié de la production y est transformée. Ses propriétés colloïdales uniques font qu'il peut être utilisé en tant qu'épaississant, stabilisant, agent filmogène, gélifiant, etc (**King, 1983**). Certains alginates, de grande qualité, peuvent être utilisés dans le domaine pharmaceutique (Tableau 2). Une des applications les plus intéressantes est la préparation des capsules d'alginate qui jouent le rôle de pancréas de substitution en diffusant dans l'organisme du malade des cellules productrices d'insuline dans le traitement du diabète (**Rehm, 1997**). Il existe bien d'autres applications, telles que les matériaux d'empreintes dentaires, la préservation des racines d'arbre avant plantation, la protection des fruits frais, etc.

**Tableau 2 : Quelques utilisations des alginates (Rehm, 1997)**

Application	Rôle de l'Alginate
<b>Agroalimentaire</b>	Agent texturant (épaississant ou gélifiant)
<b>Travail du papier</b>	Amélioration de l'uniformité de surface
<b>Production de céramiques</b>	Réduction du dessèchement des surfaces, stabilisant
<b>Pharmaceutique et biotechnologies</b>	Immobilisation de cellules, diffusion contrôlée de principes actifs, dermatologie et guérison des plaies, empreintes dentaires
<b>Crémage du latex</b>	Concentration du latex naturel durant son extraction
<b>Impression des textiles</b>	Fixation, homogénéité de l'impression, bons contrastes et couleurs des motifs imprimés

## I.3.2 Composition des alginates

### I.3.2.1 Structure de la chaîne

Les alginates sont constitués d'unités acide  $\beta$ -D-mannuronique (M) et acide  $\alpha$ -L-gulonique (G) dont la séquence varie (Figure 8).

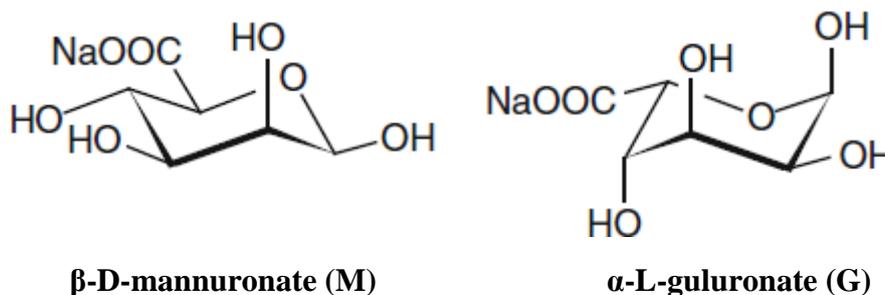


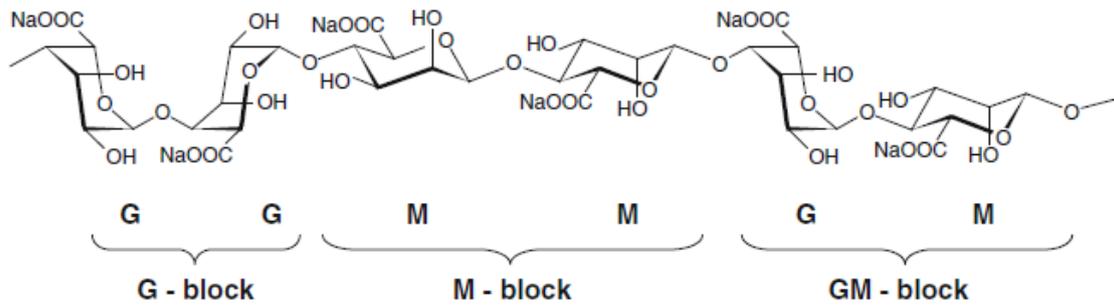
Figure 8 : Monomères de la chaîne alginate

En effectuant une hydrolyse acide partielle de l'alginate, il est possible de séparer celui-ci en trois fractions caractéristiques (**Haug, 1966**) :

- ❑ Deux d'entre elles contiennent quasi-exclusivement des ensembles homopolymères de motifs G et M respectivement.
- ❑ Une troisième possède des proportions presque égales des deux monomères sous la forme majoritaire de dimères MG.

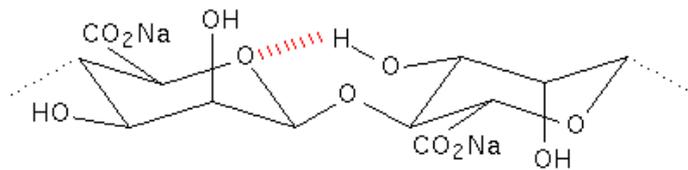
Les alginates sont donc considérés comme de vrais copolymères à blocs composés de régions homopolymères de M (blocs MM) et G (blocs GG) séparées par des zones aux structures alternées (blocs MG).

La conformation des cycles monomères peut être déterminée par diffraction des rayons X (**Atkins, 1973a, 1973b**). L'étude d'alginates riches en mannuronate et en guluronate a montré que les blocs guluronates ont une conformation chaise  ${}^1C_4$  (les carbones 1 et 4 sont respectivement au-dessus et en dessous du plan moyen de la molécule) alors que les blocs mannuronates ont une conformation chaise  ${}^4C_1$  (Figure 9). De plus, les alginates possèdent les quatre types de liaisons glycosidiques possibles : diéquatorial (MM), diaxial (GG), équatorial-axial (MG) et axial-équatorial (GM) (**Grasdalen, 1977**).



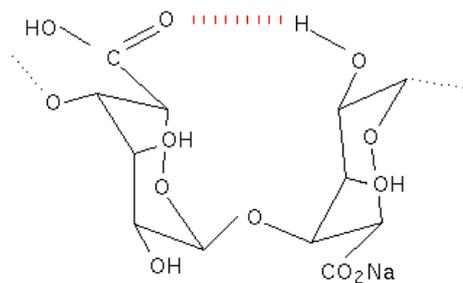
**Figure 9 : Conformation des monomères**

La structure des segments polyacide mannuronique est très proche de celle de la cellulose. Les liaisons diéquatoriales entre unités M donnent à ces segments une structure aplatie, de type ruban. Cette structure est stabilisée grâce à des liaisons Hydrogène (Figure 10). Par exemple, le groupement hydroxyle en C3 du monomère M+1 interagit avec l'atome d'oxygène du cycle du monomère M.



**Figure 10 : Interactions entre les unités M**

La liaison diaxiale (GG) est très différente de la liaison (MM) car sa structure n'est pas plate et adopte l'arrangement plus rigide d'une boucle. Cette structure est aussi stabilisée par différentes liaisons hydrogène (Figure 11). Par exemple, le groupement hydroxyle en C2 du monomère G et le groupement carboxyle du monomère G+1 interagissent par ce type de liaison.



**Figure 11 : Interactions entre unités G**

Les blocs MG sont caractérisés par une alternance entre des liaisons axiales-équatoriales et des liaisons équatoriales-axiales. De telles variations dans la tacticité de la chaîne sont responsables d'une plus grande flexibilité des blocs MG comparés aux autres blocs.

D'ailleurs, les données de viscosité indiquent que la rigidité des blocs augmente dans l'ordre :

$$MG < MM < GG.$$

De plus, lorsque l'on considère l'alginate comme un polyélectrolyte - en l'occurrence un polyanion - on constate que la répulsion électrostatique entre les groupes chargés sur la chaîne polymère va participer à l'augmentation de la viscosité intrinsèque (**Smidsrød, 1973**).

### 1.3.2.2 Détermination de la séquence

La détermination de la composition et de la structure des alginates ne peut pas être effectuée à l'aide des outils statistiques traditionnels applicables aux copolymères de synthèse. La distribution des monomères dans la chaîne ne peut pas non plus être estimée à l'aide de la statistique Bernouillienne (**Smidsrød, 1969**). De même, un modèle de Markov du second ordre (étude de l'incidence de la stéréochimie des unités précédemment insérées sur la configuration de la dernière unité de la chaîne) ne peut fournir qu'une description approximative de la séquence des monomères dans l'alginate (**Larsen, 1970**).

Cependant, il a été possible, du point de vue de la composition, d'effectuer une caractérisation complète des alginates à l'aide de la RMN haute résolution du proton et du carbone (**Grasdalen, 1977, 1979, 1981**) (Figure 12).

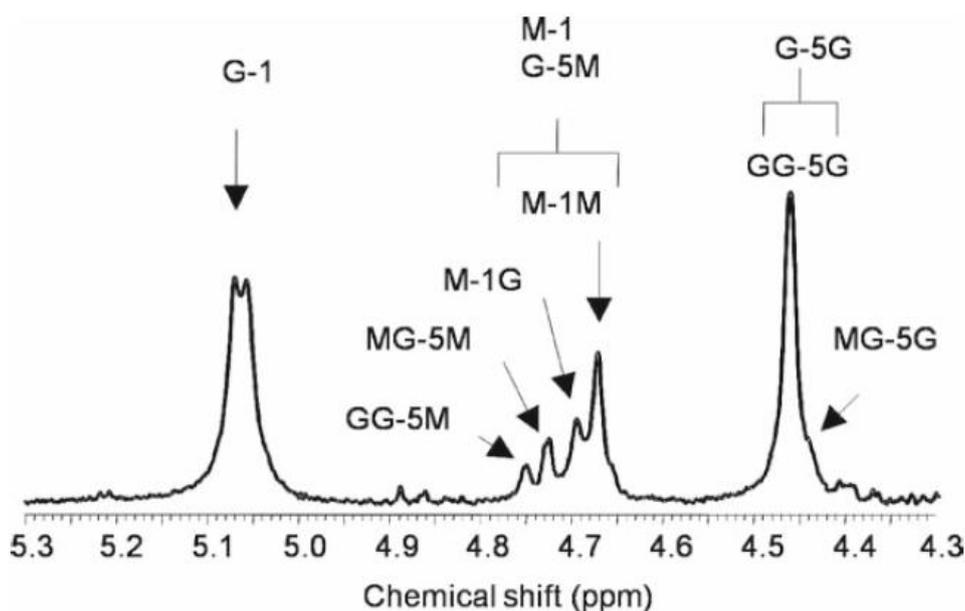


Figure 12 : Spectre RMN d'un alginate extrait de la *Laminaria Hyperborea* (Grasdalen, 1981)

Grâce à cette technique, il est possible de calculer les fractions :

- Monomères ( $F_G, F_M$ )
- Diades (plus proches voisins  $F_{GG}, F_{GM}, F_{MG}, F_{MM}$ )
- Triades centrées sur une unité G ( $F_{GGG}, F_{GGM}, F_{MGG}, F_{MGM}$ )

En particulier, dans le cas des chaînes longues où il est possible de s'affranchir des effets de bouts de chaîne, les relations suivantes sont vraies :

- $F_G + F_M = 1$
- $F_G = F_{GG} + F_{GM} = F_{GG} + F_{MG}$
- $F_M = F_{MM} + F_{GM} = F_{MM} + F_{MG}$
- $F_{MG} = F_{GM}$
- $F_{GG} + F_{MM} + F_{GM} + F_{MG} = 1$
- $F_G = F_{GGG} + F_{GGM} + F_{MGG} + F_{MGM}$
- $F_{GGM} = F_{MGG}$
- $F_{MG} = F_{GM} = F_{GGM} + F_{MGM}$

Des relations précédentes, on peut déduire la taille moyenne des blocs G ( $N_{G>1}$ ) de toutes les chaînes d'alginate:

$$\overline{N}_{G>1} = \frac{F_G - F_{MGM}}{F_{GGM}}$$

Cependant, la connaissance de la composition brute en monomères de l'alginate ne sera pas suffisante pour déterminer la séquence de ces monomères sur la chaîne (**Larsen, 1970**). Le Tableau 3 donne les paramètres de séquence des blocs G et M pour plusieurs espèces d'alginate d'origine marine, déterminés par RMN à très hauts champs.

**Tableau 3 : Composition et paramètres séquentiels d'alginate marins (Donati, 2009)**

Alginate source	$F_G$	$F_M$	$F_{GG}$	$F_{MM}$	$F_{GM, MG}$	$F_{GGG}$	$F_{MGM}$	$F_{GGM, MGG}$	$N_{G>1}$
Algal									
<i>Laminaria hyperborea</i> (stipe)	0.63	0.37	0.52	0.26	0.11	0.48	0.07	0.05	15
<i>Laminaria hyperborea</i> (leaf)	0.49	0.51	0.31	0.32	0.19	0.25	0.13	0.05	8
<i>Macrocystis pyrifera</i>	0.42	0.58	0.20	0.37	0.21	0.16	0.17	0.04	6
<i>Laminaria digitata</i>	0.41	0.59	0.25	0.43	0.16	0.20	0.11	0.05	6
<i>Lessonia nigrescens</i>	0.41	0.59	0.22	0.40	0.19	0.17	0.14	0.05	6
<i>Ascophyllum nodosum</i>	0.41	0.59	0.22	0.38	0.21	0.13	0.14	0.07	5
<i>Laminaria japonica</i>	0.35	0.65	0.18	0.48	0.17				
<i>Durvillaea antarctica</i>	0.32	0.68	0.16	0.51	0.17	0.11	0.12	0.05	4

Cette relation entre la structure et la fonction explique les différences de propriétés physico-chimiques entre les alginates provenant de différentes variétés d'algues voire de différentes parties de la même algue. Par exemple, le pied rigide de la *Laminaria Hyperborea* contient une forte proportion d'acide guluronique alors que ses feuilles, flexibles, ont une proportion plus faible de blocs G.

### 1.3.2.3 Dégradation des chaînes

La stabilité des alginates dépend fortement de la température, du pH et de la présence de contaminants. Les liaisons glycosidiques sont susceptibles de rompre lorsque l'alginate est utilisé en milieu acide ou basique. Par exemple, pour des pH inférieurs à 5, l'hydrolyse acide de ces liaisons induit une diminution de la masse molaire par coupure des chaînes. Dans des conditions aussi bien acides que basiques, la diminution du degré de polymérisation suit une cinétique du premier ordre (**Haug, 1963**) :

$$\frac{1}{DP_t} - \frac{1}{DP_0} = k t$$

Où  $DP_t$  and  $DP_0$  sont les degrés de polymérisation à un temps  $t$  et à  $t_0$ .

La dégradation des alginates peut être mise en évidence au cours du temps grâce à l'étude de la viscosité intrinsèque d'une solution d'alginate (Figure 13). En effet, l'inverse de la viscosité intrinsèque est proportionnel au nombre de liaisons rompues sur la chaîne polysaccharide. Il est donc possible de suivre la stabilité des alginates dans différentes conditions de pH.

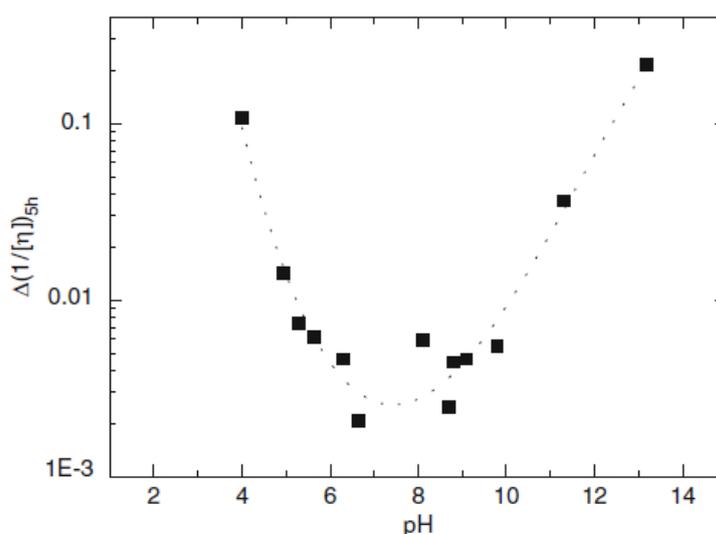


Figure 13 : Dégradation d'un alginate extrait de la *Laminaria Digitata*. Mesure de la variation de l'inverse de la viscosité intrinsèque ( $1/[\eta]$ ) après 5 heures à différents pH et à 68°C.

On constate que pour des pH éloignés du pH neutre, il y a une augmentation de l'inverse de la viscosité qui caractérise une dégradation des chaînes d'alginate. Afin de garantir l'intégrité de l'alginate, il est donc nécessaire de le stocker à température ambiante (les fortes températures favorisant les phénomènes de dépolymérisation) et dans des conditions neutres de pH.

### I.3.3 Propriétés des alginate

#### *I.3.3.1 Propriétés thermodynamiques*

L'alginate de sodium, comme tous les sels d'alginate monovalents, est soluble dans l'eau pour des valeurs de force ionique faibles. Lorsque la salinité du milieu augmente, la solubilisation du polyanion est compromise. L'addition de sels tels que le chlorure de potassium (en quantités 1 :1) va progressivement diminuer la solubilité de l'alginate dans l'eau jusqu'à la séparation de phases. Cela implique que la présence de sels dans l'eau peut avoir une forte influence sur la cinétique de solubilisation des alginate. Ceci est d'autant plus vrai dans le cas des ions di-ou multivalents qui vont non seulement augmenter la force ionique totale du système, mais aussi être capables de provoquer une agrégation à grande échelle des chaînes polymères (formation d'un réseau) pouvant aboutir à une séparation de phases, voire à la formation d'un hydrogel.

Le pH de la solution joue aussi un rôle dans la solubilisation des alginate. Si le pH de la solution contenant l'alginate est inférieure au pKa de l'acide mannuronique (pKa=3,38) ou de l'acide guluronique (pKa= 3,65), alors il peut y avoir séparation de phases voire formation d'un hydrogel (**Haug, 1967**). La sensibilité des alginate vis-à-vis du pH de la solution dépend non seulement de la masse molaire mais aussi de la composition chimique et de la séquence des blocs. Les alginate contenant plus de sections alternées (blocs MG) précipiteront à des valeurs de pH plus faibles que les alginate contenant plus de blocs homogènes (poly-M et poly-G).

Le moindre changement de force ionique dans la solution aura un effet important sur la conformation de la chaîne polymère ainsi que sur la viscosité de la solution. De plus, lorsque la force ionique du solvant augmente, la vitesse de solubilisation de l'alginate diminue fortement. Ainsi, si l'on prévoit d'utiliser les alginate dans un milieu dont la force ionique est non-nulle, alors le polymère devrait être solubilisé dans l'eau pure en premier avant que les espèces ioniques ne soient ajoutées sous agitation (**Haug, 1959**).

### 1.3.3.2 Viscosité

La viscosité d'une solution d'alginate dépend essentiellement du volume hydrodynamique des chaînes polymères. Ainsi, elle varie fortement en fonction de la longueur moyenne des chaînes (masse molaire) et des conditions opératoires (solvant, température, force ionique) qui ont une influence à la fois sur la conformation et la flexibilité des chaînes. Une augmentation de la masse molaire d'un alginate implique naturellement une augmentation de la viscosité de la solution d'alginate, ce qui peut être bénéfique pour plusieurs applications dans l'industrie alimentaire ou les impressions textiles.

La viscosité intrinsèque  $[\eta]$  d'un polymère est la limite de viscosité spécifique lorsque la concentration en polymère tend vers zéro. Elle peut être déterminée expérimentalement à l'aide des équations de Huggins et Kraemer, appliquée ici aux alginates :

$$\text{Huggins} \quad \frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k' [\eta]^2 c,$$

$$\text{Kramer} \quad \frac{\ln \eta_{rel}}{c} = [\eta] - k'' [\eta]^2 c,$$

Où  $\eta_{sp}$ ,  $\eta_{rel}$ , et  $c$  sont la viscosité spécifique, la viscosité relative et la concentration en alginate respectivement et  $k'$  et  $k''$  sont les constantes de Huggins et Kraemer respectivement. La viscosité relative est un nombre sans dimension représentant le rapport de la viscosité de la solution sur la viscosité du solvant  $\eta_0$  :

$$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_0}$$

La viscosité spécifique est aussi un nombre sans dimension tel que :

$$\eta_{sp} = \frac{(\eta - \eta_0)}{\eta_0}$$

On peut alors utiliser  $[\eta]$  pour calculer la masse molaire moyenne en masse  $M_w$  de l'alginate à l'aide de l'équation HMS (Houwink-Mark-Sakurada) :

$$\text{Equation HMS} \quad [\eta] = KM_w^a.$$

L'alginate est généralement considéré comme un polymère semi-flexible (modèle WLC : WormLike Chain dit « du ver ») pour lequel le paramètre  $a$  excède la valeur théorique d'une pelote statistique dans les conditions  $\theta$  ( $a=0,5$ ). Les études les plus récentes (Tableau 4) rapportent une valeur du paramètre  $a$  allant de 0,92 pour un alginate riche en blocs M à 1,13 pour un alginate riche en blocs G (Martinsen, 1991). Les mesures de viscosité ont été effectuées en parallèle d'analyses de diffusion de la lumière afin de déterminer la masse molaire des échantillons. Le tableau suivant rapporte les différentes valeurs du paramètre semi-empirique  $a$  pour différents échantillons d'alginate.

**Tableau 4 : Valeurs du paramètre a pour différents échantillons d'alginate**

Ionic strength	Smidsrød (1970)	Mackie et al. (1980)		Berth (1992)	Martinsen et al. (1991)		Vold et al. (2006)
	<i>L. digitata</i>	<i>L. hyperborea</i>	<i>A. vinelandii</i>		<i>L. hyperborea</i>	<i>M. pyrifera</i>	<i>L. hyperborea</i> (stipe or leaf)
0.01	1.15	1.31	1.08				
0.1	1	1.11	0.91	0.90	1.13	0.92	1.01
0.2		1.06	0.86				
0.5		1.00	0.82				
1	0.87						
$\infty$	0.84	0.80	0.73				

Récemment, Vold et Kristiansen (Vold, 2006) ont établi la relation suivante pour l'ensemble des alginates, quelle qu'en soit la nature :

$$[\eta] = 0.00504 M_w^{1.01} (0.1 \text{ M NaCl}, T = 20^\circ \text{C}).$$

L'utilisation de la chromatographie d'exclusion stérique combinée aux mesures de diffusion de la lumière et de la viscosité ont permis de montrer –dans le cas de la variété *Laminaria Hyperborea*– qu'il existe deux régions distinctes de masses molaires pour la relation linéaire entre  $\log[\eta]$  et  $\log M_w$ :

$$20,000 < M_w < 100,000 : [\eta] = 0.0051 M_w^{1.00}$$

$$100,000 < M_w < 300,000 : [\eta] = 0.0349 M_w^{0.83}.$$

Les mesures de diffusion de la lumière ont permis d'établir une relation entre le rayon de giration de l'alginate et sa masse molaire :

$$(\text{Smidsrød, 1970}) \quad \langle R_g^2 \rangle^{1/2} = 0.095 M_w^{0.54} (M_w > 65,000)$$

(Vold, 2006)

$$\langle R_g^2 \rangle^{1/2} = 0.0352 M_w^{0.60}.$$

La relation entre la viscosité spécifique réduite et la concentration en alginate n'est valable que jusqu'à une valeur de concentration critique, au-delà de laquelle on atteint le régime semi-dilué. La viscosité relative augmente alors beaucoup plus fortement en fonction de la concentration :

(Morris, 1981)

$$\eta_{sp} \propto C_{Alg}^{3.3-3.1}$$

De plus, en régime semi-dilué, les solutions d'alginate présentent un comportement rhéofluidifiant. En effet, on observe une diminution de la viscosité sous l'effet d'une augmentation du taux de cisaillement qui permet la destruction réversible des liens entre chaînes.

## I.4 Formation des hydrogels d'alginate de calcium

### I.4.1 Les hydrogels

L'hydrogel est un type particulier de gel formé par un réseau tridimensionnel de polymères hydrophiles dans lequel le solvant de gonflement est l'eau. Sa principale caractéristique est sa capacité à gonfler en présence d'eau et à se contracter lorsque celle-ci s'évapore. Suivant la nature des pontages mis en œuvre dans le réseau, il est possible de distinguer les hydrogels « chimiques » des hydrogels « physiques ». Dans les hydrogels chimiques, des liaisons covalentes assurent la cohésion du gel et l'équilibre de gonflement est déterminé par le taux de réticulation.

Les hydrogels « physiques » présentent des pontages ioniques et des interactions de type Van der Waals. Ils sont plus hétérogènes en termes de structure chimique que les hydrogels chimiques en raison de la présence de larges domaines d'enchevêtrement des chaînes. Un cas particulier est celui des polyélectrolytes qui, combinés avec un ion multivalent de charge opposée, peuvent former un hydrogel physique connu sous le nom de « gel ionotropique » et dont l'alginate de calcium est un exemple (Donati, 2009).

## I.4.2 Modèle de la boîte à œufs (Egg-box model)

Une des particularités les plus intéressantes des alginates est qu'ils sont capables de se lier aux cations divalents tels que  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  et  $\text{Ba}^{2+}$  afin de former des hydrogels. Les alginates présentent une affinité sélective, c'est-à-dire qu'ils se lient plus ou moins facilement aux cations divalents en fonction de la nature de ceux-ci (**Haug, 1970**). Par exemple, l'affinité augmente dans l'ordre :



Cette affinité dépend des forces électrostatiques mais aussi en grande partie de l'encombrement stérique. Elle varie aussi fortement en fonction de la composition de l'alginate, en augmentant avec la quantité de blocs G présents dans le polymère (**Smidsrød, 1974**).

Le modèle boîte à œufs (« egg-box » model) est la représentation la plus couramment utilisée pour rendre compte des interactions entre les chaînes d'alginates et les cations divalents (Figure 14). Selon ce modèle, deux unités G de deux chaînes d'alginates différentes se lient au même cation divalent afin de former une jonction. La sélectivité du phénomène tient à la géométrie particulière de la liaison diaxiale entre les unités G qui forment une cavité permettant une « capture » efficace du cation. Les autres types de liaison sur la chaîne (diéquatorial et équatorial-axial) ne permettent pas une telle affinité avec les cations (**Grant, 1973**), (**Morris, 1978**).



Figure 14 : Egg-box model

Smidsrød a mis en évidence les forces relatives de liaison entre les cations divalents et les trois types de fragments d'alginate (**Smidsrød, 1974**) :

- ❑ Blocs GG :  $\text{Ba} > \text{Sr} > \text{Ca} \gg \text{Mg}$
- ❑ Blocs MM:  $\text{Ba} > \text{Sr} \approx \text{Mg} \approx \text{Ca}$
- ❑ Blocs MG:  $\text{Ba} \approx \text{Sr} \approx \text{Ca} \approx \text{Mg}$

Le coefficient de sélectivité de l'alginate pour le calcium par rapport au magnésium par exemple ( $K_{Mg}^{Ca}$ , déterminé par des expériences de dialyse à l'équilibre) dépend donc

principalement de la composition ainsi que de la répartition des séquences du polymère (Figure 15).

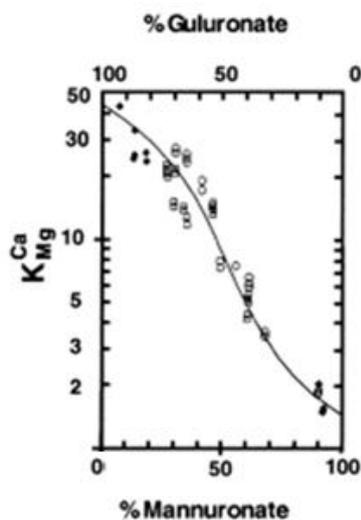


Figure 15 : Coefficients de sélectivité en fonction de la composition du polymère.

Les points expérimentaux sont obtenus à  $X_{Ca}=X_{Mg}=0,5$

La formation d'une zone de jonction entre les chaînes alginales, *via* le contre-ion calcium par exemple, aboutit de proche en proche à la formation d'un hydrogel (Figure 16). Après séparation par dialyse et analyse des produits, on montre qu'il existe un ratio 4 : 1 entre le nombre d'unités G et d'ions Calcium, ce qui amène au schéma possible d'interactions suivant :

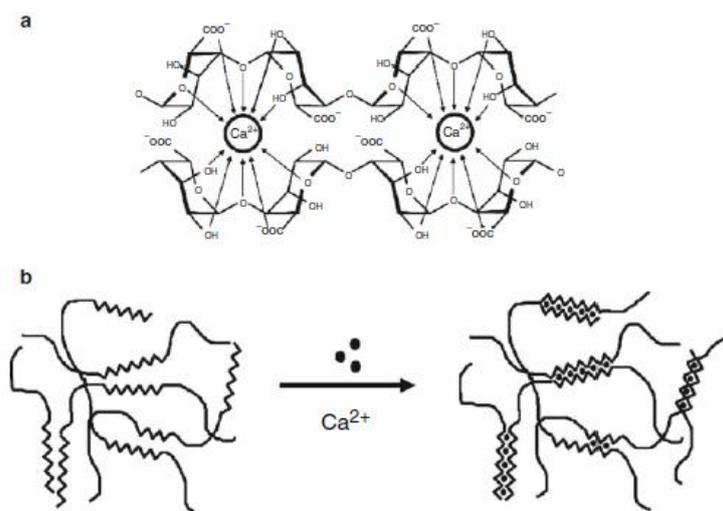


Figure 16 : le modèle "Egg-box": a. Chélation des cations divalents

b. Formation de la jonction entre les chaînes

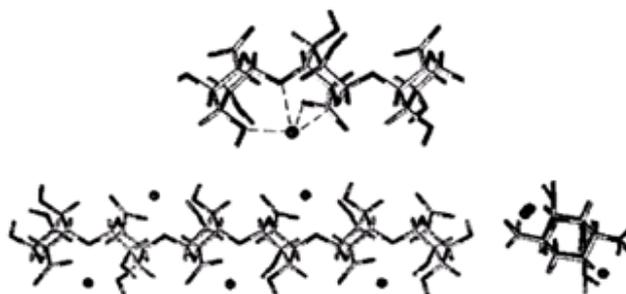
La formation de la jonction entre les chaînes est un procédé coopératif avec :

- ❑ Une liaison instable entre le premier ion et la chaîne alginat
- ❑ Des liaisons plus stables pour les ions suivants

Ce phénomène dit de « fermeture Eclair » (Zipper mechanism) n'aboutit à une jonction stable que pour un minimum de 8 à 20 unités G consécutives dans le cas du Calcium. Les expérimentations menées par Sikorski (**Sikorski, 2007**) ont permis de confirmer ce modèle *via* l'analyse de la structure cristalline des zones de jonction Ca-Alginate par diffusion des rayons X.

Le modèle « Egg-box » original, qui propose la coordination de 10 atomes d'oxygène des unités guluronates avec un ion calcium, n'a été que très peu remis en question. Certaines modélisations moléculaires de conformation permettent néanmoins de suggérer que les complexes calcium-carbohydres ont une coordination de 7 à 9, comprenant 1 à 4 atomes provenant de l'eau (**Braccini, 1999**).

Les chaînes polyguluronates sont les seules à présenter une configuration optimale d'association avec les ions  $\text{Ca}^{2+}$  (**Braccini, 2001**). Les interactions avec les ions Calcium présentent une grande stéréospécificité et l'association la plus forte aura lieu pour un ensemble d'atomes d'oxygène possédant l'espacement et la géométrie adéquats afin de substituer l'eau de l'enveloppe de coordination du calcium (Figure 17). C'est exactement le cas des atomes d'oxygène portés par les chaînes polyguluronates.



**Figure 17 : Interactions Ca-Alginate (guluronate)**

Les interactions s'effectuent d'une part avec la charge négative portée par les atomes d'oxygène, mais aussi avec la charge négative portée par la fonction carboxylate.

### I.4.3 Etapes de formation des gels d'alginate de calcium

Il existe trois étapes consécutives qui mènent à l'association du calcium à l'alginate quand la concentration en ions calcium augmente (Fang, 2007) (Figure 18). La première étape est l'interaction des ions  $\text{Ca}^{2+}$  avec une simple chaîne guluronate pour former un monocomplexe. La deuxième étape consiste en la propagation et la formation de dimères de type « boîte à œufs » *via* l'association de ces monocomplexes. La troisième et dernière étape est l'association latérale des dimères « boîte à œufs », qui forment ainsi des multimères.

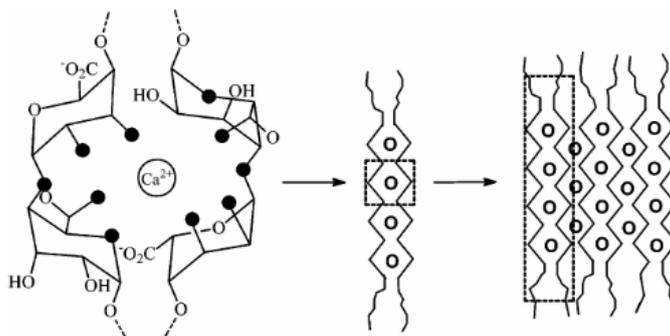


Figure 18 : Etapes de formation du gel Ca-Alginate

**Etape 1** - Coordination des ions  $\text{Ca}^{2+}$  au sein d'une cavité créée par une paire de séquences guluronates le long des chaînes d'alginate

**Etape 2** - Dimère « boîte à œufs »

**Etape 3** - Multimères « boîte à œufs » associés latéralement

Les points noirs représentent les atomes d'oxygène potentiellement impliqués dans la coordination avec le  $\text{Ca}^{2+}$ . Les points blancs représentent les ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Les stœchiométries varient donc en fonction de la conformation adoptée. On utilise le paramètre R pour caractériser la stœchiométrie :

$$R = \text{nombre de } \text{Ca}^{2+} / \text{nombre d'unités G}$$

Pendant la formation des monocomplexes (étape 1), on considère qu'il n'existe pas d'association entre les ions  $\text{Ca}^{2+}$  et les unités monomères M compte-tenu du fait que les unités G ont une affinité pour les ions  $\text{Ca}^{2+}$  bien plus grande que les unités M. Quand on traitera de la stœchiométrie des ions  $\text{Ca}^{2+}$  vis-à-vis des alginates, on ne prendra donc en compte que les unités G de la chaîne. Durant l'étape de formation des monocomplexes, le paramètre de stœchiométrie est tel que :  $R < 0,25$ .

Dès que  $R=0,25$ , on atteint la stœchiométrie correspondant à une structure dimères « boîte à œufs » composée de chaînes hélicoïdales 2/1 (étape 2). Les monocomplexes s'associent pour former des dimères « boîtes à œufs » possédant une structure ordonnée mono-dimensionnelle. A partir de  $R=0,5$  (expérimentalement 0,55), on passe à une stœchiométrie permettant la formation de multimères « boîte à œufs » associés latéralement et ayant une structure de chaînes hélicoïdales 2/1. On doit cependant distinguer au cours de cette étape les alginates à chaînes longues et les alginates à chaînes courtes.

Dans le cas des alginates à chaînes courtes et rigides, la seule façon pour les dimères de s'agréger latéralement est via une association inter-chaînes (Figure 19) :

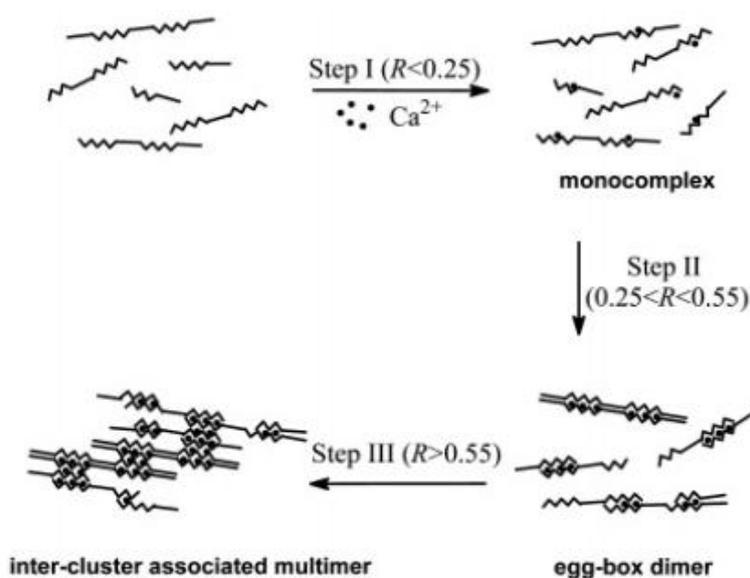


Figure 19 : Association inter-chaînes des dimères (Fang, 2007)

Dans le cas des alginates à chaînes longues et souples, l'association aura tendance à s'effectuer au niveau d'une seule et unique chaîne, grâce à la flexibilité de la chaîne et au plus petit nombre de clusters disponibles (Figure 20) :

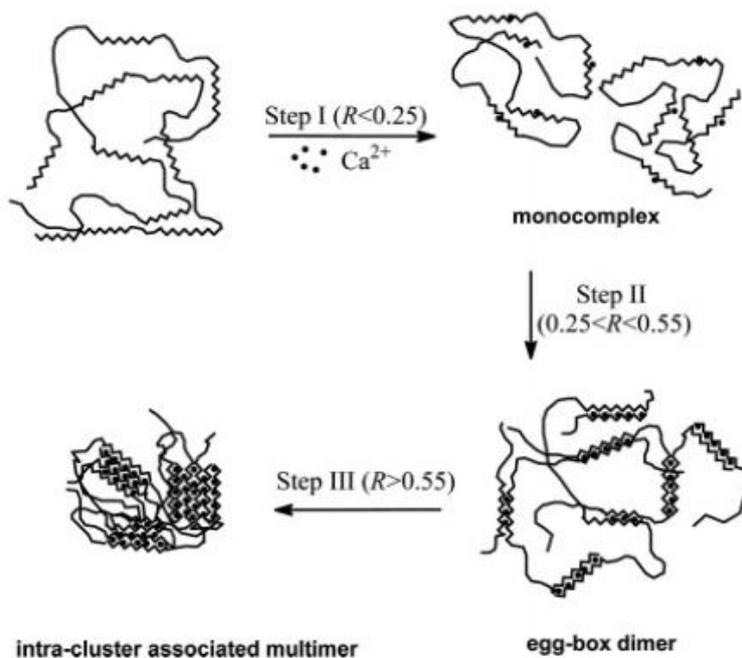


Figure 20 : Association intra-chaîne des dimères (Fang, 2007)

Il manque cependant des preuves directes permettant d'affirmer que le processus d'association sous formes de dimères est un procédé « tout-ou-rien » ou bien un procédé progressif. Ces constatations restent valables pour des solutions plus concentrées, tant que le calcium est introduit de façon lente et homogène. Pour des solutions d'alginate très concentrées subissant une exposition rapide aux ions calcium, il y aura une gélification rapide, forte et irréversible, provoquant ainsi la formation de gels hétérogènes. Il est alors impossible de distinguer les trois étapes d'association alors que les valeurs théoriques de stœchiométrie restent valables.

#### I.4.4 Etats de gel

Lorsque la gélification est réalisée à partir d'ions calcium, trois états de gel peuvent être distingués en fonction de la concentration en calcium et en alginate (Figure 21). Pour les très faibles concentrations en alginate, il se forme un microgel (gel ne pouvant percoler) caractérisé par des agrégats de gel provoquant la diminution de la viscosité du gel. A de fortes concentrations en calcium, un phénomène de synérèse (séparation du liquide d'un gel) se

produit conduisant à un taux de gonflement moindre et une expulsion d'eau du réseau. Pour les concentrations intermédiaires, les macromolécules se réarrangent pour former un réseau tridimensionnel (gel continu).

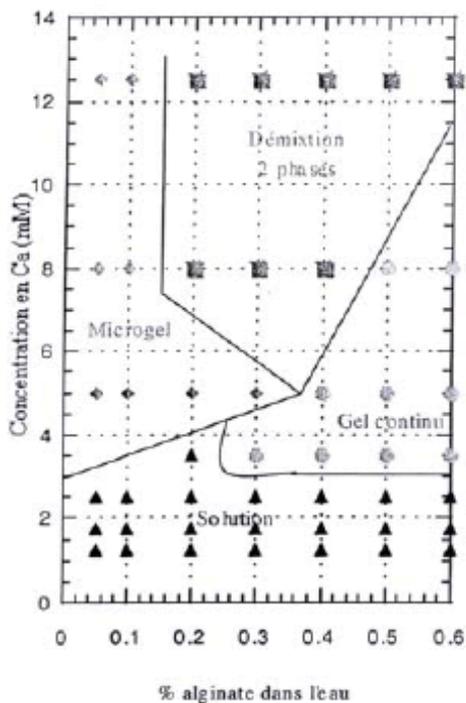


Figure 21 : Diagramme de phase alginate/Ca<sup>2+</sup> (Rastello, 2002)

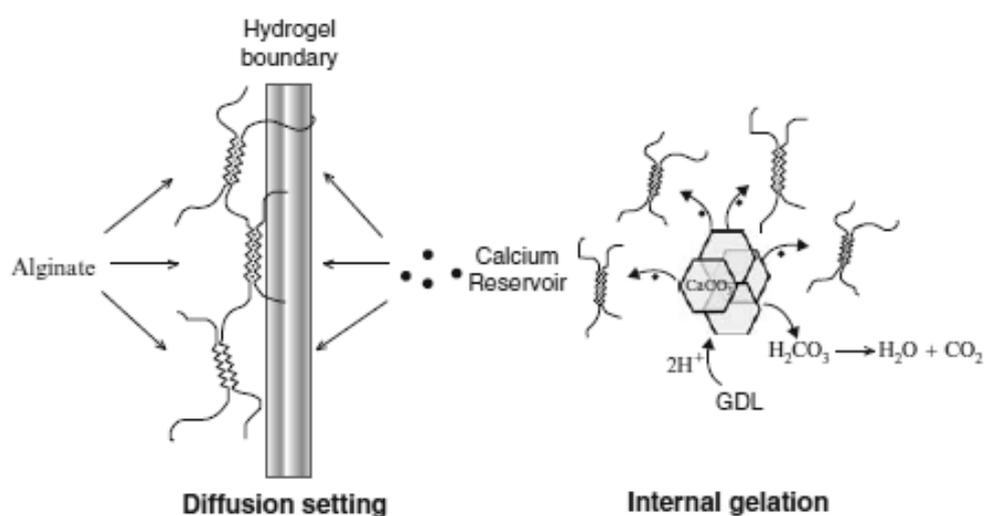
Les solutions d'alginate traitées à des pH inférieurs au pKa de l'acide uronique peuvent mener à la formation de gels dits « acides ». L'état gel, stabilisé par des liaisons hydrogène, est réversible et aboutit à une structure au comportement très proche des gels ioniques. Par exemple, les propriétés mécaniques du gel sont dépendantes du pourcentage d'unités G dans la chaîne alginate, comme dans le cas des gels ioniques (Draget, 1994).

Le traitement d'une solution semi-diluée d'alginate (1 à 2 %) avec un cation divalent approprié (calcium par exemple) permet la formation d'un gel. La formation de cet hydrogel est principalement gouvernée par la capacité de l'alginate à établir des liaisons avec des ions. Le gel d'alginate peut donc être décrit comme un réseau continu gonflé d'eau dans lequel des liaisons physiques (les zones de jonction Ca-Alginate) permettent de maintenir en contact plusieurs chaînes polysaccharides.

De plus, la formation de l'hydrogel est favorisée par le fait que la liaison  $\text{Ca}^{2+}$ -Alginate présente une plus grande affinité envers les ions  $\text{Ca}^{2+}$  que la liaison  $\text{Na}^+$ -Alginate. La cinétique de formation du gel dépend fortement de la méthode utilisée pour mettre l'alginate en présence de son contre-ion, ce qui peut donner des gels d'homogénéité variable.

Afin d'obtenir une distribution homogène de la jonction Ca-alginate au sein de l'hydrogel, il est nécessaire de procéder à une introduction contrôlée de l'ion qui servira d'agent réticulant. Le procédé le plus fiable pour cela est la méthode de gélification interne où une forme inactive du Calcium ( $\text{CaCO}_3$ , Ca-EDTA, citrate de calcium) est mélangée à la solution d'alginate (**Draget, 1991**). Une diminution du pH, provoquée par l'addition d'une substance favorisant l'hydrolyse telle que le  $\delta$ -gluconolactone (GDL), entraîne de ce fait la libération puis la diffusion contrôlée d'ions calcium dans la solution. Cette méthode est d'autant plus efficace que l'apparition de gels acides (due à la diminution du pH) est limitée grâce à une bonne maîtrise des concentrations en GDL et  $\text{CaCO}_3$ . Les cinétiques de gélification dépendent de la concentration en alginate, de la concentration en calcium et de la granulométrie du sel de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ).

Des hydrogels d'alginate hétérogènes peuvent être obtenus en utilisant les propriétés de diffusion du calcium au sein d'une solution d'alginate. Dans ce cas, il existe des cinétiques de gélification très rapides au niveau du front de diffusion du cation, ce qui a pour effet une formation quasi-instantanée de l'hydrogel (Figure 22). Ce procédé est largement utilisé pour la préparation de perles d'alginate servant à l'encapsulation de principes actifs et pour l'immobilisation de cellules (**Strand, 2002**).



**Figure 22 : Illustration du mode de diffusion et de gélification interne dans le gel Ca-alginate**

Dans le cas de l'obtention de perles d'alginate réticulé par diffusion (en faisant tomber une goutte d'alginate dans une solution de chlorure de calcium par exemple), on constate que la distribution des zones de réticulation est très hétérogène au sein de la bille, avec une forte concentration de ces zones à la surface de la perle et une très faible concentration (qui tend vers zéro) au centre du gel. L'alginate présente alors un gradient de concentration en points de réticulation, ce qui entraîne la formation d'une coque très réticulée entourant un cœur presque liquide. Ce gradient de concentration de gel réticulé est dépendant de la masse molaire de l'alginate, de la nature du contre ion ainsi que de leur concentration (Thu, 2000), (Strand, 2003), (Mørch, 2006). De manière générale, l'utilisation d'un alginate à forte masse molaire et d'un contre-ion concentré permettra l'obtention d'un hydrogel homogène (Skjåk-Bræk, 1989).

La vitesse de formation du gel est contrôlée par la diffusion des ions divalents dans le gel créé. Une image du front de gélification est donc une image du front de diffusion. Letellier et al. (Letellier, 2001) ont étudié la formation d'un alginate de plomb en déposant, sans vitesse initiale, une goutte de solution de plomb dans un tube contenant l'alginate (Figure 23). L'analyse de la position du plomb et donc du front de gel par IRM du proton (au milieu et sur les côtés du tube) en fonction du temps a permis de montrer que la progression se fait selon  $t^{1/2}$  comme attendu théoriquement pour un processus diffusif.

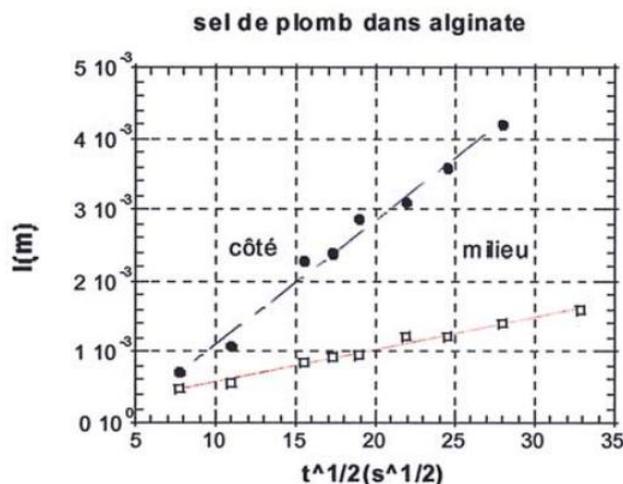


Figure 23 : Position du front de gel en fonction de la racine carrée du temps (Letellier, 2001)

### I.4.5 Synérèse

La synérèse est le phénomène caractérisé par la contraction des chaînes d'alginate lors de l'augmentation de la concentration du contre-ion. Au cours de la synérèse, l'eau du gel est désorbée ce qui a pour effet de diminuer les dimensions de celui-ci et d'augmenter localement la concentration en polymère. Cette réorganisation du réseau augmente la stabilité de l'hydrogel et réduit sa porosité. L'intensité de ce phénomène augmente directement avec **(Martinsen, 1989), (Draget, 2001)** :

- ❑ La concentration des ions Calcium
- ❑ La masse molaire de l'alginate

De plus, la composition de l'alginate joue un rôle important dans ce phénomène car les alginates contenant de grandes séquences de type G se contractent moins que les alginates qui en possèdent de plus courtes, ces dernières gênant beaucoup plus la réorganisation de la structure du réseau.

### I.4.6 Stabilité des hydrogels

L'énergie des interactions entre la chaîne alginate et les cations divalents sont très sensibles aux variations de composition, ce qui peut alors affecter la stabilité de l'hydrogel **(Hoffman, 2002)**. La sensibilité des hydrogels à des :

- ❑ espèces capables de chélater les ions divalents (citrate, lactate, EDTA...)
- ❑ espèces ioniques gênant l'action du cation divalent ( $\text{Na}^+$ ,...)

est une des principales entraves à la stabilité.

Le traitement des gels d'alginate avec l'une de ces espèces peut entraîner le gonflement du gel, une variation de sa porosité ou bien encore sa complète dissolution. Le volume d'un hydrogel dans un solvant est déterminé par un équilibre entre la pression osmotique ( $\Pi^{\text{osm}}$ ), qui tend à augmenter les dimensions de l'hydrogel, et la force élastique de rétraction ( $\Pi^{\text{el}}$ ), qui tend à limiter cette expansion de volume :

$$\Pi^{\text{osm}} + \Pi^{\text{el}} = 0$$

La présence d'autres cations dans le milieu, ainsi que d'agents chélatants, contribue au gonflement du réseau de deux façons différentes :

- ❑ Les ions Calcium, captés par les agents chélatants, sont éliminés des sites de jonctions, ce qui a pour effet de diminuer le nombre de points de réticulation physique, réduisant ainsi la force élastique de contraction du réseau
- ❑ Le remplacement des ions réticulants divalents par des ions monovalents augmente le nombre de contre-ions dissociables (un ion calcium est remplacé par deux ions sodium par exemple), ce qui a pour effet d'augmenter la pression osmotique

Il existe plusieurs solutions pour atténuer voire contrer ces effets :

- ❑ Remplacer l'ion Calcium par un ion dont le pouvoir de liaison est beaucoup plus grand, tel que le Baryum  $Ba^{2+}$  et le Strontium  $Sr^{2+}$  (**Smidsrød, 1974**). Cependant, la toxicité de ces ions est un handicap.
- ❑ Utiliser un polycation (Chitosane, polyéthylèneimine) pour obtenir un complexe polyanion-polycation (**Lim, 1980**). Par exemple, des perles très stables peuvent être préparées. Ces polycations peuvent cependant provoquer une réponse immunitaire lorsqu'ils sont utilisés en biomédical.

Une autre approche consiste à créer des liaisons covalentes (réticulation chimique) pour stabiliser la réticulation physique du gel. Plusieurs techniques permettent d'arriver à ce résultat :

- ❑ Greffage de polymères sur la chaîne alginate
- ❑ Réticulation directe d'un polycation sur la chaîne alginate (**Hertzberg, 1985**)

Ces méthodes ont pour principal défaut leur manque de sélectivité. Le greffage, qui s'effectue aussi sur les unités G, entraîne une modification de structure qui inhibe l'établissement des pontages entre les ions  $Ca^{2+}$ .

## I.4.7 Propriétés mécaniques des gels d'alginate

### I.4.7.1 Comportement aux petites déformations

Le module élastique est fréquemment utilisé pour caractériser les propriétés mécaniques du gel. Il dépend de la quantité du contre-ion utilisée, de la concentration et de la composition de l'alginate, ainsi que de sa masse molaire :

- ❑ Lorsque la quantité de cations augmente, alors la quantité de jonctions Ca-Alginate formées augmente : il y a donc un plus grand nombre de chaînes qui développent un comportement élastique. Les hydrogels saturés en calcium présentent ainsi des performances mécaniques de type élastique.
- ❑ Pour la même raison, la concentration en alginate aura une forte influence sur le module élastique du gel. Smidsrød et Haug (**Smidsrød, 1972**) ont montré qu'il existe une loi de puissance entre le module d'Young (pente de la courbe de la contrainte en fonction de la déformation relative) et la concentration en alginate :  $Eac^2$ .

Les gels d'alginate obtenus par diffusion montrent que le module élastique dépend de la masse molaire pour des valeurs allant jusqu'à  $10^5$  g/mol. En comparaison, les gels préparés par gélification interne montrent cette relation de dépendance pour des masses molaires allant jusqu'à  $3 \cdot 10^5$  g/mol (**Draget, 1993**).

Le type de cation utilisé a aussi une influence notable sur les propriétés mécaniques des hydrogels d'alginate. Stokke (**Stokke, 1991**) a montré que la longueur nécessaire d'unités G pour former une jonction inter-chaînes diminue lorsque l'affinité du cation envers les alginate augmente. Les cations ayant une affinité plus forte forment un plus grand nombre de jonctions (et donc un plus grand nombre de chaînes élastiques actives) par unité de volume. Ces jonctions étant elles-mêmes beaucoup plus résistantes, le module d'Young de l'hydrogel augmente.

La rigidité des gels d'alginate diminue dans l'ordre :

**Pb>Cu, Ba>Sr>Cd>Ca>Ni>Zn>Co>Mn**

La composition de la chaîne d'alginate a de fait une influence sur les propriétés mécaniques de l'hydrogel (Figure 24). La rigidité du gel augmente avec la longueur des blocs G ( $N_{G>1}$ ) et

non avec la fraction d'unités G de la chaîne d'alginate ( $F_G$ ). Cet effet est particulièrement important pour des blocs G comportant entre 4 et 15 unités G.

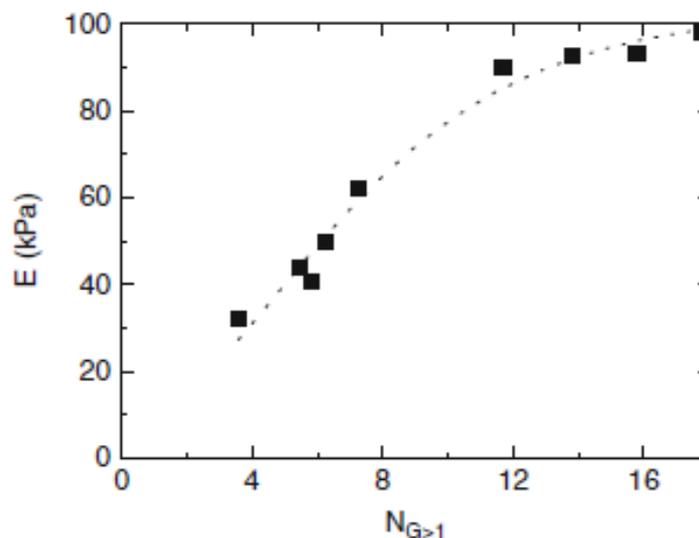
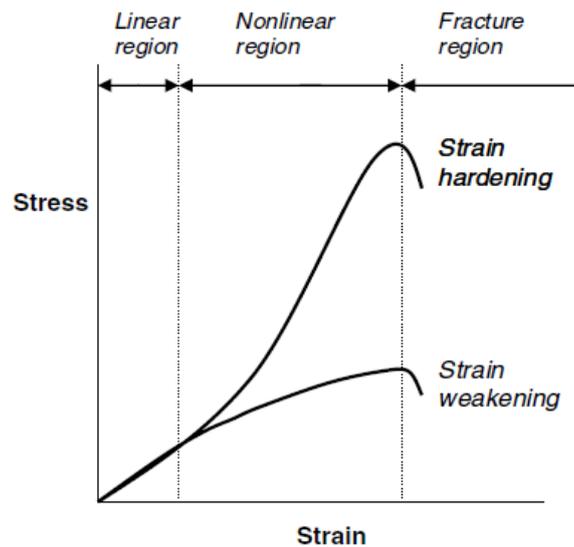


Figure 24 : Module d'Young de gels d'alginate en fonction du nombre moyen d'unités G par bloc G (Skjak-Braek, 1986)

#### *1.4.7.2 Comportement aux grandes déformations*

Les gels d'alginate ont un comportement similaire aux solides viscoélastiques classiques. La plupart des courbes de contrainte-déformation des gels d'alginate présentent une partie linéaire (comportement élastique) pour des déformations allant jusqu'à 12%. Pour les gels d'alginate saturés en cations divalents, cette partie n'est linéaire que jusqu'à 6 à 8% de déformation (Figure 25). Au-delà de cette valeur, la courbe devient non-linéaire et décrit un comportement « d'écrouissage » (strain-hardening) du gel (augmentation de la pente de la courbe contrainte-déformation). De plus, lorsque les gels d'alginate sont saturés en cations divalents, une zone de comportement plastique où la déformation augmente grandement avec une faible augmentation de la contrainte peut apparaître. Mørch (Mørch, 2009) a montré que la zone de comportement plastique est liée à la présence de longues séquences MG dans la chaîne d'alginate.



**Figure 25 : Représentation schématique de la courbe contrainte-déformation pour des solides viscoélastiques.**

La présence de zones de jonctions, qui sont beaucoup plus larges que les nœuds de réticulation des réseaux de caoutchoucs naturels, est la cause principale d'apparition de la zone « d'écrouissage ». Zhang et al. (**Zhang, 2007**) ont proposé un modèle décrivant la contrainte totale comme étant la somme de deux contributions spécifiques :

$$\sigma = \sigma_c + \sigma_j$$

Où  $\sigma_c$  est la contrainte due à la déformation des chaînes élastiques actives et  $\sigma_j$  est la contrainte due à la déformation des jonctions. En pratique, pour de faibles déformations, ce modèle considère que les jonctions ne subissent aucune déformation et que le gel se comporte comme un matériau élastique classique. En revanche, pour de plus grandes déformations, la contrainte est transmise aux zones de jonction qui vont alors se déformer, voire même rompre. Ainsi, les zones de jonction rendent la contrainte dépendante de la déformation, ce qui mène à cet effet « d'écrouissage ».

Dans le cas du réseau d'alginate, la contrainte à la rupture est directement liée à la solidité ainsi qu'au nombre de jonctions par unité de volume. Cependant, il n'y a pas de lien direct entre la contrainte à la rupture et le module élastique (**Mitchell, 1976**). Les hydrogels riches en alginate de type M, en dépit de leur module élastique plus bas, présentent une contrainte à la rupture plus grande que les gels riches en alginate de type G. Ceux-ci sont donc considérés

comme plus fragiles. La longueur des jonctions a aussi une influence sur la contrainte à la rupture, celle-ci diminuant avec la taille des jonctions. Suite à la rupture d'une jonction, la contrainte est immédiatement transférée aux jonctions voisines, ce qui accélère la rupture du gel. La contrainte à la rupture dépend à la fois du cation divalent utilisé et de la concentration en alginate, alors que la déformation à la rupture est indépendante de ces deux paramètres.

#### I.4.8 Diffusion des espèces à travers l'hydrogel

D'après le modèle « Egg-box », les cations divalents se lient de façon sélective aux blocs guluronates de la chaîne alginate pour former des dimères. Quand la concentration en calcium est suffisamment grande, il y a une association des dimères pour former des multimères. Ce sont ces associations qui permettent la création d'une structure à pores ouverts à haute porosité au sein de la solution d'alginate réticulé.

Les propriétés de diffusion des espèces à travers ces hydrogels d'alginate sont fonctions de la taille et de la distribution des pores du gel. Andresen et al. (**Andresen, 1977**) ont montré que les alginates traités avec du calcium forment des réseaux dont les pores ont une taille comprise entre 50 et 1500 Å. La diffusion de petites molécules est très peu affectée par la structure hydrogel de l'alginate. Par exemple, Tanaka et al. (**Tanaka, 1984**) ont montré que les coefficients de diffusion du glucose et de l'éthanol dans le gel sont au moins égaux à 90% de leur valeur dans l'eau. Pour les molécules de taille plus grande, telles que les protéines, la diffusion est moins aisée.

Cependant, des protéines avec une masse molaire de 300 000 g/mol sont toujours capables de diffuser au travers du gel, avec un coefficient de diffusion qui varie en fonction de leur masse molaire. (**Martinsen, 1989**).

La diffusion des molécules au travers du gel dépend à la fois de la concentration en cation divalent et de la composition de l'alginate :

- L'utilisation d'une plus grande concentration de cations divalents va provoquer la formation d'un gel plus compact dont certaines des jonctions pourront se condenser. Cela mènera à une augmentation des tailles de pore et donc une diffusion des protéines (**Gaserød, 1998**) plus facile. En revanche, le type de cation divalent utilisé ne semble pas faire varier la porosité (**Mørch, 2006**).
- Une augmentation de la concentration en alginate implique une diminution de la taille des pores, alors que l'augmentation du nombre d'unités G de la chaîne a l'effet inverse. En effet, la condensation des jonctions est favorisée lorsque la chaîne comporte de plus grands blocs de G.

## I.4.9 Conclusion

Cet état de l'art nous a permis d'identifier les paramètres qui doivent être étudiés si l'on veut démontrer que des solutions d'alginate dans l'eau, réticulées, sont des matériaux viables pour remplacer les systèmes classiques qui permettent le traitement de surface des matériaux composites. Par exemple, afin de s'assurer que les chaînes d'alginate ne sont pas dégradées par la solution détergente, il faut que le pH de cette solution soit ajusté. De même, il faut éviter que les constituants de la solution détergente ne s'associent avec des chaînes alginates avec les ions calcium.

En préambule, il faut se placer dans les conditions de travail optimales de fabrication du gel. Cela implique de connaître précisément les propriétés de l'alginate de travail (masse molaire et nombre d'unités G consécutives portées par les chaînes). Les concentrations de travail en alginate et en ions calcium ainsi que les proportions relatives des deux solutions sont aussi primordiales car le but du procédé est d'obtenir un gel continu homogène et non une suspension de microgels.

Un autre paramètre essentiel à l'efficacité du procédé de détergence est la diffusion totale des ions calcium dans la solution d'alginate. Il est aussi nécessaire de savoir si les phénomènes d'évaporation de l'eau du gel sont un obstacle à la migration complète de ces ions. La mise en œuvre hétérogène du gel (le calcium est projeté à la surface de la solution détergente) permettra-t-elle une réticulation homogène et totale ? Pour le savoir, il faut non seulement connaître la cinétique de formation du gel mais aussi vérifier l'homogénéité de la répartition du calcium dans l'ensemble de la solution d'alginate.

Il faut s'assurer que les interactions entre la solution détergente et les alginates n'entraveront pas la mise en œuvre de la solution détergente (faible viscosité) ou son efficacité. Il convient donc d'étudier l'évolution de la viscosité de la solution détergente en présence d'alginate. Il faut de plus s'assurer que le phénomène de synérèse du gel ne provoque pas une désorption des souillures fraîchement incorporées dans la solution détergente.

Enfin, il est important de maîtriser les propriétés mécaniques du film formé. La rigidité est-elle suffisante pour permettre un pelage du film (pas de perte de cohésion) ? L'augmentation de cohésion induite par l'addition d'ions calcium est-elle possible sur un film mince ?

Telles sont les questions qui ont motivé ce travail de thèse et qui seront abordées dans les prochains chapitres.



# Chapitre II Matériel et méthodes

Ce chapitre regroupe les descriptions des techniques courantes d'analyse ayant été utilisées dans le cadre des travaux de thèse. Les techniques plus spécifiques seront détaillées plus loin dans le texte.

## II.1 Les techniques de mises en œuvre des films

### II.1.1 Technique du spin-coating

#### II.1.1.1 Principe

Le spin-coating est une méthode permettant d'obtenir des films fins uniformes sur des substrats plans. La solution est placée sur un substrat qui est mis en rotation à haute vitesse afin d'étaler le liquide par force centrifuge. L'épaisseur de la couche déposée dépend de plusieurs paramètres :

- ❑ Vitesse radiale, accélération, temps de rotation,
- ❑ Quantité de solution déposée, concentration de matière dans le solvant, volatilité du solvant, viscosité

#### II.1.1.2 Matériel

Le spin-coater utilisé est un Delta6 RC TT (Süss Microtec) (Figure 26). Durant la rotation, Les échantillons sont maintenus en place sur le mobile tournant par aspiration sous vide. Une vitesse radiale de 2000 tours par minute pendant 30s est utilisée pour enduire les lamelles de verre d'une solution de souillure. Les échantillons de microscopie à force atomique sont préparés à 3000 tours par minute pendant 2 min.



**Figure 26 : Appareillage de spin-coating (à gauche)  
et son mobile tournant (à droite)**

## II.1.2 Méthodes de dépose des solutions

### II.1.2.1 *Dépose des solutions détergentes*

Dans le cadre de cette thèse, trois méthodes différentes d'application de la solution détergente ont été utilisées. La solution détergente peut être directement versée sur la surface souillée, appliquée au pinceau ou bien pulvérisée à l'aide d'un pistolet à peinture.

L'intérêt de verser directement la solution détergente sur la surface souillée est que cette méthode crée très peu de sollicitations mécaniques vis-à-vis de la pellicule de souillures. Cela permet donc de ne considérer que l'aspect thermodynamique des interactions entre la solution détergente et la surface souillée.

Lorsque l'influence de la sollicitation mécanique doit être étudiée, il est possible de recourir soit à l'application au pinceau (sollicitation forte), soit à la pulvérisation de la solution détergente (sollicitation douce). Lorsque la solution est appliquée au pinceau, l'enfoncement des poils est de l'ordre de 10 à 20% afin que la contrainte de cisaillement des souillures reste modérée. Lorsque la solution détergente est appliquée au pistolet à peinture, la projection de matière est toujours effectuée avec un angle de pulvérisation supérieur à 60° par rapport à la surface souillée. La distance de pulvérisation varie entre 20 et 30 cm. Selon la méthode d'application, le grammage de la solution déposée (calculé par gravimétrie) varie :

- ❑ Le grammage est de 4300g/m<sup>2</sup> pour une solution déposée par coulée. L'épaisseur du film liquide est alors d'environ 4 à 5 mm.
- ❑ Le grammage est de 2400 g/m<sup>2</sup> pour une solution déposée à l'aide d'un pinceau. L'épaisseur du film liquide est alors d'environ 2 mm.
- ❑ Le grammage est de 500 g/m<sup>2</sup> pour une solution pulvérisée. L'épaisseur du film liquide est alors inférieure au millimètre.

### II.1.2.2 *Dépose de la solution de chlorure de calcium*

Dans le cas de l'application d'une solution de chlorure de calcium permettant la réticulation de la solution détergente, le procédé d'application choisi est l'aérographe. Cet outil, habituellement utilisée pour la peinture de modèles réduits et maquettes, est adéquat pour pulvériser une solution très fine et homogène. Le grammage de la solution déposée (mesurée par gravimétrie) est de 15,5 g/m<sup>2</sup>, ce qui correspond à une durée de pulvérisation de 10 secondes.

L'aérographe (Figure 27) est utilisé dans les conditions suivantes :

- ❑ Diamètre de la buse : 0,5 mm
- ❑ Pression de pulvérisation : 2 bars (contrôlée au manomètre)
- ❑ Conditions de température et d'humidité stables (23°C, 50% d'humidité relative HR)
- ❑ Pulvérisation homogène de fines gouttelettes (10 à 15µm, après étalement)
- ❑ Hauteur (30 cm) et angle de projection (supérieur à 60° par rapport à la surface) constants



**Figure 27: Aérographe Iwata HP-BCR utilisé pour pulvériser le chlorure de calcium**

Il semble pertinent ici de vérifier que la quantité de calcium pulvérisée est suffisante pour faire réticuler la totalité de la solution d'alginate, pour les trois modes de dépose de la solution détergente.

Quantité de calcium déposée par unité de surface :

- ❑ Grammage de la solution de chlorure de calcium (4,76% m) : 15,5 g/m<sup>2</sup>
- ❑ Grammage du chlorure de calcium : 0,739 g/m<sup>2</sup>
- ❑ Grammage du calcium seul : 0,268 g/m<sup>2</sup>
- ❑ Masse molaire du calcium :  $M_{Ca} = 40$  g/mol
- ❑ Quantité de calcium par unité de surface :  $6,7 \cdot 10^{-3}$  mol/m<sup>2</sup>

Quantité d'alginate déposée par unité de surface (solution déposée par coulée) :

- Grammage de la solution d'alginate de sodium (2,97% m) : 4300 g/m<sup>2</sup>
- Grammage d'alginate de sodium : 127,7 g/m<sup>2</sup>
- Comme l'alginate utilisé contient 11,6% m de sodium, on en déduit le grammage d'alginate seul : 112,9 g/m<sup>2</sup>
- La masse molaire moyenne en masse de l'alginate est :  $\overline{M_w}=106200$  g/mol \*
- La quantité d'alginate par unité de surface est donc :  $1,06 \cdot 10^{-3}$  mol/m<sup>2</sup>
- Le modèle de la « boîte à œufs » montre qu'il est nécessaire que la chaîne alginate possède deux unités consécutives d'acide guluronique pour former avec un ion calcium un complexe alginate-calcium. Or, la caractérisation RMN <sup>1</sup>H de l'alginate sélectionné pour ces travaux a montré qu'il existe une fraction de diades GG dans la chaîne de l'ordre de 15% ( $F_{GG}=0,15$ ) \*
  
- La quantité de diades pouvant être complexées est donc :  $1,54 \cdot 10^{-4}$  mol/m<sup>2</sup>

\* : ces données sont issues d'analyses qui seront détaillées dans la section III.1. (Caractérisation des alginates).

La quantité de calcium pulvérisée ( $1,06 \cdot 10^{-3}$  mol/m<sup>2</sup>) est donc supérieure à la quantité de diades ( $1,54 \cdot 10^{-4}$  mol/m<sup>2</sup>) dans le cas d'une solution d'alginate coulée. Il en va de même pour les solutions déposées au pinceau ( $8,89 \cdot 10^{-5}$  mol/m<sup>2</sup>) ou pulvérisées ( $1,86 \cdot 10^{-5}$  mol/m<sup>2</sup>).

Toutes les expérimentations réalisées dans le cadre de cette thèse ont été effectuées avec une quantité de calcium en excès par rapport au nombre de diades GG des solutions d'alginate. Cela permet de garantir une réticulation totale de ces solutions, sous réserve que le calcium puisse y diffuser.

## II.2 Les techniques d'analyse

### II.2.1 Mesures d'angle de contact

#### II.2.1.1 Principe

L'angle de contact est l'angle formé par une interface liquide/vapeur et une surface solide. La mesure des angles de contact rend compte de l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface. La méthode consiste à mesurer l'angle de la tangente du profil d'une goutte déposée sur le substrat, avec la surface du substrat. Elle permet de mesurer l'énergie de surface du liquide ou du solide. De plus, la mesure de l'angle de contact permet d'accéder à l'énergie libre d'une surface. Elle permet aussi la discrimination de la nature polaire ou apolaire des interactions à l'interface liquide-solide.

Les angles de contact peuvent être mesurés à l'aide d'un goniomètre. En pratique, une goutte de liquide est déposée à l'aide d'une seringue sur la surface de l'échantillon à analyser (Figure 28).

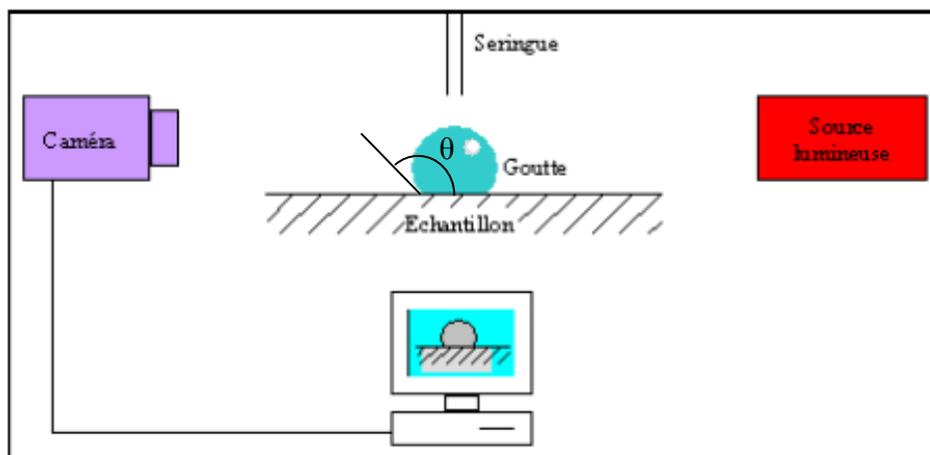


Figure 28 : Appareillage de mesure de l'angle de contact

La mesure de l'angle de contact  $\theta$  se fait à partir d'images capturées par un PC via une caméra. Le logiciel d'acquisition permet de numériser le contour de la goutte par traitement des images. Il détermine ensuite l'angle de contact grâce à des méthodes d'interpolation (polynôme, arcs de cercle).

### II.2.1.2 Matériel

Le goniomètre utilisé pour les mesures est un DSA 100 (Krüss) (Figure 29). Les conditions opératoires sont les suivantes :

- ❑ Logiciel d'exploitation des données DropShapeAnalysis
- ❑ Valeur moyenne de l'angle établie à partir de mesures effectuées sur 8 à 10 gouttes
- ❑ Température : 23°C
- ❑ Hygrométrie : 50%HR

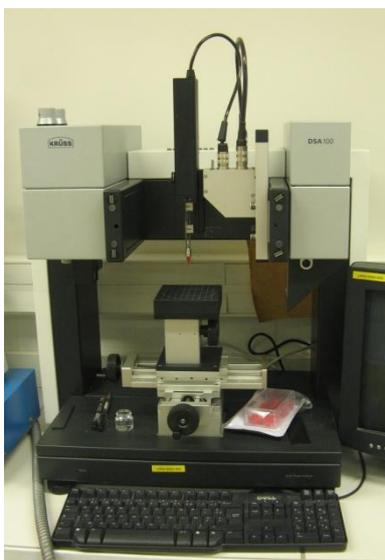


Figure 29 : Appareillage de mesure d'angles de contact

## II.2.2 Diffusion Dynamique de la Lumière

### II.2.2.1 Principe

La Diffusion Dynamique de la Lumière (DDL ou DLS pour Dynamic Light Scattering) est une technique permettant de mesurer la taille de particules dont le diamètre varie de 2 nm à 1  $\mu\text{m}$  environ. La méthode de DLS repose sur le principe de diffusion de la lumière par des particules colloïdales soumises à des mouvements thermiques aléatoires (mouvement Brownien).

Quand un faisceau de lumière passe au travers d'une dispersion colloïdale, les particules ou gouttelettes diffusent une partie de cette lumière dans toutes les directions. Les ondes émises par les particules interfèrent et le profil moyen de diffusion (moyenne temporelle) en fonction

de l'angle d'observation dépend de nombreux facteurs tels que la taille des particules, leurs concentrations et leurs interactions.

Si la lumière incidente est cohérente et monochromatique (cas d'un laser), alors il est possible d'observer les fluctuations dans le temps de l'intensité de la lumière diffusée en utilisant un détecteur tel qu'un photomultiplicateur. Ces fluctuations, dues au mouvement Brownien des particules, rendent compte du coefficient de diffusion des particules à partir duquel il est possible de calculer leur diamètre à l'aide de l'équation de Stokes-Einstein.

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$$

Avec  $D$  le coefficient de diffusion,  $k_B$  la constante de Boltzmann,  $T$  la température,  $\eta$  la viscosité et  $r$  le diamètre des particules.

#### II.2.2.2 Matériel

L'appareil utilisé pour effectuer les mesures de diffusion dynamique de la lumière est un Zetasizer 3000 HSA (Malvern Instrument). L'angle de détection est situé à  $\theta=90^\circ$  par rapport à la direction incidente. A partir des fluctuations d'intensité, l'appareil calcule la fonction d'auto-corrélation  $C(\tau)$  qui représente le degré de « ressemblance » des signaux séparés par un intervalle de temps  $\tau$  ( $C(\tau) \rightarrow 1$  quand  $\tau \rightarrow 0$  et  $C(\tau) = 0$  quand  $\tau \rightarrow \infty$ ). Pour une suspension monodisperse, la décroissance de  $C(\tau)$  est monoexponentielle avec une constante de temps  $\tau_c$  telle que :

$$\tau_c = \frac{1}{2Dq^2}$$

où  $q$  est le vecteur d'onde défini par :

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \sin \frac{\theta}{2}$$

Dans cette expression,  $n$  est l'indice de réfraction moyen du milieu,  $\lambda_0$  est la longueur d'onde du rayon incident dans le vide.

Si la suspension est polydisperse alors la fonction  $C(\tau)$  peut être considérée comme une somme d'exponentielles représentant la contribution de chaque population de taille différente. Différents algorithmes permettent de déconvoluer le signal et de calculer la distribution

moyenne et son indice de polydispersité. Dans le cadre de cette étude, la méthode dite des « cumulants » a été utilisée à cet effet.

## II.2.3 Chromatographie en phase Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse (GCMS)

### II.2.3.1 *Principe*

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (en anglais Gas Chromatography-Masse Spectrometry ou GCMS) est une méthode d'analyse combinant les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. Le chromatographe en phase gazeuse utilise une colonne capillaire dont les dimensions (longueur, diamètre, épaisseur du film) et la phase peuvent varier. Les différences de propriétés chimiques entre différentes molécules dans un mélange permettent la séparation de celles-ci selon leur temps de parcours (temps de rétention) dans la colonne. Cela permet au spectromètre de masse de capturer, ioniser, accélérer, dévier et détecter les molécules selon leur ratio masse/charge. L'utilisation conjointe de ces deux appareils permet donc une très bonne finesse de détection.

### II.2.3.2 *Matériel*

La partie Chromatographie en phase gazeuse est constituée d'un bloc 6890N Network GC System (Agilent Technologies) contenant une colonne HP-5MS (Hewlett Packard) spécifique à l'utilisation d'un spectromètre de masse (Figure 30). Les caractéristiques de la colonne sont les suivantes :

- ❑ Colonne polydiméthylsiloxane contenant 5% de fonctions Phényl. L'existence de ces groupements polaires permet une meilleure séparation des constituants.
- ❑ Longueur : 30m
- ❑ Diamètre : 250µm
- ❑ Epaisseur de film : 0,25 µm
- ❑ Gaz vecteur : Hélium à 1mL/min

Le spectromètre de masse utilisé est un 5973 *inert* – Mass Selective Detector (Agilent Technologies). Le mode d'ionisation est la méthode de l'impact électronique (méthode la plus courante et qui donne le plus grand nombre de fragments).



**Figure 30 : Appareillage de GCMS**

## II.2.4 Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

### II.2.4.1 *Principe*

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique spectroscopique reposant sur les propriétés magnétiques du noyau. Elle est fondée sur la mesure de l'absorption d'une radiation dans le domaine des fréquences radio par un noyau atomique dans un champ magnétique fort.

Un noyau peut être considéré comme une particule sphérique chargée tournant autour d'un axe et possédant son propre moment magnétique. Le nombre quantique de spin nucléaire  $I$  peut avoir une valeur égale à 0,  $\frac{1}{2}$ , 1, etc. Un noyau peut être étudié si son spin  $I$  est non-nul. En l'absence de champ magnétique externe, les moments magnétiques de spin sont orientés au hasard. En revanche, sous l'action d'un champ magnétique statique, ces moments vont s'aligner selon la direction du champ imposé. Dans le cas du proton, seules deux orientations sont permises : parallèle et antiparallèle. La différence d'énergie entre ces deux états dépendra directement de la force du champ magnétique appliqué. La fréquence du mouvement du proton en rotation est appelé fréquence de Larmor. Il sera possible d'effectuer une transition entre les deux niveaux d'énergie en fournissant au noyau l'énergie électromagnétique

correspondant à la fréquence de Larmor. Lorsque la transition a lieu, on dit qu'il y a résonance du noyau.

Le principe de la RMN du proton consiste à :

1. Utiliser un champ magnétique pour orienter les spins nucléaires des atomes
2. Exciter ces spins par une onde radio à la fréquence de résonance, ce qui fait basculer certains spins
3. Après l'excitation, les spins reviennent à leur état initial (relaxation)

Un schéma de l'appareillage est présenté en Figure 31 :

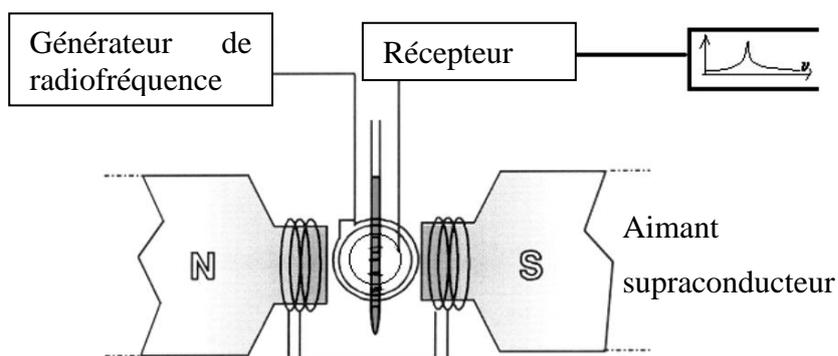


Figure 31 : Appareillage de RMN

L'échantillon est dissout dans un solvant dépourvu d'hydrogène afin de ne pas masquer les protons de l'échantillon examiné.

La position des différentes raies du spectre RMN est déterminée par rapport à une référence. Dans le cas du proton, on utilise le tétraméthylsilane (TMS). L'échelle de notation utilisée est le déplacement chimique noté  $\delta_i$ , exprimé en parties par million :

$$\delta_{ppm} = \frac{\nu_i - \nu_{ref}}{\nu_0} \times 10^6$$

Avec :

- $\nu_i$  : fréquence de résonance du noyau  $i$
- $\nu_{ref}$  : fréquence de résonance de la référence (TMS)
- $\nu_0$  : fréquence du champ statique

Le déplacement chimique d'un proton dépend essentiellement de la nature de l'atome qui le porte, des substituants portés par cet atome ainsi que de la nature des atomes adjacents et des substituants portés par ces derniers. Les déplacements chimiques donnent donc des indications sur l'environnement chimique du groupe auquel appartient le proton considéré. Il est ainsi possible d'identifier des groupes de protons à partir de la valeur de  $\delta$ .

Dans un spectre RMN, l'intensité d'un signal est mesurée par sa surface. L'intégration des surfaces des signaux se présente sous la forme d'une série de paliers. La hauteur de chaque palier est proportionnelle au nombre de H correspondants (Figure 32).

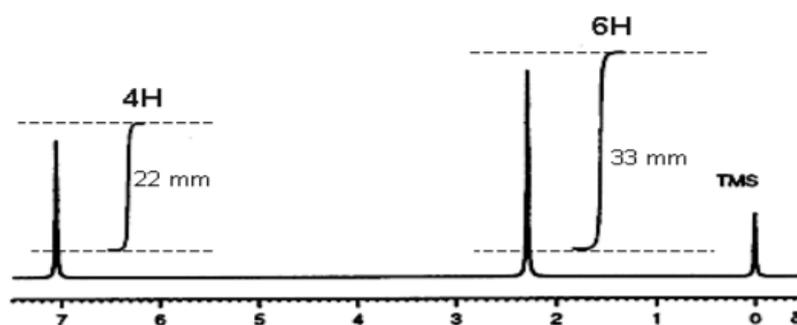


Figure 32 : Exemple de spectre RMN : le p-xylène

## II.2.5 Analyses thermiques (DSC et ATG)

### II.2.5.1 Principe

La calorimétrie différentielle à balayage (DSC pour Differential Scanning Calorimetry) est une des techniques d'analyse thermique utilisées dans le cadre des travaux de thèse. La différence de quantité de chaleur nécessaire pour augmenter la température d'un échantillon et d'une référence est mesurée en fonction de la température. Ainsi, quand l'échantillon subit une transformation physique comme un changement de phase, la quantité d'énergie à lui fournir pour qu'il maintienne sa température au même niveau que la référence varie. Le sens de l'échange de chaleur entre l'équipement et l'échantillon dépend de la nature endothermique ou exothermique de la transformation physique. En mesurant cette différence de flux de chaleur entre la référence et l'échantillon, l'appareillage de DSC peut mesurer la quantité de chaleur absorbée ou libérée au cours d'une transition. Des changements de phase tels que les transitions vitreuses peuvent donc être détectés.

### II.2.5.2 Matériel

L'appareillage de DSC utilisé est un DSC Q2000 (TA Instruments) (Figure 33), couplé au logiciel d'acquisition Q-Series. Les données sont retraitées via le logiciel Universal Analysis 2000.



**Figure 33 : Appareillage de DSC**

L'analyse thermogravimétrique (ATG) est une technique d'analyse thermique permettant l'étude de la variation de masse d'un échantillon en fonction de la température. L'ATG est couramment utilisée pour déterminer les températures de dégradation, le taux d'humidité absorbée par un matériau, le taux d'espèces organiques dans un matériau, etc.

L'appareillage d'ATG utilisé est un TGA Q50 (TA Instruments) (Figure 34), couplé au logiciel d'acquisition Q-Series. Les données sont retraitées via le logiciel Universal Analysis 2000.



**Figure 34 : Appareillage d'ATG**

## II.2.6 Microscopie à force atomique

### II.2.6.1 *Principe*

Le principe de l'AFM est de mesurer les différentes forces d'interactions entre une pointe (idéalement atomique) fixée à l'extrémité d'un bras de levier (cantilever) et les atomes de la surface d'un matériau (forces de répulsion ionique, forces de van der Waals, forces électrostatiques, forces de friction, forces magnétiques, etc.). La déflexion du cantilever est suivie en positionnant un faisceau laser sur la face supérieure du cantilever, le faisceau est réfléchi sur un miroir puis tombe sur des photodétecteurs qui enregistrent le signal lumineux. Les déplacements  $x$ ,  $y$ ,  $z$  se font grâce à une céramique piézoélectrique. Le balayage en  $x$ ,  $y$  peut aller de quelques nanomètres à  $150\mu\text{m}$  environ. La sensibilité en  $z$  est de l'ordre du nanomètre.

L'AFM permet donc l'analyse topographique tridimensionnelle des surfaces, avec une très haute résolution pouvant aller jusqu'à la résolution atomique. Cette technique est aussi capable de donner des informations sur les propriétés de surface : propriétés viscoélastiques, études tribologiques, mesures de force d'adhésion, etc.

### II.2.6.2 *Matériel*

Les substrats utilisés sont des carrés de mica de  $9,9\text{ mm}$  de côté et de  $0,1\text{ mm}$  d'épaisseur, fabriqués par la société Nanoandmore. Les pastilles de mica sont clivées avant chaque utilisation à l'aide d'un ruban adhésif. Le spin-coater utilisé pour préparer les échantillons est un G3P-8 fabriqué par la société PI-KEM (Royaume-Uni). Le microscope à force atomique est un Dimension ICON de la société VEECO. Il est monté sur une table antivibratoire avec boîtier acoustique intégré. Le logiciel d'acquisition et de traitement des données est Nanoscope 8 de VEECO. Les pointes en silicium monocristallin utilisées sont caractérisées par un rayon de courbure compris entre  $8$  et  $10\text{ nm}$ . Elles sont fixées sur des bras de levier ayant des constantes de raideur comprises entre  $50$  et  $70\text{ N/m}$  et une fréquence de résonance autour de  $350\text{ kHz}$ . En mode tapping, la fréquence de travail choisie est légèrement inférieure à la fréquence de résonance afin de compenser les forces attractives de van der Waals durant l'approche.

## II.2.7 Rhéologie

### II.2.7.1 Principe

La rhéologie est une branche de la physique qui étudie l'écoulement ou la déformation des corps sous l'effet des contraintes qui leur sont appliquées, compte-tenu de la vitesse d'application de ces contraintes ou plus généralement de leur variation au cours du temps. La façon dont la contrainte de cisaillement,  $\tau$ , varie en fonction de la vitesse de déformation,  $\dot{\gamma}$ , dépend de la viscosité. La viscosité  $\eta$  (Pa.s) est défini par :

$$\tau = \eta \dot{\gamma}$$

Les rhéogrammes sont les représentations graphiques permettant de traduire le comportement mécanique des fluides sous l'effet des cisaillements. Il existe différents comportements rhéologiques caractéristiques :

- Les fluides newtoniens. Leur viscosité est indépendante de la contrainte appliquée (Figure 35).

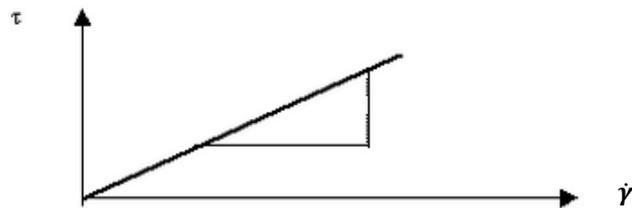


Figure 35 : Rhéogramme d'un fluide newtonien

- Les fluides rhéofluidifiants. Leur viscosité diminue quand la contrainte de cisaillement ou la vitesse de déformation augmente (Figure 36).

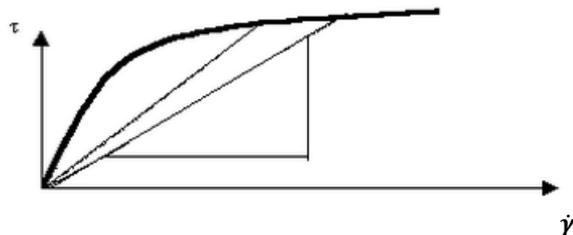


Figure 36 : Rhéogramme d'un fluide rhéofluidifiant

- Les fluides rhéoépaississants. Leur viscosité augmente quand la contrainte de cisaillement ou la vitesse de déformation augmente (Figure 37).

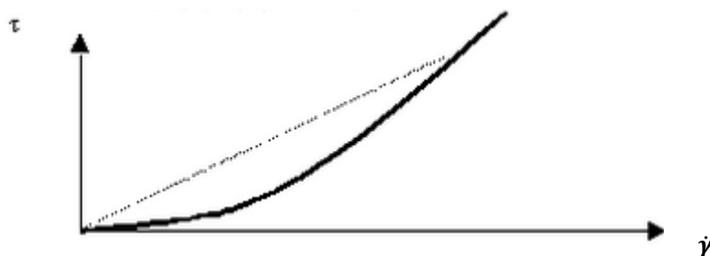


Figure 37 : Rhéogramme d'un fluide rhéoépaississant

### II.2.7.2 Matériel

Le rhéomètre utilisé est un AR1000N (Advanced Rheometer) de TA Instruments (Figure 38). C'est un rhéomètre à contrainte imposée et vitesse contrôlée, capable d'appliquer un couple donné pour mettre en mouvement le fluide (et calculer la contrainte correspondante) puis mesurer la vitesse de déplacement du fluide en réponse à cette sollicitation (et calculer ainsi le taux de cisaillement).



Figure 38 : Rhéomètre AR1000N

L'appareil est équipé d'un moteur à induction et d'un palier à air pour toutes les parties en rotation. La mesure du déplacement est effectuée grâce à un dispositif à encodeur optique et un système à plan Peltier permet un contrôle précis de la température. Une géométrie plan-plan est utilisée, avec un mobile de 40 mm de diamètre. L'acquisition est faite via le logiciel *AR Instrument Control* et le retraitement des données est effectué via le logiciel *Rheology Advantage Data Analysis*.

D'autres techniques plus spécifiques ont été utilisées pour effectuer la caractérisation des produits obtenus (essais mécaniques, nanoindentation, microsonde X, spectrométrie photoélectronique X, viscosité capillaire, etc.). Leur principe ainsi que leurs conditions d'utilisation seront détaillés dans les paragraphes correspondants.





# Chapitre III Préparation de gels d'alginate de calcium

## III.1 Caractérisation des alginates

L'alginate de sodium ( $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$ ) utilisé dans le cadre de cette thèse a été fourni par la société SIGMA (Alginic Acid sodium salt, from brown algae) dont la viscosité est de 250 cP pour une solution à 2% en masse à 25°C. Cet alginate est issu de l'algue *Macrocystis pyrifera* et appartient au lot 106K0113. Un extrait sec de la poudre d'alginate indique qu'elle contient 13% en masse d'eau. La détermination de la masse molaire ainsi que la caractérisation des chaînes par RMN  $^1\text{H}$  ont été réalisées au Département de Biochimie, Biophysique et Chimie des macromolécules dirigé par le Dr Ivan Donati, à l'Université de Trieste. Ces travaux sont détaillés ci-dessous.

### III.1.1 Détermination de la masse molaire

#### III.1.1.1 Principe

La méthode choisie pour déterminer la masse molaire de l'échantillon est la mesure de viscosité capillaire. La réponse des macromolécules à l'application de forces hydrodynamiques peut renseigner sur leurs volumes et leurs dimensions et donc indirectement sur leurs masses molaires. Dans le cas des solutions de polymères diluées, la viscosité dépend directement des forces de cisaillement entre les macromolécules et leur solvant. Ces forces de cisaillement sont d'autant plus grandes que la masse molaire du polymère est grande.

#### III.1.1.2 Mode opératoire

L'alginate est dilué à la concentration finale de 0,84 mg/mL dans une solution contenant 0,1M de chlorure de sodium (nécessaire pour tamponner la force ionique). La dilution est essentielle afin de travailler à des concentrations telles que le comportement est Newtonien. La solution est ensuite filtrée trois fois à travers des filtres Millipore (0,45  $\mu\text{m}$ ) afin de supprimer toute impureté. La viscosité capillaire réduite de l'échantillon d'alginate de sodium a été mesurée pour une solution à 0,1M de NaCl à 20°C à l'aide d'un dispositif Schott-Geräte AVS/G et d'un viscosimètre de type Ubbelohde (type 0a,  $\varnothing$  0,53 mm). Le système AVS/G est constitué d'un bain thermostaté et de deux capteurs de conductance thermique (transverses au viscosimètre capillaire) et a pour but de mesurer automatiquement le temps de parcours du

ménisque entre les deux positions fixes. Ce temps de parcours est proportionnel à la viscosité du fluide en écoulement. La mesure est pertinente à condition que la solution ait un comportement newtonien (viscosité indépendante de la vitesse de cisaillement). Cela est bien le cas dans les conditions opératoires (0,84 mg/mL) comme montré dans la section 2.2. du chapitre III. Les temps d'écoulement sont corrigés à l'aide de la correction Hagenbach (compensation des erreurs prenant en compte l'énergie cinétique du fluide). Les valeurs de viscosité intrinsèque ont été calculées en analysant la variation de la viscosité spécifique réduite en fonction de la concentration ( $\eta_{sp}/c$ ) (équation de Huggins) ainsi que le logarithme réduit de la viscosité relative ( $\ln \eta_{rel}/c$ ) (équation de Kraemer).

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k_H [\eta]^2 c$$

$$\frac{\ln(\eta_{rel})}{c} = [\eta] - k_K [\eta]^2 c$$

Ces deux équations permettent de connaître l'évolution des viscosités en fonction de la concentration du polymère.

### III.1.1.3 Résultats

Les résultats obtenus sont reportés sur la Figure 39 :

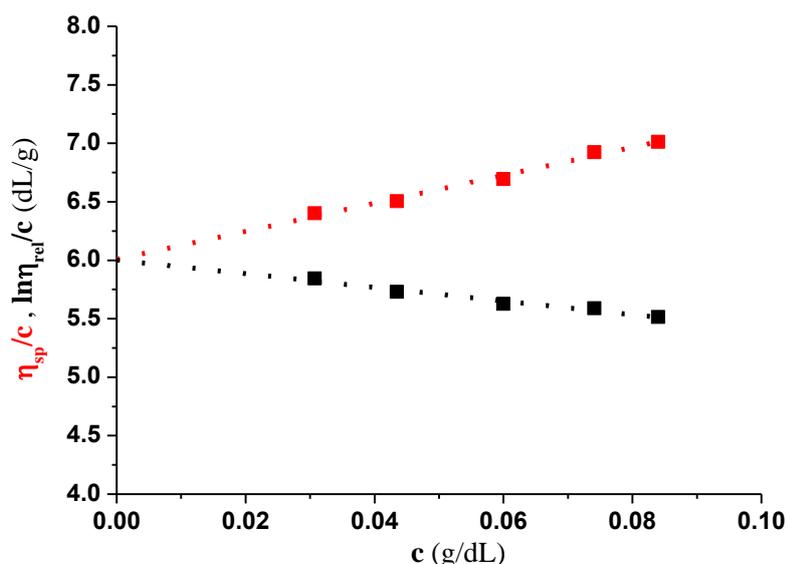


Figure 39 : Tracés de Huggins (rouge,  $R^2=0,98$ ) et Kraemer (noir,  $R^2=0,97$ )

L'intersection de ces deux tracés (dilution infinie) permet d'obtenir la valeur de viscosité intrinsèque. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 5 :

**Tableau 5 : Viscosité intrinsèque de l'échantillon d'alginate**

Echantillon	$[\eta]$ (dL/g)	$k_H$	$k_K$
Alginate	6.01 ( $\pm 0.01$ )	0.332	0.162

La masse molaire a été calculée à partir de l'équation HMS (Houwink- Mark-Sakurada) liant la viscosité intrinsèque à la masse molaire moyenne en masse :

$$[\eta] = KM_w^a$$

Les paramètres a et K dépendent de la nature du solvant et du polymère. Dans le cas précis des alginates solubilisés dans l'eau, il est possible d'utiliser les paramètres caractéristiques de la relation décrite par Vold (**Vold, 2006**) :

$$[\eta] = 0.00504 M_w^{1.01} (0.1 \text{ M NaCl}, T = 20^\circ \text{ C}).$$

Avec  $[\eta]$  en mL/g et  $M_w$  en g/mol.

La relation donne alors le résultat suivant :

$$\overline{M}_w = 106\,200 \pm 200 \text{ g/mol}$$

Cet alginate présente une masse molaire moyenne. Les masses molaires des alginates extraits d'algues marines varient généralement entre environ 50 000 g/mol et 200 000 g/mol.

## III.1.2 Détermination de la composition des alginate

### III.1.2.1 *Matériel et méthode*

Les spectres RMN ont été enregistrés à 85 °C à l'aide d'un spectromètre Jeol 270 NMR (6.34 T) opérant à 270 MHz. Les échantillons ont été préparés comme décrit par Grasdalen (**Grasdalen, 1979**).

20 mg d'alginate sont solubilisés dans 80 mL d'eau distillée. Le pH est ajusté à 5,6 et la solution est traitée à 90°C pendant une heure. Le pH est ensuite ajusté à 3,8 et la solution est traitée à 90°C pendant 45 minutes. Enfin, le pH de la solution est ajusté à 6,8-7, l'échantillon est alors lyophilisé et 11 mg d'alginate dégradé sont dissouts dans 580 µL de D<sub>2</sub>O et ajouté à 20 µL d'une solution d'EDTA à 0,3M dans l'eau deutérée avant analyse. Les alginate sont partiellement dégradés (dépolymérisation modérée) afin de diminuer la viscosité de la solution et permettre leur analyse en RMN.

En pratique, les échantillons sont toujours considérés comme des alginate intacts. Les déplacements chimiques sont exprimés en parties par millions à partir du signal du 3-triméthylsilyl propanesulfonate. L'intégration des pics permet de déterminer la composition des différents échantillons d'alginate.

#### Conditions opératoires :

- ❑ Durée de l'impulsion : 5µs (45°)
- ❑ Temps de relaxation : 3,9s
- ❑ Scans : 512

### III.1.2.2 Résultats

Les résultats obtenus sont reportés sur la Figure 40 :

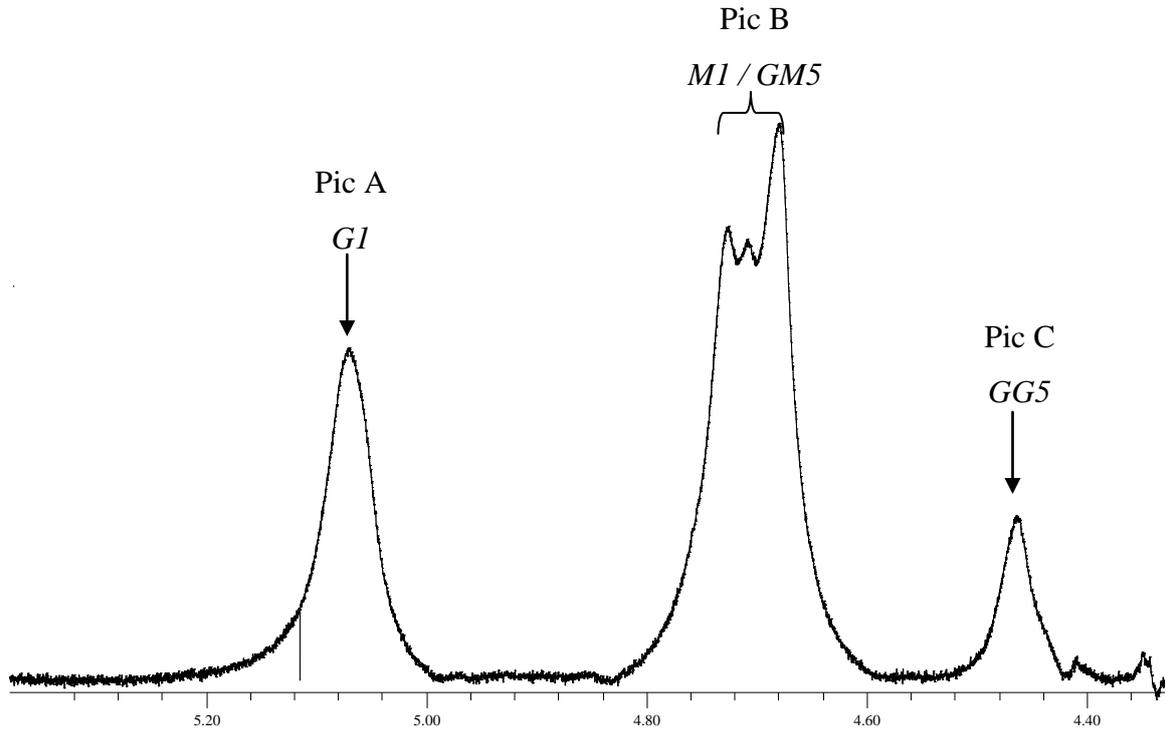


Figure 40 : Spectre RMN de l'alginate

Grasdalen (**Grasdalen, 1979**) a montré que les aires relatives des pics A, B et C du spectre permettent d'obtenir des informations sur le rapport M/G ainsi que sur les fractions de diades GG, MM et MG le long de la chaîne. Par exemple, la fraction molaire d'unités G ainsi que la proportion de doublets GG sont reliés aux intensités des pics tels que :

$$F_G = \frac{I_A}{I_B + I_C}; \quad F_{GG} = \frac{I_C}{I_B + I_C}$$

L'analyse du spectre RMN permet alors de déterminer les paramètres de composition suivants (Tableau 6):

Tableau 6: Composition de l'alginate de travail

Echantillon	$F_G$	$F_M$	$F_{GG}$	$F_{GM+MG}$	$F_{MM}$	$F_{GGG}$	$F_{GGM+MGG}$	$F_{MGM}$	$N_{G>1}$
<b>Alginate</b>	0.42	0.58	0.15	0.52	0.32	0.11	0.10	0.21	4.25

Avec :

- $F_G$  : fraction d'alginate correspondant à l'acide guluronique
- $F_{GG}$  et  $F_{GGG}$  : fractions d'alginate correspondant respectivement à des diades et des triades d'acide guluronique
- $F_{GGM}$ ,  $F_{MGG}$  : fractions d'alginate commençant ou finissant par un bloc d'acide guluronique
- $F_{GM}$ ,  $F_{MG}$  : fractions d'alginate correspondant à des séquences où les acides mannuronique et guluronique sont alternés
- $N_{G>1}$  : longueur moyenne des blocs G ( $N_{G>1} = (F_G - F_{MGM}) / F_{GGM}$ )

Du point de vue de la composition, cet alginate présente une fraction d'unités G moyenne ( $F_G=42\%$ ), correspondant bien à celle généralement trouvée pour d'échantillons extraits de la *Macrocystis Pyrifera*.

### III.1.3 Critères du choix de l'alginate

Il est préférable de travailler avec un alginate dont la teneur en unités G reste autour de 0,5 pour plusieurs raisons énoncées ci-dessous :

- Comme les chaînes M assurent la flexibilité et les chaînes G assurent la rigidité (et donc augmente la fragilité), il est nécessaire de travailler avec un matériau plus souple même s'il est au final moins résistant en traction par exemple (**Clare, 1993**).
- La diffusion des ions  $Ca^{2+}$  au sein de l'hydrogel est obligatoire car le procédé choisi étant « hétérogène » (par opposition à un procédé homogène permettant la libération instantanée du calcium dans tout le volume de la solution d'alginate), il faut s'assurer que les cations divalents puissent atteindre la face non-pulvérisée. Or il a été montré que plus la fraction d'unités G est grande, moins la diffusivité des ions au sein de l'hydrogel est importante (**Amsden, 1998**). En effet, une augmentation de la proportion d'unités G portées par la chaîne implique une diminution de sa flexibilité et donc une diminution de la mobilité des ions au sein de la solution.
- Il est préférable de choisir un alginate n'ayant pas un trop grand nombre de blocs homogènes (poly-M et poly-G) car il est susceptible de précipiter à des valeurs de pH plus faibles que celles correspondant à un alginate contenant plus de blocs hétérogènes (poly-MG) (**Amsden, 1999**).

- ❑ Ce type d'alginate est couramment utilisé dans l'industrie alimentaire et est donc facilement accessible. Les volumes produits ainsi que la disponibilité sont donc importants. C'est aussi très intéressant du point de vue économique.

## III.2 Caractérisation des solutions d'alginate

### III.2.1 Etude gravimétrique de solutions d'alginate

La perte de masse de différentes solutions d'alginate a été quantifiée afin de déterminer les cinétiques d'évaporation de l'eau des solutions. En effet, ce paramètre est important notamment pour la préparation des films après dépôt de la solution. Afin de réaliser ce suivi gravimétrique, quatre solutions d'alginate à différentes concentrations ont été placées dans des boîtes de pétri de dimensions connues :

- ❑ 10mL d'eau pure, sans alginate
- ❑ 10g de solution d'alginate à 0,47% massique dans l'eau (**Alg 5gL**)
- ❑ 10g de solution d'alginate à 2,91% massique dans l'eau (**Alg 30gL**)
- ❑ 10g de solution d'alginate à 4,30% massique dans l'eau (**Alg 45gL**)

Le suivi gravimétrique de ces quatre échantillons est réalisé à l'abri de la lumière, à 23°C et 50% d'humidité. L'épaisseur du film liquide est volontairement choisie importante afin de mettre plus facilement en évidence les informations sur la cinétique d'évaporation. En l'occurrence, le film liquide a une épaisseur de 4,5 mm.

Les résultats de gravimétrie sont représentés en Figure 41 :

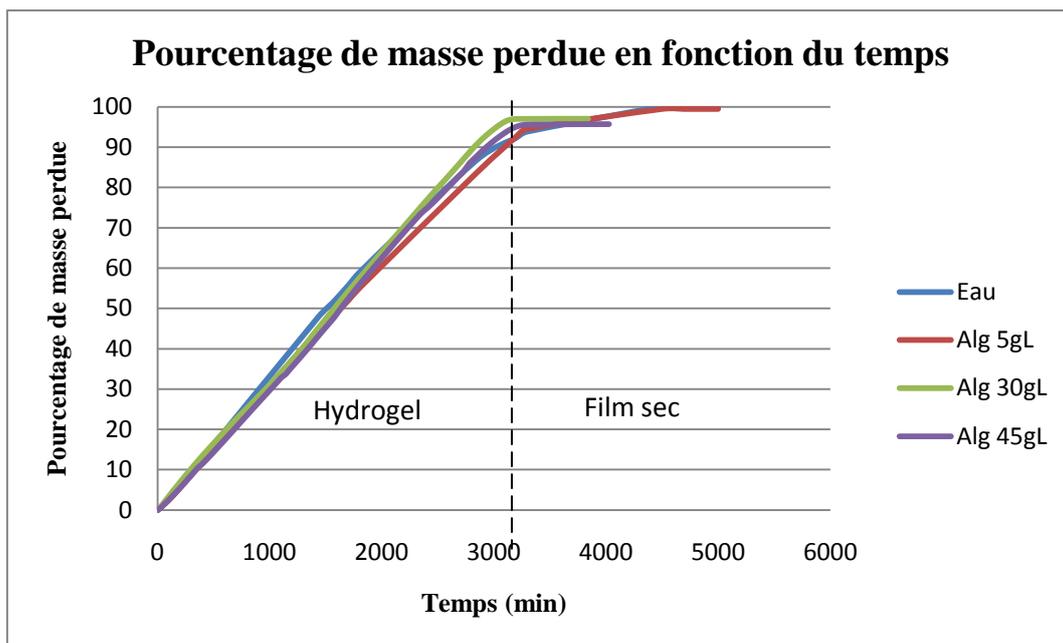


Figure 41 : Suivi gravimétrique des solutions d'alginate les plus concentrées

Ces résultats permettent de conclure que :

- ❑ La cinétique d'évaporation de l'eau d'une solution d'alginate varie très peu en fonction de la concentration en alginate
- ❑ Les valeurs finales de perte de masse, au palier des courbes, sont en accord avec les concentrations massiques des solutions préparées (Tableau 7)

Les pentes à l'origine de ces courbes sont calculées sur la Figure 42. Comme la surface de contact entre l'air et la solution est un paramètre déterminant de la quantité d'eau évaporée, la surface de solution en contact avec l'air est prise en compte dans le calcul :

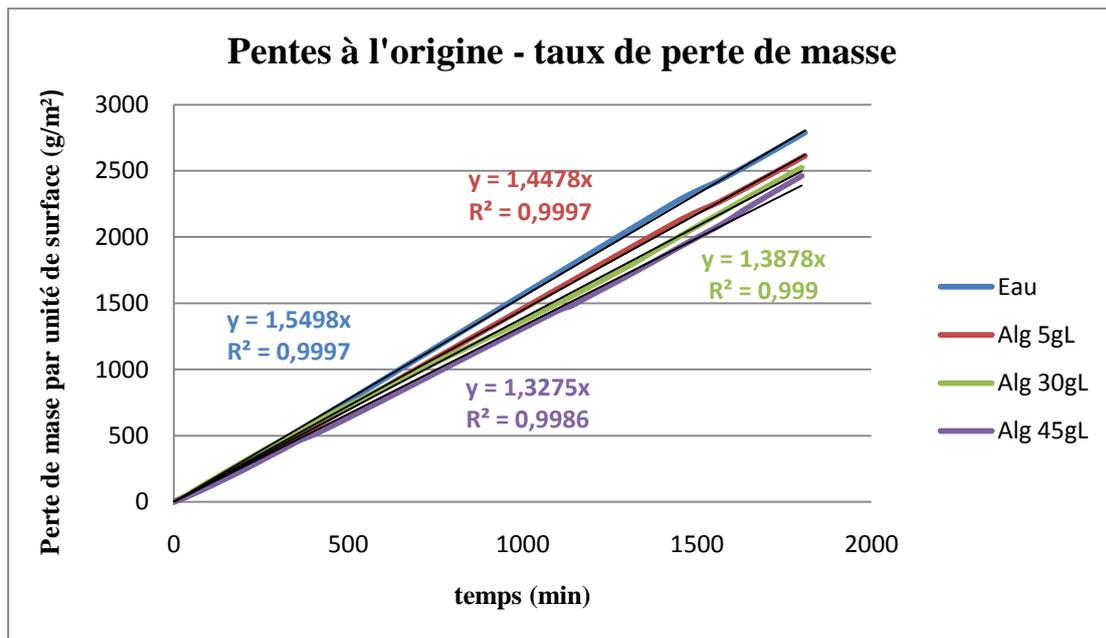


Figure 42 : Cinétique et taux de perte de masse des solutions d'alginate

Tableau 7 : Données des cinétiques de perte de masse

Echantillon	Concentration massique initiale (% massique)	Masse perdue (%) au palier	Taux de perte de masse ( $\pm 0,04$ ) ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ )
Eau pure	0	100	1,55
Alginate 5g/L	0,47	99,47	1,45
Alginate 30g/L	2,91	97,07	1,39
Alginate 45g/L	4,30	95,66	1,33

Les écarts de masse perdue au palier entre les solutions d'alginate sont directement liés à la différence de concentration massique entre ces solutions. Par exemple, dans le cas des solutions 30g/L et 45g/L :

- Différence de pourcentage de masse perdue :  $97,07\% - 95,66\% = 1,41\%$
- Différence de composition massique :  $4,31\% - 2,91\% = 1,40\%$

Ces résultats permettent de conclure que le taux de perte de masse d'une solution d'alginate diminue très légèrement quand la concentration en alginate augmente. De plus, l'évaporation du solvant (eau) des solutions d'alginate se fait de façon linéaire jusqu'à un taux d'évaporation de l'ordre de 90%. Cela indique, par exemple, que les alginates ne forment pas, en surface de la solution, de peau susceptible de ralentir l'évaporation.

### III.2.2 Propriétés rhéologiques des alginates en solution

Il est connu que la variation de la viscosité d'une solution de polymère en fonction de la concentration est linéaire pour de très faibles concentrations. Cependant, dans le cas d'une solution destinée à perdre son solvant par évaporation, la gamme de concentrations explorée varie de la concentration initiale à 100% en fin de séchage.

#### III.2.2.1 Conditions opératoires

Des solutions d'alginate à différentes concentrations sont testées avec l'appareil AR 1000N (Advanced Rheometer) mentionné dans le chapitre matériel et méthodes. Les essais sont réalisés à 23°C. L'entrefer entre le support et le mobile est fixé à 1 mm. Une rampe de vitesses de cisaillement est programmée : de 10 à 500 s<sup>-1</sup> pendant 1 minute avec une mesure toutes les 6 secondes.

#### III.2.2.2 Résultats

Ces mesures montrent que la viscosité de la solution mesurée à 10s<sup>-1</sup> varie exponentiellement en fonction de la concentration dans la gamme explorée (Figure 43).

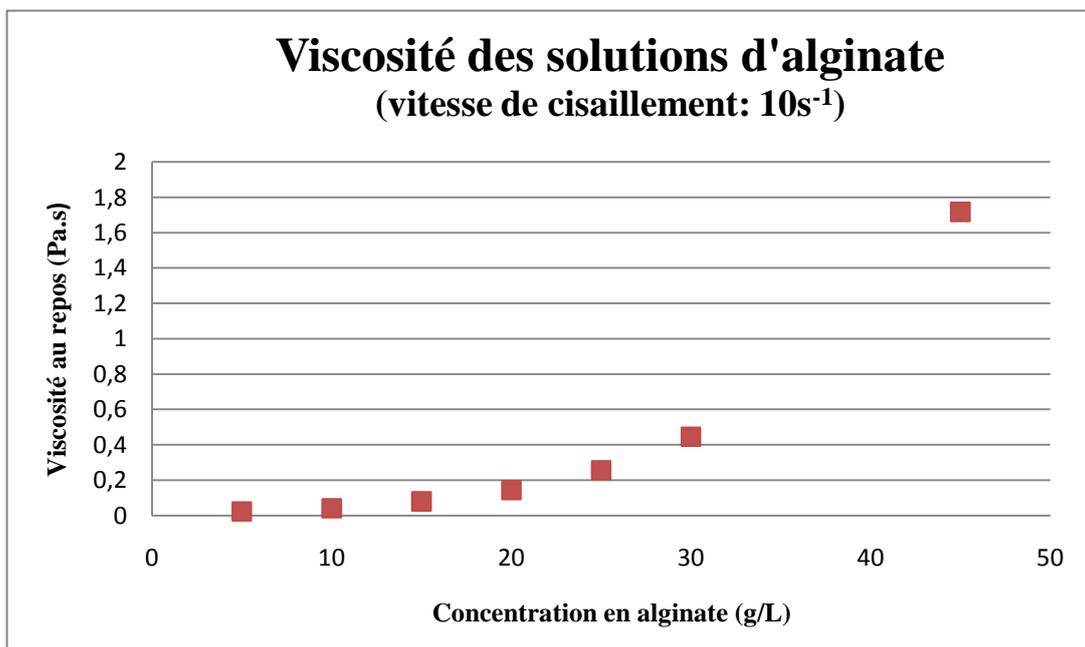


Figure 43 : Evolution de la viscosité des solutions d'alginate en fonction de la concentration en alginate

Les variations de viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement sont représentées en Figure 44.

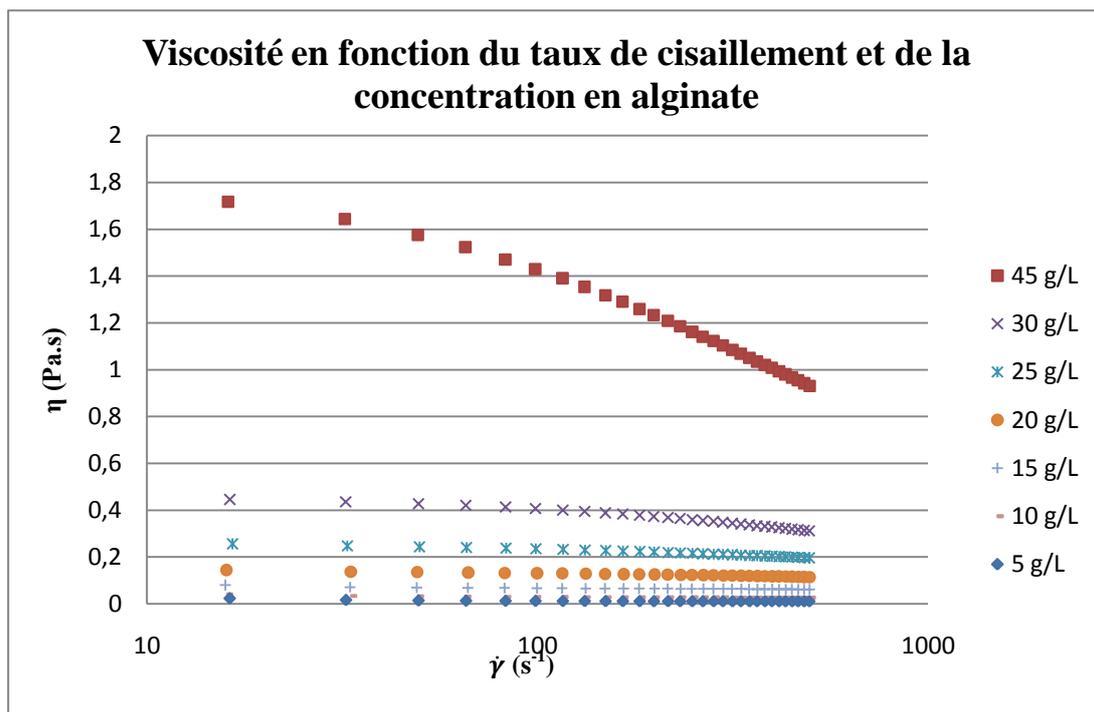


Figure 44 : Evolution de la viscosité en fonction du taux de cisaillement

Pour de faibles concentrations en alginate (inférieures à 25g/L), la viscosité ne varie quasiment pas en fonction du taux de cisaillement, ce qui est caractéristique d'un comportement newtonien de la solution. Pour des concentrations plus élevées, il existe un phénomène de rhéofluidification dû à la présence d'une plus grande densité d'interactions entre chaînes (enchevêtrements, liaisons OH) qui sont détruites sous l'effet d'une augmentation de la vitesse de cisaillement.

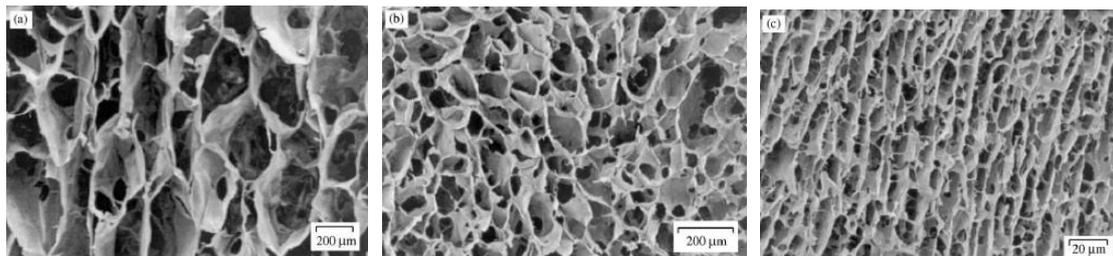
Ce comportement rhéofluidifiant est un avantage dans le cadre d'une application industrielle de ce type de solution. En effet, il est souhaitable que la solution détergente soit plus fluide lorsqu'elle est appliquée pour faciliter sa mise en œuvre et qu'elle redevienne visqueuse au repos pour qu'elle puisse ne pas couler sur des surfaces de géométrie complexe voire des parois verticales.

### III.2.3 Etude de la morphologie des alginates par AFM

#### III.2.3.1 Protocole opératoire

L'observation de la structure du gel d'alginate de calcium par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) requiert un traitement préalable de cryolyophilisation afin de figer sa structure et d'obtenir un produit sec. Ce protocole de congélation est l'étape critique de la méthode. En effet, des études conduites sur des systèmes similaires ont démontré que le protocole, et notamment le gradient de température appliqué au gel, conduisent à des structures très différentes. Il peut en résulter des variations dans la taille des pores du gel.

Chung et al. (**Chung, 2002**) ont montré l'influence du protocole de lyophilisation sur des éponges composées de mélanges alginate/chitosane (Figure 45). Le gel est formé grâce aux interactions électrostatiques entre les groupements carboxyliques anioniques de l'alginate et les groupements amine cationiques du chitosane. Après cryolyophilisation, le mélange alginate/chitosane constitue les parois de l'éponge.



**Figure 45 : Eponge de mélange alginate/chitosane ayant subi des congélations à différentes températures : (a) -20°C, (b) -70°C, (c) azote liquide (Chung, 2002)**

Afin d'éviter la cryolyophilisation des échantillons d'alginates et pour obtenir des résultats répétables, la technique de Microscopie à Force Atomique (AFM) a été utilisée. De plus, l'AFM apporte des informations avec une résolution spatiale de l'ordre du nanomètre.

Les modes utilisés sont le mode tapping dans l'air et le mode contact dans l'eau (pointes en nitrure de silicium avec des constantes de raideur à 0,12 N/m). Les images possèdent 512\*512 points de mesure à des fréquences de balayage allant de 0,5 à 1Hz.

En mode tapping, le cantilever oscille à une fréquence proche de sa fréquence de résonance. Quand la pointe arrive au voisinage de la surface, les forces d'interactions entre la pointe et celle-ci vont provoquer une variation d'amplitude de cette oscillation. La hauteur du cantilever est alors ajustée pour revenir à la fréquence d'origine et cet ajustement est traduit

sous la forme d'une image. En mode contact, la force de répulsion entre la pointe et la surface est maintenue constante en maintenant une déflexion constante.

Pour chaque échantillon, l'image en topographie ainsi que l'image en contraste de phase sont données. Du fait de la dureté des fibres, les images en contraste de phase apportent souvent une meilleure résolution. Cependant, les images en topographie permettent d'obtenir les dimensions des fibres (longueur, hauteur et rugosité de l'échantillon).

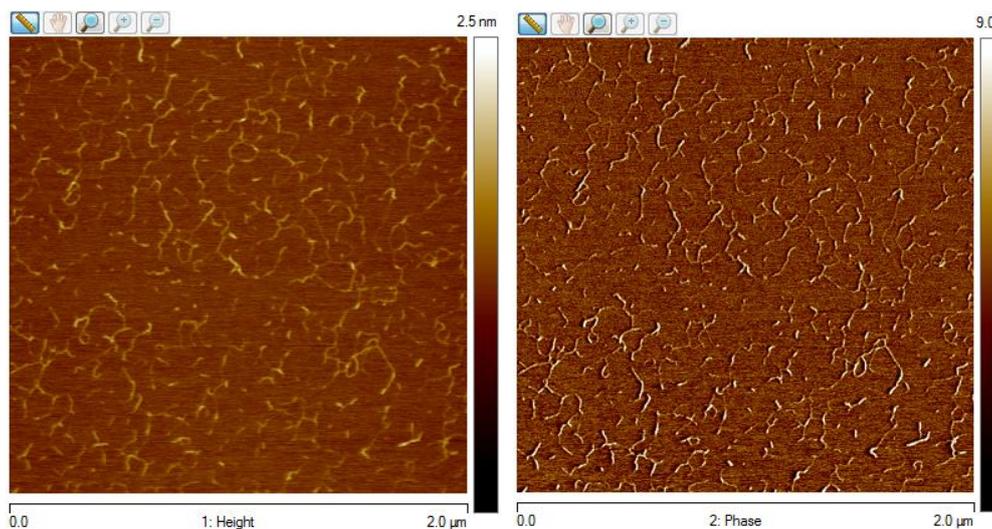
### *III.2.3.2 Choix de la concentration de travail*

La surface de travail généralement utilisée en AFM est le mica. Le mica possède une structure feuilletée (phyllosilicate) facilement clivable, ce qui permet d'obtenir une surface propre et prête à l'emploi rapidement. Le mica choisi ici est la muscovite dont la formule est :  $\text{H}_2\text{KAl}_3(\text{SiO}_4)_3$ . Il s'agit de la forme de mica présentant la meilleure rigidité diélectrique, un clivage parfait et une très bonne transparence.

Trois solutions d'alginate de concentrations différentes ( $10^{-5}\text{M}$ ,  $10^{-6}\text{M}$  et  $10^{-7}\text{M}$  c'est-à-dire 1,06 g/L, 106 mg/L et 10,6 mg/L respectivement) sont préparées et déposées sur une pastille de mica selon le protocole suivant :

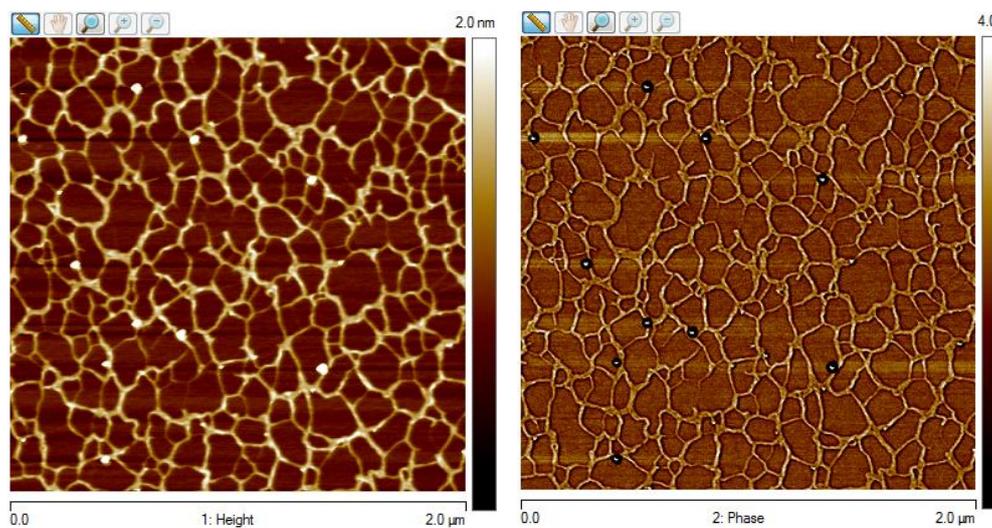
- ❑ 50 $\mu\text{L}$  de solution sont déposés à la pipette sur la pastille de mica
- ❑ Un temps d'attente de 5 secondes est respecté afin qu'il y ait une adsorption suffisante des chaînes d'alginate sur la surface
- ❑ La pastille est alors débarrassée de cette solution à l'aide du spin-coating (3000 trs/min pendant 2 min)
- ❑ La pastille est finalement laissée au séchage à température ambiante pendant au moins 24 heures afin d'éviter la présence d'une fine pellicule d'eau en surface au moment de l'analyse

Les représentations AFM de la solution  $10^{-7}$ M (10,6 mg/L) sont montrées en Figure 46.



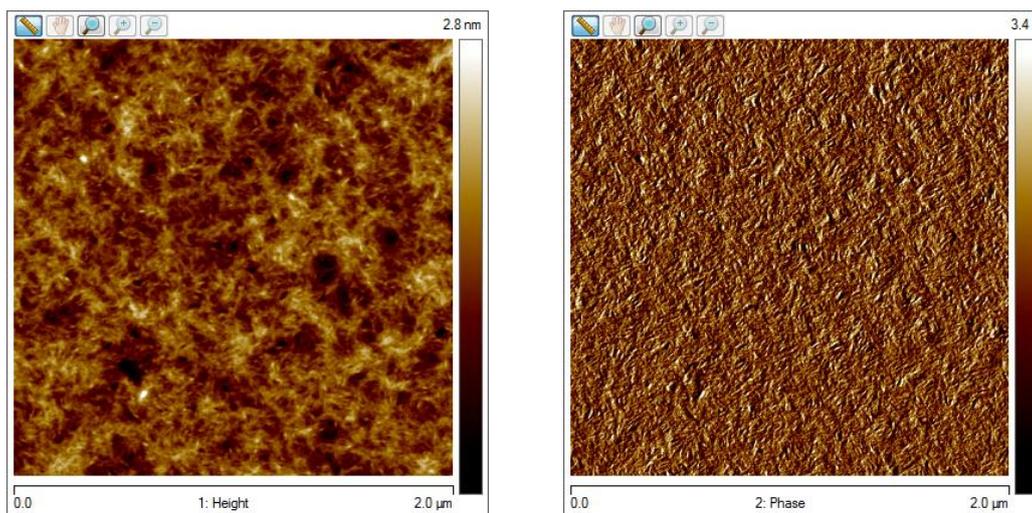
**Figure 46 : Solution d'alginate  $10^{-7}$ M sur mica  
(Spin-coating 3000 trs/min, 2 min)**

Les représentations AFM de la solution  $10^{-6}$ M (106 mg/L) sont montrées en Figure 47.



**Figure 47 : Solution d'alginate  $10^{-6}$ M sur mica  
(Spin-coating 3000 trs/min, 2 min)**

Les représentations AFM de la solution  $10^{-5}\text{M}$  (1,06 g/L) sont montrées en Figure 48.



**Figure 48 : Solution d'alginate  $10^{-5}\text{M}$  sur mica  
(Spin-coating 3000 trs/min, 2 min)**

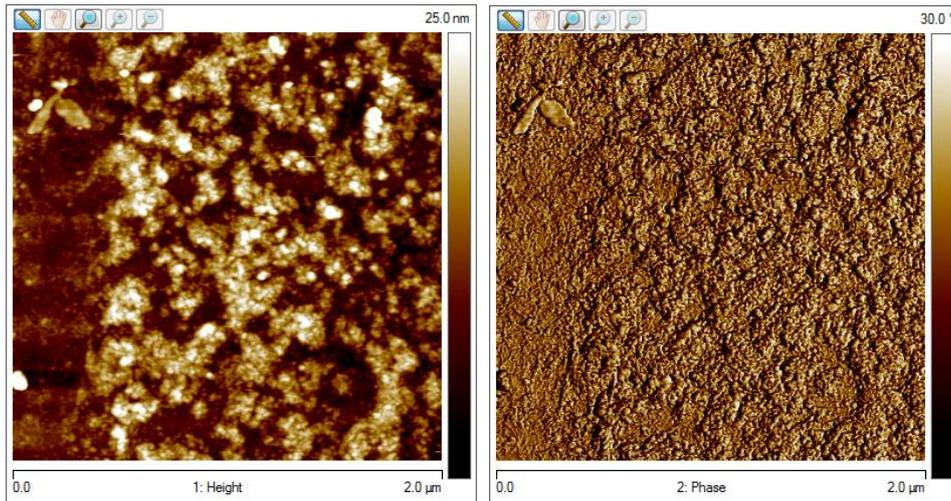
Par cette méthode de dépose, il est donc possible de couvrir totalement la surface avec une solution d'alginate concentrée à  $10^{-5}\text{M}$  (environ 1g/L d'alginate dans l'eau (Figure 48)). Pour des concentrations inférieures, des molécules d'alginate associées en brins sont observables et peuvent former un réseau continu ( $10^{-6}\text{M}$ ) ou bien discontinu ( $10^{-7}\text{M}$ ).

La concentration permettant l'observation la plus aisée de l'alginate est  $10^{-6}\text{M}$ . En effet, à cette concentration, il est possible d'obtenir un schéma de dépose de l'alginate sur la surface de mica qui soit répétable et dont les perturbations seront facilement détectées lors de l'ajout de calcium.

### *III.2.3.3 Influence du substrat de travail*

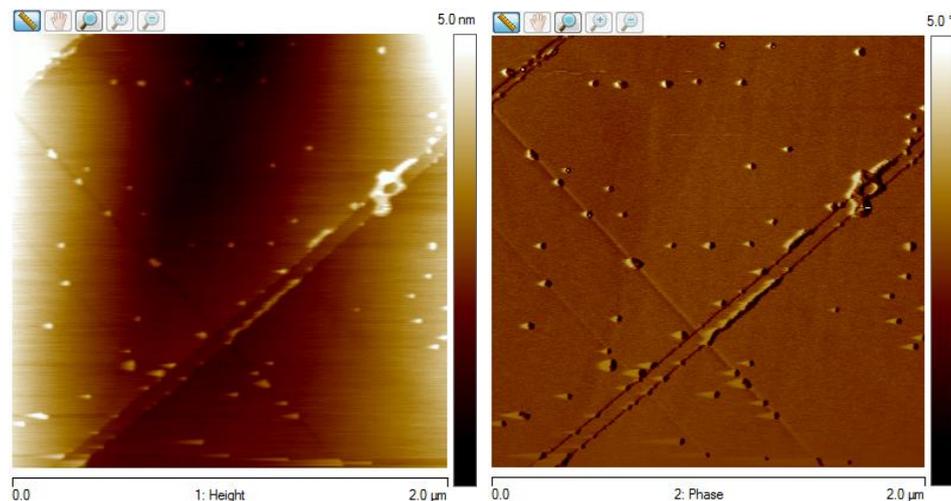
Les résultats obtenus précédemment ont montré un schéma singulier de dépose des chaînes alginates sur les surfaces de mica par spin-coating (Figure 47). Naturellement, une surface de mica fraîchement clivée est techniquement neutre. Dès que cette surface est mise en solution (à pH neutre), les ions potassium se dissocient et provoquent l'apparition d'une charge de surface négative et homogène. Par ailleurs, en raison de la présence d'un grand nombre de groupements uronates portés par la chaîne alginate en solution, la valeur de potentiel zêta de celle-ci est négative (Ma, 2007). Les interactions entre la surface de mica et la solution d'alginate sont donc répulsives ce qui implique une minimisation de la surface de contact.

La même solution d'alginate à  $10^{-6}$ M (106 mg/L), déposée sur du verre, présente des schémas de dépôt différents (Figure 49).



**Figure 49 : Solution d'alginate  $10^{-6}$ M sur verre  
(Spin-coating 3000 trs/min pendant 2min)**

La solution d'alginate recouvre totalement la surface de verre. De plus, l'épaisseur déposée est très nettement supérieure aux épaisseurs constatées sur les surfaces de mica. La même solution d'alginate à  $10^{-6}$ M (106 mg/L), déposée sur du graphite, présente des résultats encore différents (Figure 50).



**Figure 50 : Solution d'alginate  $10^{-6}$ M sur graphite  
(Spin-coating 3000 trs/min pendant 2 min)**

Le graphite est hydrophobe et présente un angle de contact avec l'eau de  $84^{\circ}\text{C}$  (Morcos, 1970). La solution d'alginate ne peut donc pas correctement mouiller la surface de graphite. Durant le spin-coating, l'eau est totalement chassée de la surface de graphite et seules

quelques chaînes d'alginate restent en surface, principalement dans les anfractuosités de la surface (lignes de clivage). Les brins ne s'étalent pas sur la surface mais restent alors sous la forme de pelotes.

### III.2.3.4 Taille des brins d'alginate

L'analyse de section sur la surface de mica (Figure 51) révèle que la hauteur moyenne des brins d'alginate est de l'ordre de 0,8 nm. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Decho (**Decho, 1999**).

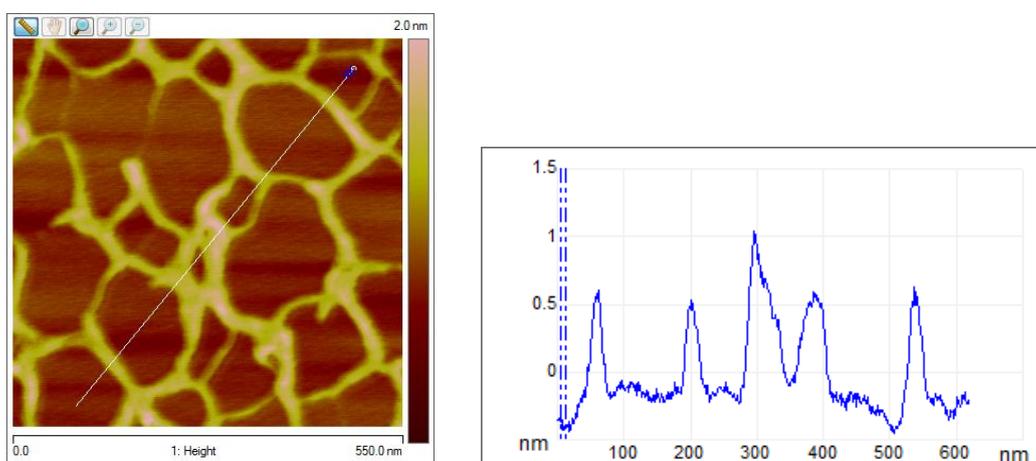


Figure 51 : Solution d'alginate ( $10^{-6}\text{M}$ ) sur mica et analyse de section correspondante

En revanche, l'épaisseur des brins d'alginate peut varier entre 2 et 20 nanomètres. Cette surestimation de la taille des brins d'alginate a deux causes :

- ❑ La mesure de l'épaisseur des brins peut être fortement dépendante de l'épaisseur de la pointe de mesure AFM (« tip-broadening effect »)
- ❑ Les chaînes d'alginate peuvent s'associer latéralement pour former des brins plus épais (effets capillaires favorisant l'agrégation des chaînes pendant le séchage par exemple)

De plus, la forme des brins d'alginate peut être expliquée par la structure physique de la molécule. Les deux monomères G et M sont organisés en différents blocs: les blocs M (M-M-M-M-), les blocs G (G-G-G-G-) et les blocs MG (M-G-M-G-). Quand un bloc MG est présent, il y a un changement abrupt de l'orientation de la molécule à angle droit. Ces variations d'angle répétées pourraient être à l'origine des ramifications observées.

## III.3 Conditions de préparation des gels d'alginate de calcium

### III.3.1 Choix des concentrations de travail

Avant de procéder à l'étude de la formation des gels d'alginate de calcium et des paramètres critiques qui la régissent, il est nécessaire de sélectionner les concentrations des solutions de travail. Plusieurs situations sont envisageables :

- ❑ Concentration trop faible de l'alginate dans l'eau : il n'y aura pas assez d'alginate pour former la structure hydrogel nécessaire à la cohésion du gel d'alginate de calcium et le film ne pourra donc pas être créé. De plus, la viscosité de la solution sera trop faible.
- ❑ Concentration trop forte de l'alginate dans l'eau : la viscosité sera beaucoup trop forte et pourra alors devenir un frein à la migration des ions calcium dans l'ensemble de la solution d'alginate. De plus, une trop forte viscosité pourra être un inconvénient lors de la mise en œuvre (dépôt difficile sur la surface)
- ❑ Concentration trop faible en ions calcium : seules les zones exposées directement au calcium seront réticulées. Il restera peu de calcium capable de diffuser dans le reste de la solution.
- ❑ Concentration trop forte en ions calcium : une formation beaucoup trop rapide et anarchique du gel produira des hétérogénéités de composition.

Il faut de plus considérer que la formulation détergente incorporée à la solution d'alginate sera susceptible d'interagir avec cette solution d'alginate à cause de modifications de la force ionique ou d'interactions entre les tensioactifs et les chaînes d'alginate. Pour limiter ces interactions, il est nécessaire :

- ❑ Que le tensioactif soit chargé et de même signe que les chaînes donc préférentiellement anionique ou alors non-ionique
- ❑ Que le tensioactif (et éventuellement son contre-ion si le tensioactif est ionique) ne soit pas lui-même un agent complexant du calcium

Il faut également chercher à minimiser la concentration d'alginate afin que la viscosité de la solution reste suffisamment faible pour faciliter la mise en œuvre du produit.

Des essais de formation de film ont été réalisés à différentes concentrations. Les solutions d'alginate sont étalées sur une surface lisse (environ 2300 g/m<sup>2</sup>) avant de subir une pulvérisation par une solution de chlorure de calcium concentrée à 4,97% massique (environ 15 g/m<sup>2</sup>). Cette pulvérisation est effectuée à l'aide d'un aérographe qui permet une pulvérisation très fine (diamètre de la buse : 0,5mm). Les concentrations utilisées sont considérées comme valides lorsqu'un gel visible est formé en surface des solutions d'alginate dans les 10 minutes suivant la pulvérisation et que le film qui en résulte après évaporation partielle du solvant est pelable. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 8:

**Tableau 8 : Tests de différentes concentrations de travail**

	Ca 0,05 g/L	Ca 0,5 g/L	Ca 5 g/L	Ca 50 g/L
<b>Alg 0,03 g/L</b>	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide
<b>Alg 0,3 g/L</b>	Liquide	Liquide	Liquide visqueux	Liquide visqueux
<b>Alg 3 g/L</b>	Liquide	Liquide visqueux	Gel hétérogène	Gel homogène non-cohésif
<b>Alg 30 g/L</b>	Liquide	Liquide visqueux	Gel hétérogène	Gel homogène cohésif

Les résultats indiquent qu'il est nécessaire de travailler avec les concentrations suivantes :

- ❑ Concentration en alginate : 30 g/L (2,91% massique)
- ❑ Concentration en calcium : 50 g/L (4,76% massique)

A ce niveau de concentration en alginate, la solution reste assez fluide pour être mise en œuvre. Il reste cependant à vérifier que le calcium puisse diffuser dans toute la solution.

### III.3.2 Cinétique de migration du calcium dans l'alginate

La cinétique de diffusion du calcium dans les solutions d'alginate est le second paramètre critique (avec l'évaporation de l'eau) qui gouverne l'homogénéité du film. L'association des alginates et du calcium étant quasi-instantanée, le front de diffusion du calcium correspond au front de formation du complexe calcium-alginate (**Blandino, 1999 ; Pielesz, 2008**). Une des techniques utilisées pour mettre en évidence ce type de liaison est la spectroscopie Raman (**Schmid, 2008**).

### III.3.2.1 Matériel

La spectroscopie Raman est une technique d'analyse non-destructive, basée sur la détection des photons diffusés inélastiquement suite à l'interaction de l'échantillon avec un faisceau de lumière monochromatique. La différence de fréquence entre photon exciteur et photon diffusé renseigne sur la nature chimique de la molécule à l'origine de la diffusion.

Les spectres Raman ont été enregistrés en mode rétrodiffusion sur un microspectromètre Labram I (Jobin-Yvon, Groupe Horiba, France) associé à un microscope confocal. Le laser utilisé est de type Ar-Kr (Spectra Physics Model 2016) à une longueur d'onde de 514,5 nm et une intensité de 10mW. La détection est effectuée à l'aide d'un détecteur CCD de 1152X298 pixels et un réseau de 600 traits/mm, ayant ainsi une résolution de  $16 \text{ cm}^{-1}$ . Le temps d'acquisition est de 1 seconde pour chaque spectre. Le trou confocal a été ajusté à  $500 \mu\text{m}$  et un objectif 10X (ouverture numérique de 0,25) a été utilisé, permettant ainsi d'obtenir une résolution spatiale d'environ  $30\mu\text{m}$  dans le plan focal.

Les spectres sont étudiés et traités à l'aide du logiciel Labspec. Après acquisition, les courbes sont lissées via un filtre proposé par le logiciel : le lissage appliqué est une moyenne du signal sur 3 pixels consécutifs du détecteur CCD.

Afin de mesurer les temps de diffusion, une solution d'alginate dans l'eau ( $29,1 \text{ g/L}$ ) est placée dans un tube à essai de 2 mm de diamètre, à ras bord. A  $t=0\text{s}$ , une goutte de solution de chlorure de calcium ( $47,6 \text{ g/L}$ ) est déposée au sommet du tube. Le tube est choisi en fonction de son diamètre intérieur, celui-ci devant être le plus faible possible afin que le front de diffusion du calcium dans le tube soit le plus homogène possible (Figure 52). A l'échelle de l'expérimentation, la goutte de calcium est considérée comme un réservoir infini de calcium. La démonstration en est faite à partir des calculs suivants :

Pour la goutte d'eau :

- ❑ Volume de la goutte =  $V_{\text{Ca}}=0,05 \text{ mL}$  soit  $0,05 \cdot 10^{-3} \text{ L}$
- ❑  $[\text{CaCl}_2]_{\text{massique}}= 47,6 \text{ g/L} \rightarrow [\text{Ca}]_{\text{massique}}=17,3 \text{ g/L}$
- ❑ Masse molaire du calcium :  $M_{\text{Ca}}= 40 \text{ g/mol}$
- ❑  $[\text{Ca}]_{\text{molaire}}= [\text{Ca}]_{\text{massique}}/ M_{\text{Ca}} = 0,43 \text{ mol/L}$
- ❑ Quantité de calcium contenue dans la goutte :  $n_{\text{Ca}}=[\text{Ca}]_{\text{molaire}} * V_{\text{Ca}} = 2,15 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$

Pour le tube contenant l'alginate :

- ❑ La migration des ions Calcium est considérée uniquement sur les 10 premiers millimètres du tube (temps courts). Le volume considéré est donc un cylindre de 10mm de hauteur et de base égale à la section du tube
- ❑  $V_{\text{Alg}} = \text{Hauteur} * \text{Base} = 10 \cdot 10^{-3} * (\pi * (10^{-3})^2) = 3,14 \cdot 10^{-5} \text{ L}$
- ❑ La masse molaire moyenne en masse est :  $\overline{M}_w = 106200 \text{ g/mol}$
- ❑ La concentration massique de l'alginate est  $[\text{Alg}]_{\text{massique}} = 29,1 \text{ g/L}$
- ❑ La poudre s'alginate contient 13% m d'eau
- ❑ La concentration massique réelle de l'alginate est donc :  $[\text{Alg}]_{\text{réelle}} = 25,3 \text{ g/L}$
- ❑ En retranchant la masse du sodium (11,6% m), on obtient :  $[\text{Alg}]_{\text{réelle}} = 22,37 \text{ g/L}$
- ❑  $[\text{Alg}]_{\text{molaire}} = [\text{Alg}]_{\text{réelle}} / \overline{M}_w = 2,106 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$
- ❑ Les analyses RMN ont montré qu'il existe 15% de diades GG sur les chaînes alginates susceptibles de complexer le calcium
- ❑  $[\text{GG}] = [\text{Alg}]_{\text{molaire}} * 0,15 = 3,159 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$
- ❑ Quantité de diades contenues dans les 10 premiers millimètres du tube :  $n_{\text{GG}} = [\text{GG}] * V_{\text{alg}} = 9,9 \cdot 10^{-10} \text{ mol}$ .

Il apparait que la quantité de calcium utilisée pour cette expérience ( $2,15 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$ ) est bien supérieure à la quantité minimale nécessaire à la complexation de tous les diades GG ( $9,9 \cdot 10^{-10} \text{ mol}$ ). L'écart entre les deux quantités étant de l'ordre de 5 décades, il est donc raisonnable de considérer la goutte de calcium comme un réservoir infini de calcium.

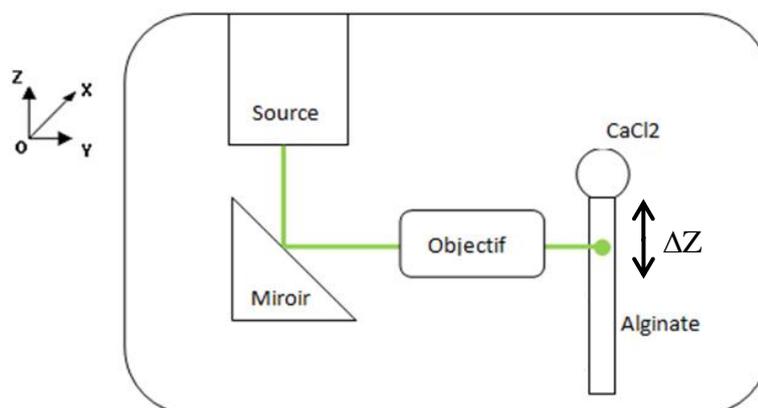


Figure 52 : Dispositif expérimental de mesure du temps de diffusion

Un miroir donne au faisceau une incidence horizontale, ce qui permet de focaliser le spot au cœur même du tube contenant l'alginate. Celui-ci étant placé sur un axe vertical mobile, il est possible de venir focaliser le spot à la distance voulue du réservoir de calcium. Ainsi, il est possible d'étudier le temps mis par le calcium pour diffuser dans la solution d'alginate en fonction du point d'observation et en déduire une cinétique de diffusion.

### III.3.2.2 Bandes caractéristiques du gel alginate de calcium

Des spectres Raman de la solution d'alginate (2,91% massique) avant et au moment du contact avec le calcium sont réalisés (Figure 53). Le spectre Raman de la solution de Calcium est lui aussi réalisé.

A l'état naturel, les chaînes d'alginate sont complexées par les ions sodium. Les interactions des alginates avec les ions calcium mènent à plusieurs changements de position des bandes, le plus caractéristique étant celui de la bande d'élongation symétrique  $\text{COO}^-$  de  $1413 \text{ cm}^{-1}$  (interaction Na-Alginate) à  $1433 \text{ cm}^{-1}$  (interaction Ca-Alginate) mentionnées par Pielesz et Bak (Pielesz, 2008).

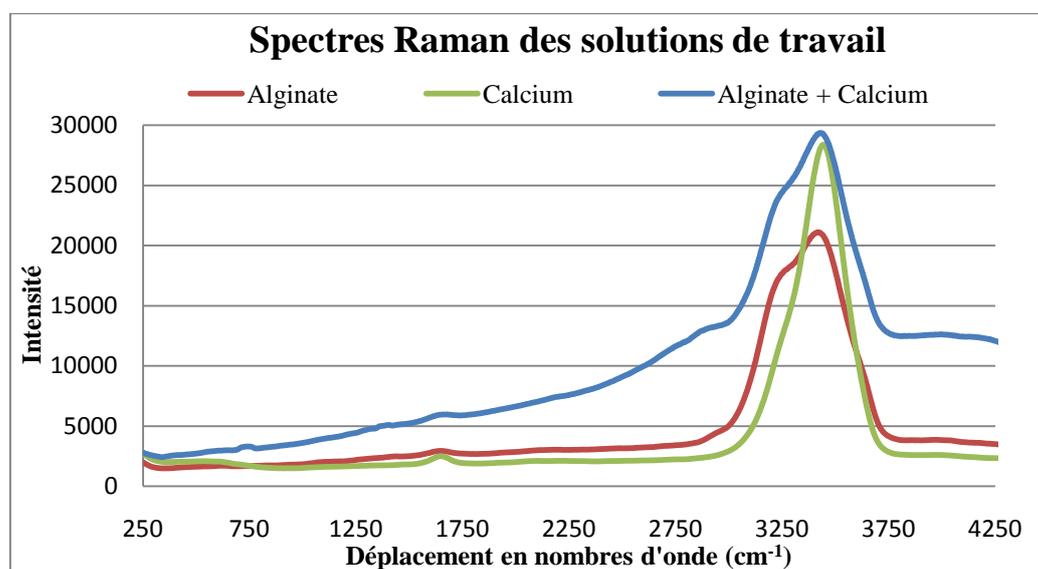


Figure 53 : Spectres Raman des solutions de travail

Ces bandes caractéristiques n'ont pas pu être détectées ici, y compris à des temps d'acquisition très longs. Cependant, certaines différences ont pu être identifiées entre les spectres des solutions d'alginate avec et sans calcium :

- ❑ La ligne de base est beaucoup plus intense lors de la complexation, ce qui indique une modification de l'indice de réfraction de la solution
- ❑ Le pic de l'eau (entre 3000 et 3750  $\text{cm}^{-1}$ ) est modifié après complexation : il perd une partie de sa symétrie (il s'affine en son sommet), ce qui indique une modification des interactions entre les molécules d'eau dans le gel (modification de la symétrie de la bande d'élongation OH)

La modification de la bande OH de la solution d'alginate en présence de calcium est bien due à un effet d'interaction entre le calcium et l'alginate. En effet, le spectre Raman du calcium seul ne présente pas cette modification de ligne de base. Cela implique que la modification de la ligne de base, caractéristique d'une variation de l'indice de réfraction de la solution, est un bon indicateur de la présence d'ions calcium. Il est donc possible d'obtenir des informations supplémentaires sur la cinétique de diffusion du calcium dans la solution d'alginate, *via* l'analyse des évolutions morphologiques du pic de l'eau au cours du temps. Pastorczak et al. (**Pastorczak, 2009**) ont d'ailleurs montré que l'eau absorbée dans un hydrogel est directement influencée par la formation de liaisons hydrogène eau-polymère dont on peut suivre l'évolution en spectroscopie Raman.

Afin de détecter d'éventuelles interactions entre les alginates et le calcium entre 3000 et 3750  $\text{cm}^{-1}$ , des essais ont aussi été réalisés dans l'eau deutérée qui permet de « supprimer » le pic de l'eau. Ces essais n'ont pas révélé la présence de pic caractéristique susceptible d'être dissimulé dans la bande de l'eau.

### *III.3.2.3 Résultats*

Afin d'étudier spécifiquement la bande d'élongation OH de l'eau, l'aire de cette bande (de 2900 $\text{cm}^{-1}$  à 3800 $\text{cm}^{-1}$ ) est enregistrée au cours du temps, après la dépose d'une goutte de calcium au sommet du tube (Figure 54). Cet enregistrement est effectué sans correction de la ligne de base.

Voici le profil caractéristique obtenu dans ces conditions (spot placé à 5 mm sous la goutte) :

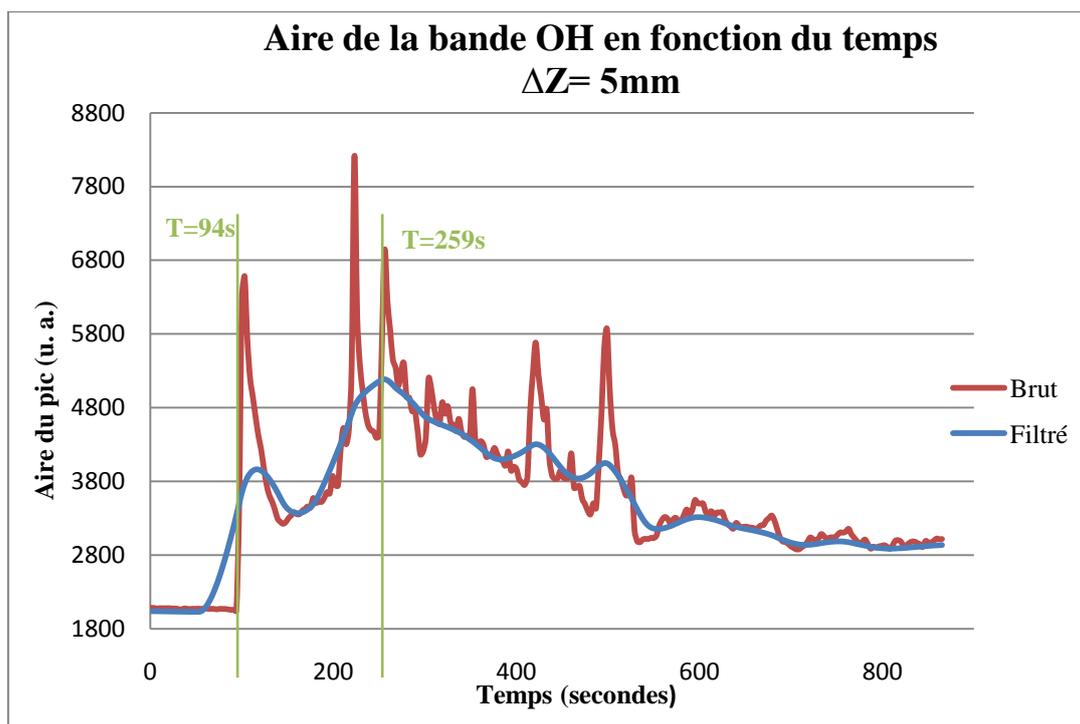


Figure 54 : Evolution de la bande OH de l'eau en fonction du temps

Malgré l'utilisation d'un tube très fin, le signal est fortement bruité en raison de l'hétérogénéité du front de diffusion du calcium dans la solution d'alginate. Cette hétérogénéité est due à une gélification localement non-homogène de l'alginate. Le signal est donc lissé via le logiciel d'exploitation. L'évolution de l'aire de la bande OH peut être décrite étape par étape :

- Jusqu'à 94s, le système n'est pas perturbé. L'aire de la bande OH ne varie pas.
- A  $t=94s$ , la goutte de chlorure de calcium est déposée au sommet du tube contenant la solution d'alginate. Cette étape est clairement identifiable sur le graphique (présence d'un artefact à 94 secondes).
- L'intensité du signal augmente rapidement pour atteindre un maximum aux alentours de 259 secondes. Le gel d'alginate de calcium est formé. A cet instant précis, le calcium est en excès dans la zone observée au Raman. Le gel est donc très dense du fait de l'association latérale des dimères en multimères.

- Après 259 secondes, l'intensité du signal diminue, la concentration en calcium diminue localement car celui-ci continue à diffuser dans le tube. Le gel va donc se réorganiser pour adopter une structure de moins en moins dense. Les multimères se dissocient pour reformer des dimères
- Aux temps longs, le signal tend vers une asymptote horizontale qui correspond à une structure de gel stable.

Le temps caractéristique choisi pour effectuer l'étude cinétique est le temps à partir duquel l'intensité du signal décroît, c'est-à-dire le temps à partir duquel il y a dissociation des multimères et que le gel final se forme. Il en résulte un temps caractéristique:  $t_c = 259 - 94 = 165s$ . Les temps caractéristiques de formation du gel (et donc de la migration du calcium dans la solution d'alginate) à différentes distances de la goutte de calcium sont présentés dans le tableau 9 :

**Tableau 9 : Temps caractéristiques de formation du gel**

d (mm)	$t_c$ (s)
4	120
5	165
6	276
8	585
9	840
10	1005

La progression du front de gélification s'effectue selon une loi du type  $d^2 = D_{app} * t$  où  $D_{app}$  est un coefficient de diffusion apparent, en considérant que la section du tube RMN permet de se placer dans les conditions d'une diffusion uniaxiale.

L'évolution du carré de la distance en fonction du temps de migration pour les valeurs données plus haut est donnée sur la Figure 55:

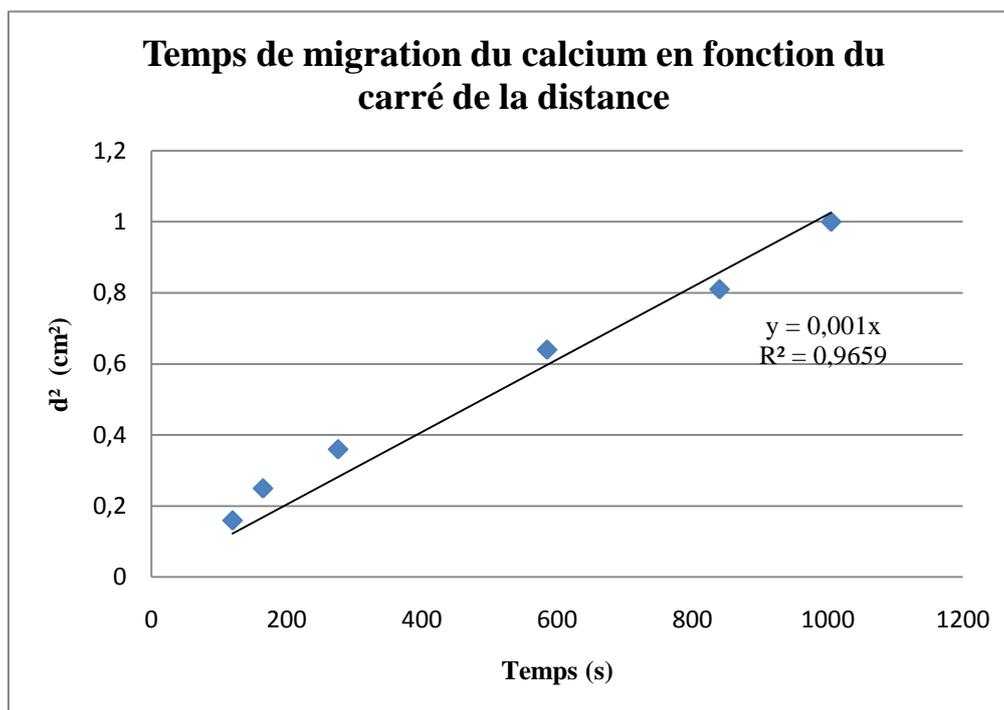


Figure 55 : Cinétique de migration du calcium dans l'alginate

Ces résultats indiquent qu'il existe une relation linéaire (coefficient de régression linéaire de la courbe de tendance très proche de 1) entre le temps et le carré de la distance. La pente de la courbe de tendance étant de  $10^{-3}$  cm²/s, le coefficient de diffusion apparent est donc :

$$D_{app} = 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$$

Ce coefficient de diffusion apparent, calculé de façon empirique, n'est pas simplement le coefficient de diffusion des ions calcium dans la solution d'alginate. Il représente la combinaison de deux phénomènes se produisant simultanément lorsque la goutte de solution de chlorure de calcium est placée au sommet du tube RMN (Figure 56) :

- La complexation des ions calcium avec la solution d'alginate,
- La migration des ions calcium à travers le gel fraîchement formé pour atteindre l'alginate non-réticulé plus bas dans le tube.

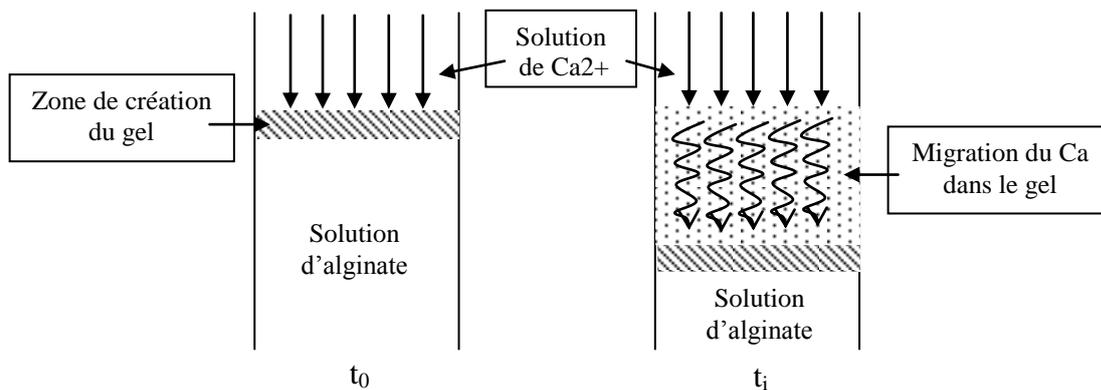


Figure 56 : Migration du calcium dans la solution d'alginate

La création du gel n'empêche pas la diffusion du calcium (pas d'effet barrière).

Ces résultats peuvent être comparés à ceux obtenus par Letellier et al. (Letellier, 2001) qui ont étudié la cinétique de formation d'un gel d'alginate de plomb par IRM. Dans un tube d'un diamètre de 6 mm contenant la solution d'alginate, ils ont déposé, sans vitesse initiale, une goutte de solution de  $Pb^{2+}$ . Les auteurs ont alors pu constater que la migration de ces ions divalents et donc la formation d'un gel d'alginate de plomb s'effectue selon une cinétique limitée par la diffusion de  $Pb^{2+}$ . Deux croissances différentes, au centre et sur le bord du tube, sont alors observées telles que :

- ❑  $D_{app} = 1,8 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$  au centre
- ❑  $D_{app} = 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$  sur le bord

Les différences de coefficient de diffusion apparent peuvent s'expliquer par la différence de contre-ion utilisé (l'interaction du  $Pb^{2+}$  avec les motifs guluronate est plus forte que celle des  $Ca^{2+}$ . La migration du  $Pb^{2+}$  est donc plus lente).

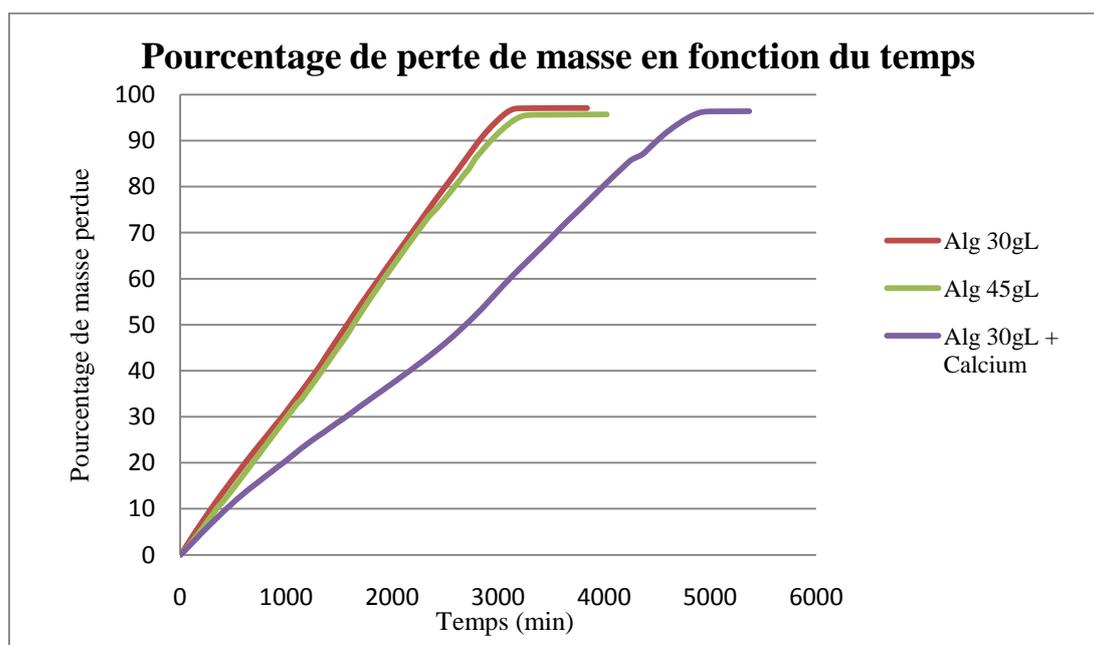
### III.3.3 Etude gravimétrique d'une solution d'alginate réticulée au calcium

Nous rappelons ici qu'un des objectifs de notre étude est de comprendre comment il est possible de fabriquer un film d'alginate réticulé par du calcium avec une cohésion suffisante pour être facilement manipulable. Lors de la pulvérisation d'une solution de chlorure de calcium sur une solution d'alginate déposée sur une surface, l'homogénéité de réticulation du film d'alginate de calcium obtenu est influencée principalement par deux paramètres :

- ❑ la cinétique de diffusion du calcium au sein de la solution d'alginate d'une part,
- ❑ la cinétique d'évaporation de l'eau de cette solution d'autre part.

La formation d'un film de cohésion suffisante avec une répartition homogène des ions calcium doit théoriquement correspondre à un compromis entre évaporation de l'eau et diffusion des ions calcium. Si le temps de diffusion du calcium dans l'intégralité de la solution d'alginate est plus long que le temps nécessaire à l'évaporation de l'eau présente dans la solution, le film obtenu sera caractérisé par une réticulation hétérogène. Cette mauvaise répartition du calcium peut alors provoquer l'apparition d'un gradient de concentration en calcium dans l'épaisseur du film, ce qui aura un impact sur ses propriétés mécaniques.

Le suivi gravimétrique d'une solution d'alginate (30g/L avec un grammage d'environ 4500 g/m<sup>2</sup>) ayant subi une pulvérisation de calcium (15 g/m<sup>2</sup>) a été effectué et comparé aux résultats de gravimétrie de solutions d'alginate seul (Figure 57). Le film d'alginate a volontairement été choisi épais (4,5mm) afin que la lisibilité du coefficient de perte de masse soit plus aisée.



**Figure 57 : Comparaison de la perte de masse de solutions d'alginate avec et sans réticulation au calcium**

Ces résultats montrent que pour une concentration en alginate donnée, la solution ayant subi une pulvérisation de calcium présente une cinétique d'évaporation de l'eau ralentie. Les taux de perte de masse par unité de surface sont comparés dans le Tableau 10.

**Tableau 10 : Taux de perte de masse (alginate avec calcium)**

Echantillon	Concentration massique initiale (% massique)	Masse perdue (%) au palier	Taux de perte de masse ( $\pm 0,04$ ) ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ )
Alginate 30gL	2,91	97,07	1,39
Alginate 45gL	4,30	95,66	1,33
Alginate 30gL + Ca	4,30	96,33	0,87

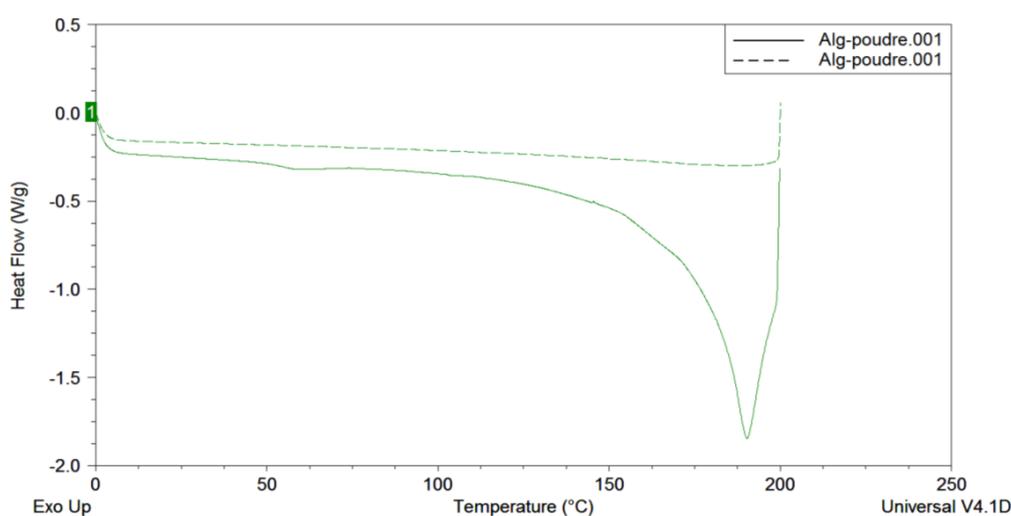
Dès que le calcium rentre en contact avec la surface de solution d'alginate, celui-ci s'organise quasi-instantanément sous la forme de complexes avec les macromolécules d'alginate. L'organisation de ces complexes sous forme de structures de type boîte à œufs, insolubles dans l'eau, mènent rapidement à la formation d'un hydrogel ayant tendance à retenir l'eau en son sein. La conséquence directe de ce phénomène est une cinétique d'évaporation de l'eau plus lente pour l'alginate de calcium. Compte-tenu de l'application visée, cette diminution du taux de perte de masse pour une solution d'alginate réticulée par le calcium est un avantage car elle permet au calcium de diffuser plus longtemps dans la solution d'alginate, garantissant ainsi une meilleure homogénéité du film d'alginate de calcium.

En pratique, le film liquide d'alginate déposé sur une surface souillée ne pourra jamais avoir une épaisseur de 4,5 mm, cette épaisseur n'étant pas compatible avec le possible procédé industriel :

- ❑ Le temps que doit prendre l'opération de nettoyage serait trop long : avec un film liquide de 4,5 mm d'épaisseur, il faut environ 50 heures pour que l'évaporation soit totale
- ❑ Il n'est pas garanti que la diffusion du calcium dans une telle épaisseur soit totale
- ❑ La mise en œuvre du produit serait compromise : un film liquide de cette épaisseur ne permettra pas une bonne accroche aux surfaces non-horizontales de géométrie complexe

### III.3.4 Propriétés thermiques des films d'alginate de calcium

Afin de connaître le comportement en température des alginates (température de dégradation, température de désorption d'eau) mais aussi les quantités d'eau résiduelles dans les films d'alginate, les propriétés thermiques de l'alginate ont été déterminées par DSC (Differential Scanning Calorimetry) et ATG (Analyse Thermogravimétrique). La poudre d'alginate est analysée entre 0 et 200°C (Figure 58), avec une rampe de température de 10°C/min (deux passages). Cette rampe de température sera utilisée pour toutes les expérimentations DSC et ATG. Les capsules utilisées pour effectuer les mesures sont scellées dans le cas de la DSC et ouverte dans le cas de l'ATG.



**Figure 58 : DSC de l'alginate en poudre**

**Trait plein : premier passage**

**Trait pointillé : deuxième passage**

Le thermogramme présente un large pic endothermique de dégradation irréversible aux alentours de 190°C. L'ouverture de la capsule après analyse confirme effectivement que l'alginate en poudre est dégradé (Figure 59). De plus, le second passage en DSC indique que ces modifications sont irréversibles.



**Figure 59 : Alginate commercial (poudre)  
avant et après DSC**

L'alginate en poudre présente une Tg vers 56,5°C (Figure 60).

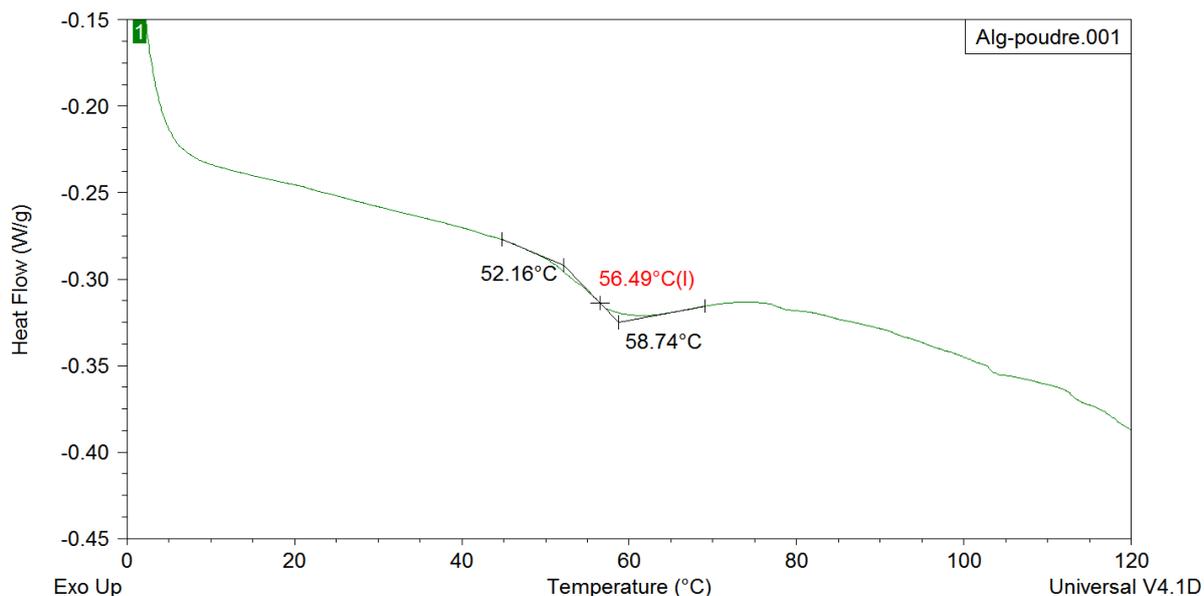


Figure 60 : DSC de l'alginate en poudre (détail)

L'analyse d'un film d'alginate préparé à partir d'une solution d'alginate à 30g/L et séché à l'air ambiant (avec et sans calcium à 50 g/L) présente des résultats différents (Figure 61).

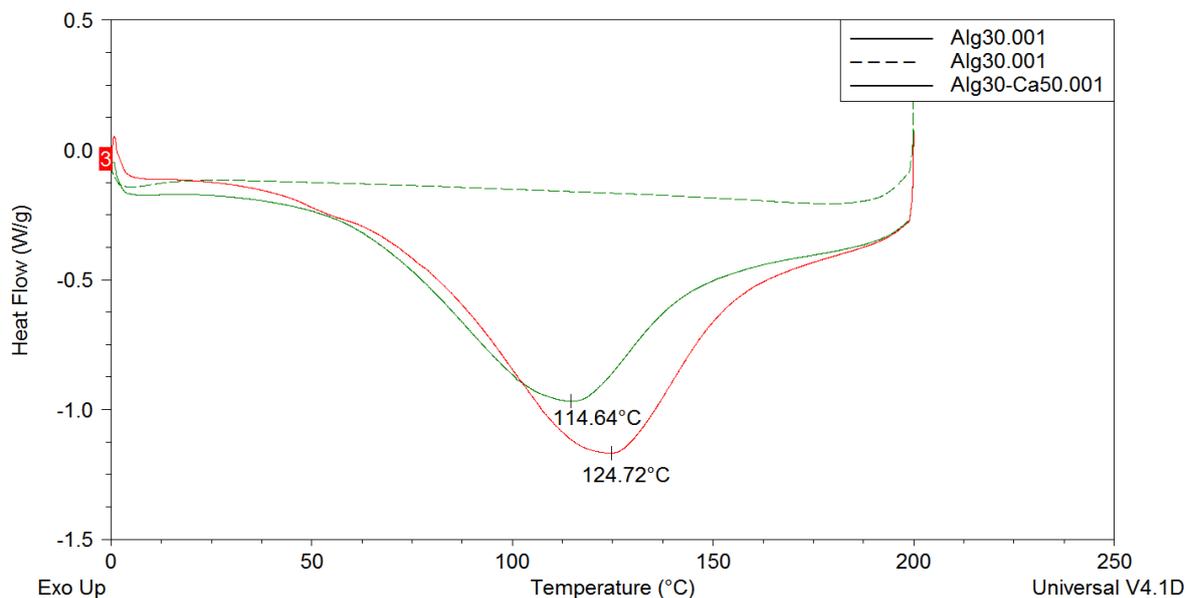
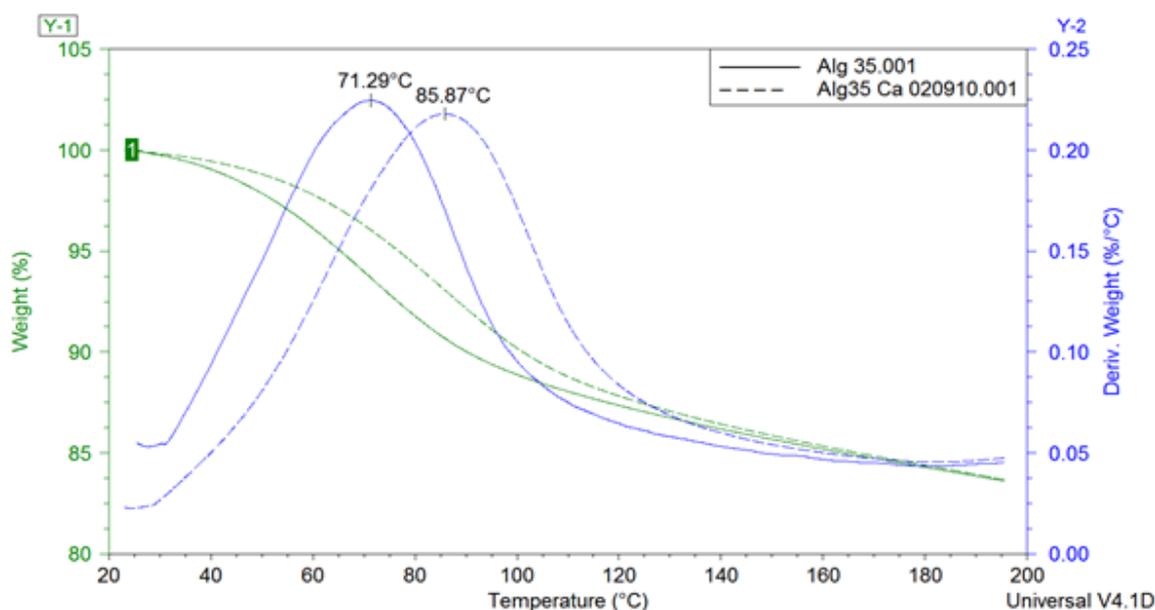


Figure 61 : DSC des films d'alginate avec et sans calcium

- Trait plein vert : alginate seul (film) premier passage
- Trait pointillé vert : alginate seul (film) deuxième passage
- Trait plein rouge : alginate réticulé au calcium (film)

Le pic caractéristique de la température de transition vitreuse de l'alginate n'apparaît plus sur les thermogrammes de la figure 61. Celui-ci est en effet noyé dans le large pic endothermique caractéristique de l'évaporation de l'eau du film. Cette eau s'évapore aux alentours de 115°C, c'est-à-dire au-delà de sa température d'ébullition, car elle est fortement liée au film d'alginate. Dans le cas d'un film d'alginate réticulé au calcium, le pic est encore plus large (quantité d'énergie supérieure) et l'eau du film s'évapore à une température supérieure, aux alentours de 125°C. La formation d'un hydrogel d'alginate de calcium a donc logiquement pour effet de retenir l'eau. Cependant, il apparaît que la température à partir de laquelle commence l'évaporation est la même pour les deux films (environ 50°C).

Ces résultats peuvent être comparés aux données obtenues par ATG (Figure 62) :

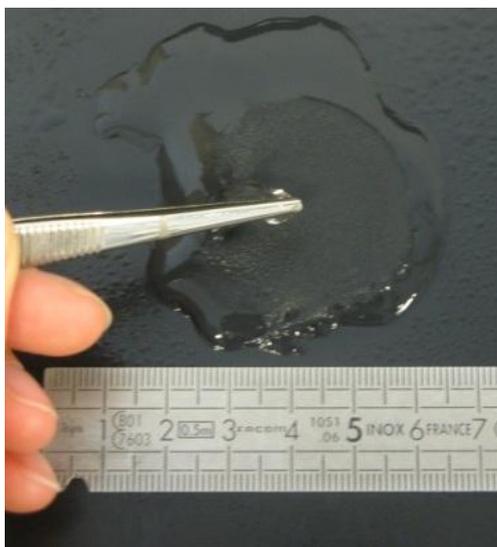


**Figure 62 : Thermogrammes de films d'alginate secs avec (trait pointillé) et sans réticulation (trait plein) au calcium.**

Les courbes vertes représentent la perte de masse relative en fonction de la température et les courbes bleues représentent la dérivée de cette perte de masse. Les maximum des dérivées ont une amplitude très proche (perte de masse identique pour les deux films) mais ne se produisent pas à la même température. La cinétique d'évaporation de l'eau d'un film d'alginate réticulé au calcium est plus lente que celle d'un film d'alginate seul. Il y a donc bien un retard dans l'évaporation d'eau du film d'alginate réticulé au calcium.

### III.3.5 Aspect du film d'alginate de calcium

Après avoir pulvérisé la solution de chlorure de calcium sur le film liquide d'alginate, il est courant d'observer, en fonction des concentrations en alginate et en calcium, l'apparition d'une pellicule à la surface du film (Figure 63). Cette pellicule tend à se contracter au cours de l'évaporation de l'eau pour n'être présente que sur une partie seulement de la surface:



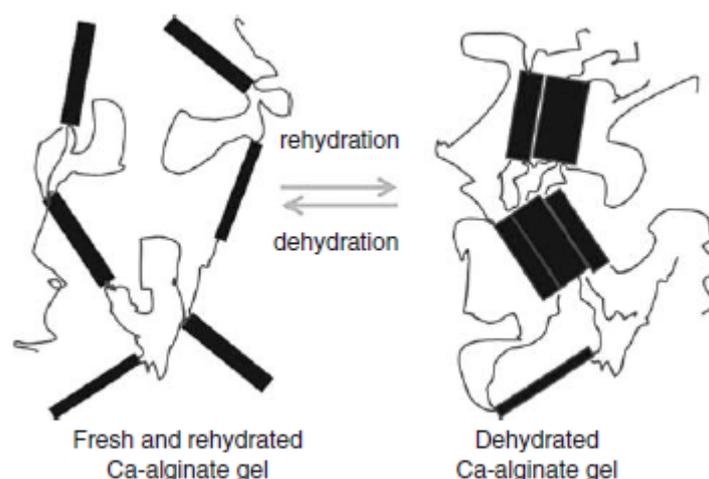
**Figure 63 : Formation d'une pellicule en surface après pulvérisation d'une solution de calcium**

Ce phénomène conduit, après évaporation totale de l'eau, à l'obtention d'un film sec hétérogène présentant en son centre une zone plus épaisse (Figure 64). Cette zone correspond à la partie du film ayant reçu le spray de chlorure de calcium.



**Figure 64 : Film sec d'alginate de calcium hétérogène**

Li et al. (Li, 2008) ont proposé un modèle permettant d'expliquer les effets du séchage et de l'hydratation sur la structure interne d'un alginate réticulé au calcium. Dans un gel homogène fraîchement préparé et encore gorgé d'eau, les zones de jonction sont sous la forme de motifs dimères (« egg-box dimers »). Ces auteurs ont montré que sous l'effet du séchage, ces motifs deviennent des structures plus grandes, constituées de plus de deux chaînes alginate (« egg-box multimers »), créées par association latérale des dimères (Figure 65).



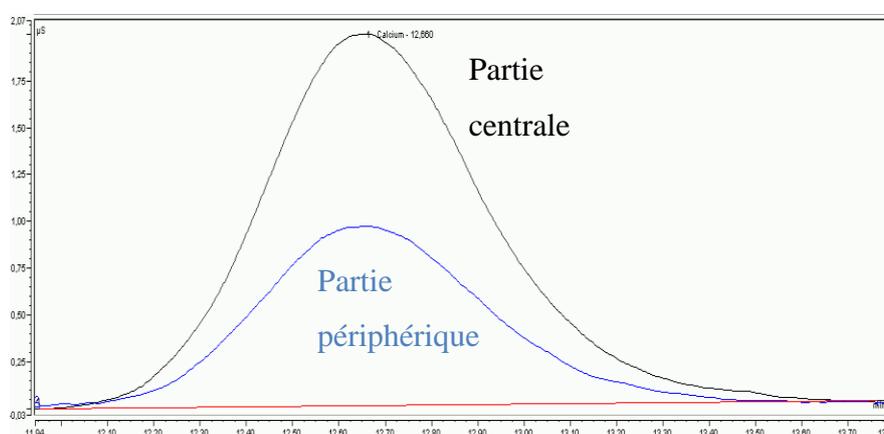
**Figure 65 : Formation (déshydratation) et séparation (réhydratation) des multimères (Li, 2008)**

L'association latérale des dimères a d'autant plus de chance de se produire que la concentration en calcium est élevée (plus particulièrement que le rapport calcium/acide guluronique est grand, **Stoke, 2000**). Or, durant la phase de déshydratation, la concentration en calcium augmente fortement ce qui a pour effet de promouvoir l'association des boîtes à œufs durant le séchage. Il résulte de cette association une densification du réseau partout où le calcium est en excès (formation de zones de jonction concentrées en alginate de calcium).

Le procédé utilisé ici pour réticuler l'alginate est hétérogène, cela signifie que la densification du réseau se produit dans un premier temps en surface de la solution d'alginate (le calcium étant en excès à la surface de l'échantillon). Cette densification du réseau se traduit macroscopiquement par la formation et la contraction d'une pellicule dense au centre du film. La partie centrale et la partie périphérique du film présentent donc des hétérogénéités de composition susceptibles d'avoir une influence sur les propriétés mécaniques finales de ce film. Afin d'étudier la concentration en calcium dans ces deux zones, des analyses de chromatographie ionique ont été réalisées.

Le film choisi a été obtenu à partir d'une solution d'alginate dans l'eau à 1,96% massique et d'une solution de chlorure de calcium à 4,76% massique en excès. Afin de réaliser ces caractérisations, des prélèvements de la partie centrale (pellicule) et de la partie périphérique du film sont effectués. Ces prélèvements sont ensuite pesés et solubilisés dans l'eau distillée (agitation magnétique, T=50°C pour favoriser la dissociation Ca-Alginate). La solution obtenue est alors filtrée avant analyse.

Un étalon externe d'une solution de chlorure de calcium est utilisé comme référence pour la quantification des ions calcium. Le temps de rétention pour l'ion calcium est de 12min et 40s. Les chromatogrammes des deux prélèvements sont représentés sur la Figure 66. Pour une meilleure lisibilité, un agrandissement des pics (à la même échelle) a été réalisé.



**Figure 66 : Chromatogrammes de la partie centrale (noir) et la partie périphérique (bleu) du film d'alginate de calcium**

Les quantifications correspondant à la quantité de calcium contenue dans chaque partie du film sont exposées dans le Tableau 11.

**Tableau 11 : Quantification du calcium dans les différentes zones du film**

Echantillon	Temps de rétention (min)	Identification	Hauteur de pic (µS)	Aire de pic (µS*min)	Quantité dans le film (ppm)
Centre	12,66	Calcium	1,985	1,141	8248,057
Périphérie	12,68	Calcium	0,955	0,558	4293,720

Ces résultats montrent que la partie périphérique contient moitié moins de calcium que la partie centrale. Il existe donc une différence de concentration entre les deux zones du film.

Il est essentiel de savoir si les concentrations de calcium au centre et surtout en périphérie de l'échantillon sont suffisantes pour permettre la réticulation de l'ensemble du film. Il est nécessaire de rappeler ici que le film obtenu après évaporation à température ambiante contient toujours de l'eau résiduelle (environ 11%<sub>m</sub>).

- ❑ Masse de calcium contenue au centre du film : 8250 ppm soit 8,25 g/kg
- ❑ Quantité de calcium correspondante :  $8,25 / 40 = \mathbf{0,206 \text{ mol de Ca}}$
- ❑ De même, en périphérie du film il y a **0,107 mol de Ca**
- ❑ Masse d'alginate de sodium dans le film :  $1000 - 8,25 = 991,75 \text{ g}$
- ❑ En prenant en compte l'eau résiduelle (11%<sub>m</sub>), la masse d'alginate de sodium est : 882,65g
- ❑ La masse d'alginate seul (sans les 11,6%<sub>m</sub> de sodium) est donc : 780,26 g
- ❑ Quantité d'alginate correspondante :  $7,35 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$
- ❑ Quantité de diades GG correspondantes :  **$1,1 \cdot 10^{-3} \text{ mol de diades GG}$**

Cette valeur est largement dépassée au centre (0,2 mol) comme à la périphérie du film (0,1 mol). Ce large excès permet d'ailleurs d'assurer la diffusion totale du calcium au sein de la solution d'alginate. D'après le modèle de Fang (**Fang, 2007**) un excès de calcium va permettre une association latérale intra-chaîne des dimères formés selon le modèle egg-box. Macroscopiquement, cet excès de calcium donnera au film sec d'alginate de calcium un aspect plus fibreux.

### III.3.6 Les différentes étapes de formation du film d'alginate de calcium

Sur la base des différentes expériences que nous avons menées, nous pouvons proposer un mécanisme de formation du film dont les étapes sont représentées sur la Figure 67.

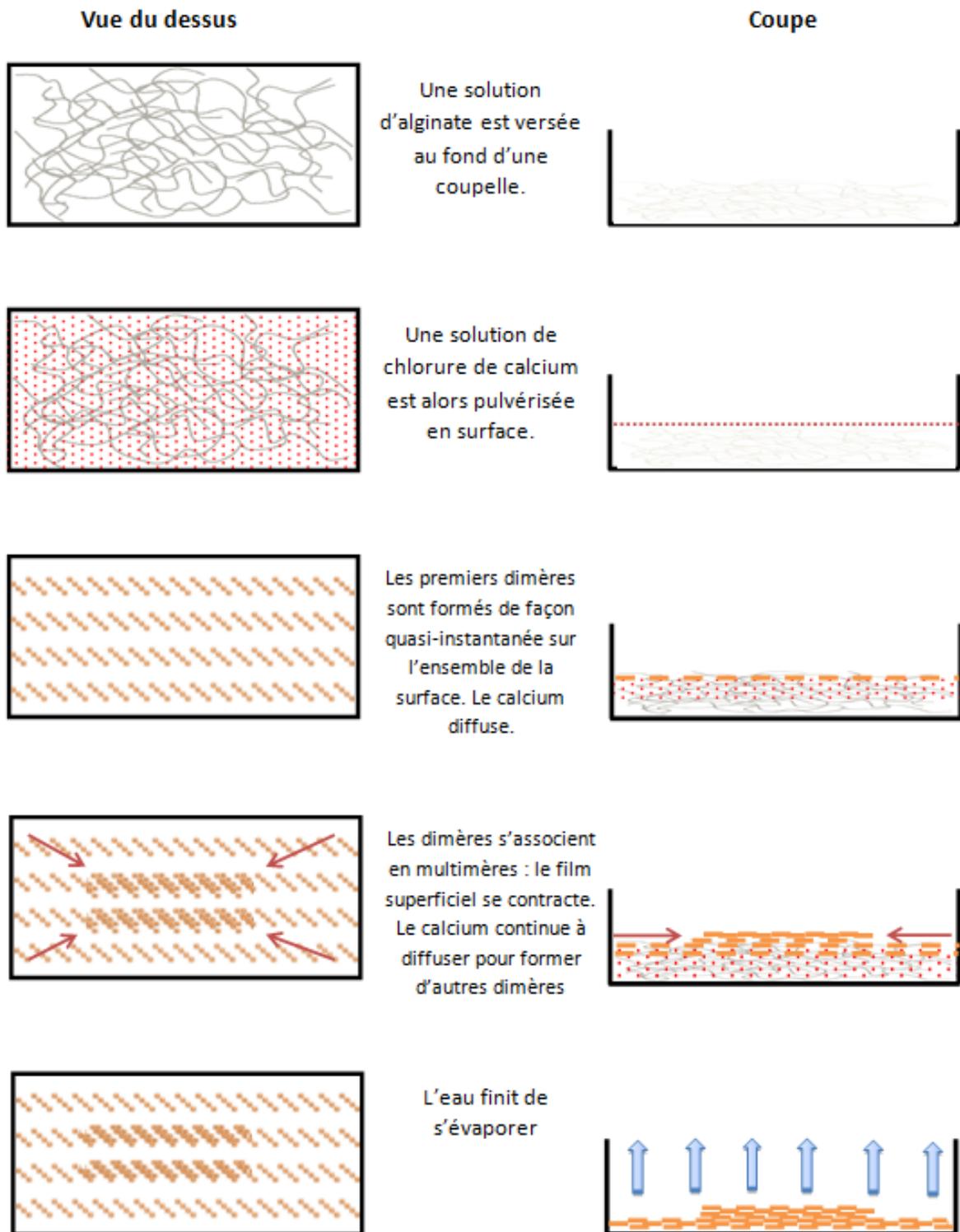
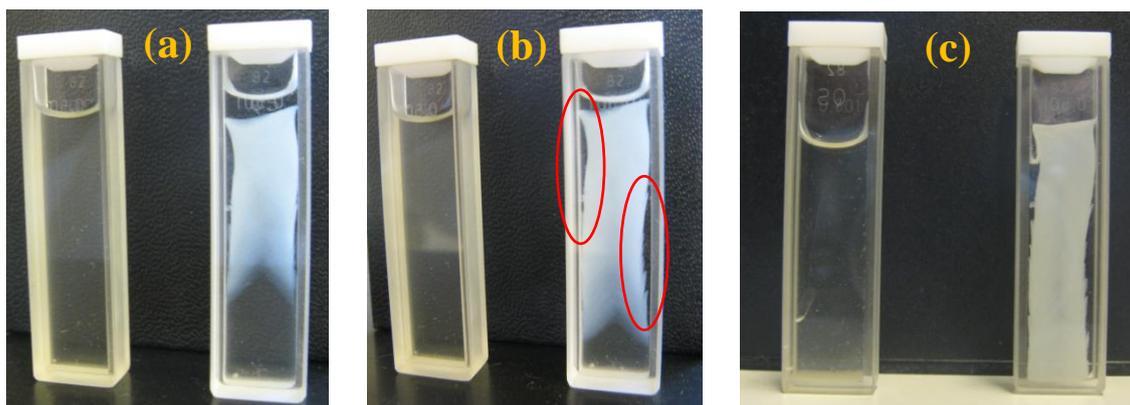


Figure 67 : Etapes de formation d'un film d'alginate de calcium

La croissance des zones de jonction due à l'accumulation des multimères va contribuer au phénomène de synérèse au sein du gel. La synérèse est un phénomène macroscopique caractérisé par une lente désorption de l'eau d'un gel au cours du temps. Dans le cas des hydrogels d'alginate de calcium, la synérèse dépend fortement de la concentration en ions calcium utilisée. A des temps plus longs (quelques heures) et dans une atmosphère saturée en eau qui permet d'empêcher l'évaporation, l'hydrogel d'alginate de calcium va se contracter et expulser une partie de son eau. Ce phénomène est illustré en Figure 68 :



**Figure 68 : Mise en évidence du phénomène de synérèse**

**(alginate à gauche et {alginate + calcium} à droite)**

**(a) T=3 heures, (b) T=7 heures, (c) T=24 heures**

Pour obtenir les images de la figure 68, il a fallu travailler avec une forte concentration de calcium (300 g/L). Ce phénomène ne s'est jamais produit dans le volume lors de travaux effectués avec les concentrations de travail habituelles (alginate à 30 g/L et calcium à 50 g/L).

### III.3.7 Compétition entre évaporation et diffusion

Le cas pratique utilisé lors des calculs de stœchiométrie (chapitre III – paragraphe 3.5.) est ici repris pour illustrer la compétition entre la diffusion du calcium dans la solution d'alginate et l'évaporation de celle-ci:

10,039g de solution d'alginate (2,91% massique – alg30g/L + Ca) sont versés dans une coupelle à fond plat (de 5,2 cm de diamètre soit un grammage de 4730 g/m<sup>2</sup>). Une solution de chlorure de calcium (4,76% massique) en excès est pulvérisée en surface de la solution pendant 10 secondes (quantité déposée de 15 g/m<sup>2</sup>).

Masse volumique de la solution d'alginate	Volume de solution versé	Surface	Épaisseur du film liquide
1,05 g/mL	9,56 mL	21,24 cm <sup>2</sup>	4,5 mm

Afin que le calcium soit présent dans l'intégralité de la solution d'alginate et donc dans toute l'épaisseur du film, il est nécessaire qu'il puisse diffuser sur toute l'épaisseur du film liquide, c'est-à-dire 4,5 mm. Or, la relation liant le temps de diffusion à la distance (en utilisant les mêmes concentrations) est donnée par:

$$x^2 = D_{app} * t$$

Avec :

- $D_{app} = 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$
- $x = 0,45 \text{ cm}$

Le temps de diffusion est donc égal à 202 secondes soit 3min et 22 secondes. Il est alors possible de confronter ce résultat à la courbe de perte de masse de cette solution (Figure 69).

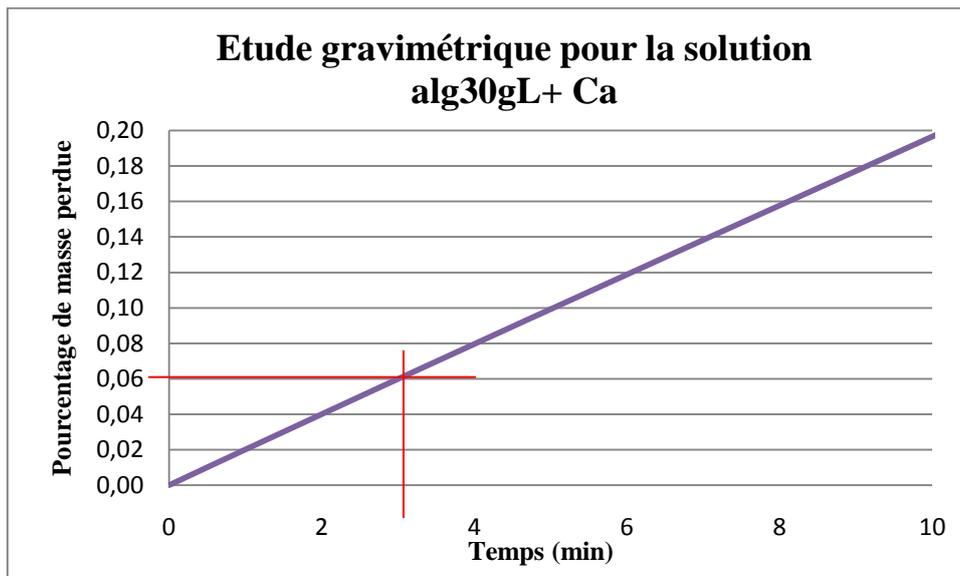


Figure 69 : Détail de l'étude gravimétrique pour la solution alg30gL + Ca

Dans ce cas précis, à  $t=202\text{s}$ , la solution a perdu seulement 0,06% de sa masse par évaporation. La cinétique de diffusion est plus rapide que la cinétique d'évaporation. Le calcium a donc le temps de diffuser de façon homogène au sein du film liquide avant que celui-ci ne soit complètement sec, même pour des épaisseurs de film très fines.

En considérant que la fine pellicule de calcium pulvérisée constitue un réservoir infini de calcium à la concentration de travail (le calcium est en excès par rapport au nombre de diades GG), il est possible de calculer le grammage critique de solution d'alginate –s'il existe- c'est-à-dire la quantité de solution d'alginate par unité de surface pour laquelle le temps de diffusion est plus grand que le temps d'évaporation.

Le temps de diffusion  $t_1$  dans une solution d'alginate d'épaisseur  $h$  est donnée par la relation:

$$h^2 = D_{app} * t$$

$$\text{d'où : } t_1 = \frac{h^2}{D_{app}}$$

Le temps d'évaporation  $t_2$  en fonction du coefficient de perte de masse  $W_L$  est donné par la relation :

$$W_L = \frac{m}{S * t_2}$$

$$\text{d'où : } t_2 = \frac{m}{W_L * S}$$

De plus :

$$h = \frac{V}{S} = \frac{m}{\rho * S}$$

Avec :

$D_{app}$  le coefficient de diffusion apparent du calcium dans l'alginate :  $10^{-7}$  m<sup>2</sup>/s

$W_L$  le coefficient de perte de masse : 0,86 g/(m<sup>2</sup>.min)

$V$  le volume d'alginate versé

$S$  la surface de contact entre la solution d'alginate et la solution de calcium pulvérisée

$m$  la masse de solution d'alginate

$\rho$  la masse volumique de la solution d'alginate

D'où, en égalant les temps  $t_1$  et  $t_2$  :

$$\frac{h^2}{D_{app}} = \frac{m}{W_L * S}$$

Ce qui donne l'expression du grammage critique en fonction de paramètres connus :

$$\left(\frac{m}{S}\right)_c = \frac{\rho^2 * D_{app}}{W_L} = 7,7.10^6 \text{ g/m}^2$$

En pratique ce grammage critique n'est pas réaliste et la diffusion aura toujours lieu avant l'évaporation de l'eau de la solution d'alginate. Les grammages utilisés en pratique (de l'ordre du kg de solution d'alginate par mètre carré) dépendent du mode opératoire choisi pour appliquer la solution d'alginate sur la surface souillée. Ils seront détaillés dans le paragraphe IV.2.1.

### **III.4 Caractérisation des films d'alginate de calcium**

#### **III.4.1 Caractérisation par Spectrométrie Photoélectronique X**

##### *III.4.1.1 Principe*

La spectroscopie de photoélectrons induits par rayons X (XPS pour X-Ray Photoelectron Microscopy) repose sur la mesure de la distribution en énergie des électrons émis par une surface bombardée par un faisceau de rayons X d'énergie de l'ordre du keV. Cette technique permet d'obtenir la composition chimique (excepté l'hydrogène) d'une surface d'un matériau. Elle est également utilisée pour obtenir des informations sur la structure chimique des couches de surface. Des modifications dans l'environnement chimique de l'atome émetteur produisent des déplacements en énergie de la position des pics, appelés déplacements chimiques.

L'objectif est de pouvoir observer en un point de la surface la composition du film d'alginate ayant subi une pulvérisation de calcium. A l'aide d'un décapage ionique, il est aussi possible d'effectuer des mesures sur les 300 premiers nanomètres d'épaisseur du matériau afin d'en déduire un profil de concentration des éléments sur cette épaisseur.

Lorsqu'un matériau est soumis à un rayonnement de forte énergie, comme par exemple un faisceau d'électrons suffisamment accélérés, les atomes de ce matériau peuvent subir une ionisation, c'est-à-dire qu'un ou plusieurs électrons peuvent être éjectés des couches électroniques. Dans le cas de l'XPS, c'est une irradiation par rayons X qui provoque l'ionisation des atomes (Figure 70). L'énergie cinétique  $E_c$  de ces photoélectrons est alors mesurée, ce qui permet d'obtenir le spectre de l'intensité des électrons en fonction de l'énergie mesurée.

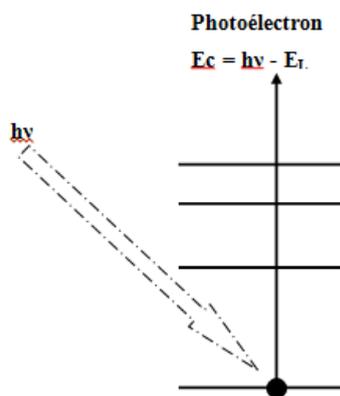


Figure 70 : Principe de la photoémission

Le faisceau étant monochromatique, chaque photon X incident possède la même énergie  $E=h\nu$ . Une partie de cette énergie, l'énergie de liaison  $E_L$  caractéristique du matériau étudié, est utilisée pour rompre la liaison. L'énergie restante est transférée à l'électron sous forme d'énergie cinétique  $E_C$ . Chaque pic du spectre en énergie cinétique permet donc de déterminer l'énergie de liaison grâce à la relation d'Einstein :

$E_L = h \cdot \nu - E_C$	$E_L$ = Énergie de liaison [J] $E_C$ = Énergie cinétique électronique [J] $h$ = Constante de Planck [J s] ( $\sim 6,626 \times 10^{-34}$ ) $\nu$ = Fréquence de radiation [s <sup>-1</sup> ]
---------------------------	---

Il est alors possible d'effectuer des analyses élémentaires qualitatives et semi-quantitatives (proportion d'un atome par rapport à l'autre en se basant sur les intensités relatives des éléments). La composition chimique de la surface du matériau est donnée sur une profondeur de 10 nm.

### III.4.1.2 Matériel et conditions opératoires

Les analyses XPS ont été effectuées par C. Labrugère au sein de l'Institut de Chimie de Matière Condensée de Bordeaux (ICMCB), dans les locaux du Centre de Caractérisation des Matériaux Avancés (CeCaMA). Le spectroscope des photo-électrons par rayons X utilisé est le VG ESCALAB 220i XL. La source utilisée est le Mg  $K_\alpha$  non monochromatisée (1253,6 eV, 35 et 100W). La zone observée et analysée a un diamètre de 150  $\mu\text{m}$ . Une compensation de charge d'électrons de faible énergie (Flood Gun) est utilisée. Les spectres généraux (surveys) sont analysés avec une énergie de passage  $E_p$  de 150 eV alors que les spectres haute

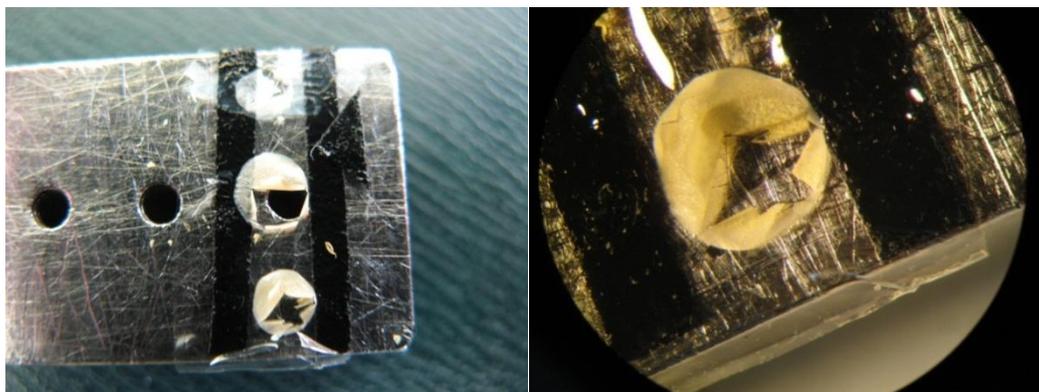
résolution sont effectués avec une énergie de passage de 40eV. Les quantifications sont réalisées avec les facteurs de sensibilité de type Scofield. Les incertitudes relatives sur les mesures varient de 5 à 10%.

La mise en œuvre de la spectroscopie XPS nécessite de travailler sous ultra-vide (pression de l'ordre de  $10^{-8}$  à  $10^{-9}$  mbar) pour permettre le fonctionnement de la source X et de l'analyseur mais également pour limiter l'adsorption de molécules polluantes ( $H_2O$ ,  $CO_2$ ,  $O_2$ ,...) sur la surface à analyser.

Une solution de chlorure de calcium (4,76% massique,  $15g/m^2$ ) est pulvérisée sur une solution d'alginate (2,91% massique,  $3000 kg/m^2$ ). Le film est laissé à évaporer à température ambiante plusieurs jours puis analysé.

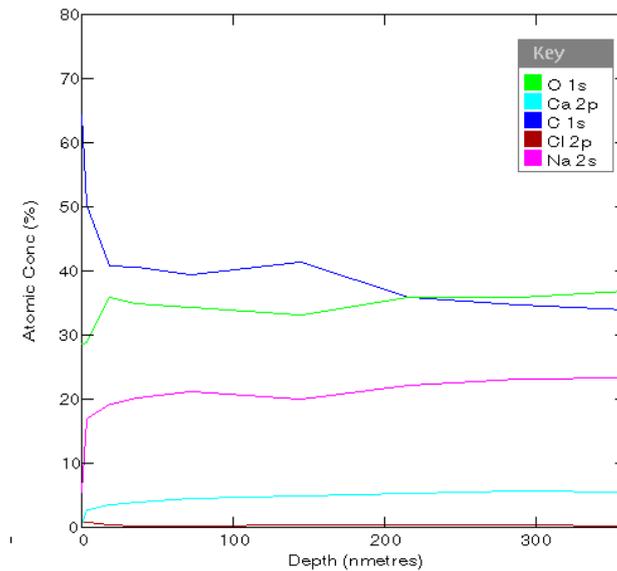
### *III.4.1.3 Résultats*

Il est essentiel de correctement choisir la puissance de la source des rayons X. Une première expérience (puissance 100W avec une source RX Mg) a montré que le film testé est très sensible à la puissance du faisceau auquel il est soumis et qu'il peut être dégradé (Figure 71).



**Figure 71 : Dégradation de l'échantillon avec un faisceau RX haute énergie (100W)**

Lors d'une seconde expérience, la puissance du faisceau de rayons X a été abaissée pour atteindre une valeur plus faible, à 35W. Le film n'est plus dégradé et il est possible de déterminer les compositions atomiques à la surface et dans les 300 premiers nanomètres du film (Figure 72).



**Figure 72 : Profil des concentrations atomiques sur les 300 premiers nanomètres**

Ces résultats indiquent que les concentrations atomiques varient très peu dans les 300 premiers nanomètres de l'épaisseur du film (ces variations restent dans la marge d'erreur de la mesure). Il y a cependant de fortes disparités en extrême surface (30 premiers nanomètres) pouvant avoir plusieurs origines :

- Il peut y avoir des reprises de pollution ou des oxydations préférentielles
- L'analyse étant semi-quantitative en XPS, il est possible que des erreurs de correction existent

Une autre méthode d'analyse électronique, la microsonde X, permettra l'observation de la composition du film sur la totalité de son épaisseur et non plus seulement en surface.

## III.4.2 Microsonde X

### III.4.2.1 Principe de fonctionnement

Après excitation par un faisceau d'électrons de haute énergie et éjection d'un ou plusieurs photoélectrons, l'atome se retrouve dans un état excité très peu stable. Afin de diminuer cette instabilité, il se produit une désexcitation par le biais d'une transition électronique au cours de laquelle un électron d'un niveau plus élevée vient occuper la case quantique laissée vacante par le photoélectron (Figure 73). Cette transition électronique, caractéristique de l'élément étudié, provoque l'émission d'un photon X dont l'énergie peut être quantifiée par microsonde

X. Le spectre d'énergie caractéristique ainsi obtenue permet d'établir la composition de l'échantillon.

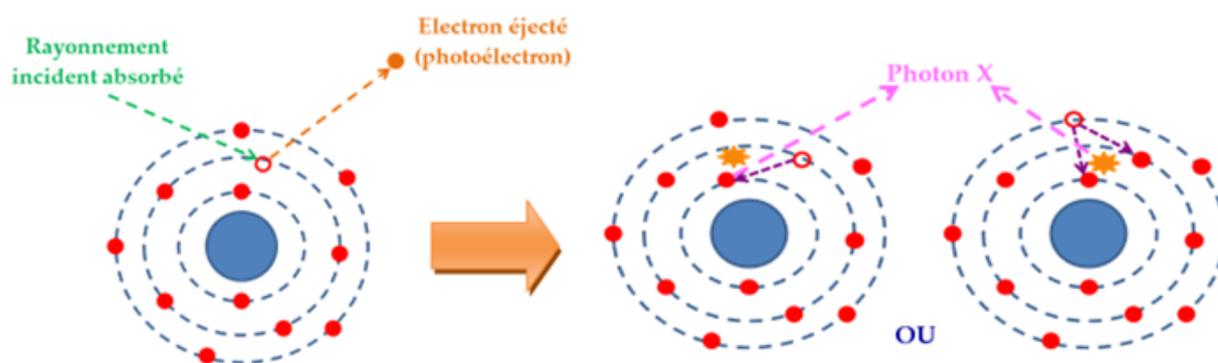


Figure 73 : Schéma du principe de la fluorescence X

### III.4.2.2 Matériel et conditions opératoires

La Microsonde à Spectrométrie de Rayons X est encore appelée Microsonde X (Figure 74) ou Microsonde de Castaing (EPMA – Electron Probe Micro Analyzer). Cette technique est moins énergétique que la spectrométrie Auger (AES) et permet donc d'éviter la dégradation du polymère.

Les analyses de microsonde ont été effectuées par P. Lahaye au sein de l'Institut de Chimie de Matière Condensée de Bordeaux (ICMCB), dans les locaux du Centre de Caractérisation des Matériaux Avancés (CeCaMA). Une fois l'échantillon inséré dans le porte-échantillon, celui-ci est placé dans un compartiment où est effectué un vide primaire. Il est ensuite poussé dans la chambre d'analyse où réside un vide secondaire obtenu à l'aide d'une pompe à diffusion d'huile ( $10^{-5}/10^{-6}$  bars). Le canon à électrons est lui aussi maintenu sous vide à l'aide d'une pompe ionique. Ce vide étant plus poussé, il existe un vide différentiel entre le canon et la chambre d'analyse.

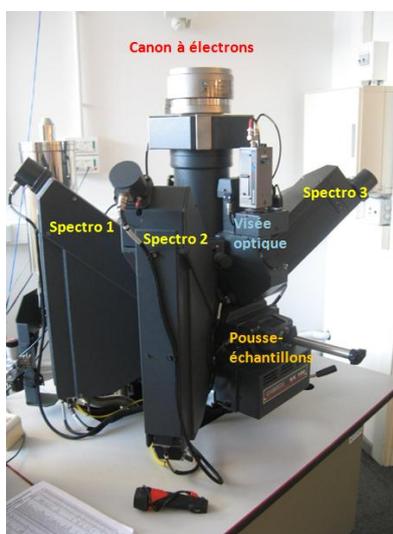
La microsonde (Cameca SX 100) est munie de trois spectromètres WDS (Wavelength Dispersive Spectroscopy) ainsi que d'un détecteur EDS (Energy Dispersive Detector) afin d'effectuer des quantifications atomiques selon deux modes différents:

- Mode trace : chaque spectromètre WDS possède 2 ou 4 monochromateurs à différentes longueurs d'onde. Il est donc possible de suivre l'évolution quantitative de 3 éléments simultanément (à l'exception de l'hydrogène, du lithium et du béryllium qui ne possèdent pas assez d'énergie pour permettre une transition électronique). Une

assistance optique est nécessaire afin de correctement les focaliser. Les spectromètres sont placés à l'extérieur de l'enceinte sous vide, derrière des vitres transparentes aux rayons X. Le mode trace permet une analyse quantitative plus précise. Le faisceau reste longtemps sur chaque point d'analyse (1 point : 10s. 30s pour le bruit de fond). Il existe un risque de dégradation de l'échantillon.

- ❑ Mode cartographie : le détecteur EDS possède une moins bonne résolution mais permet de travailler à plusieurs longueurs d'onde simultanément. Le détecteur utilisé (Silicon Drift Detector) permet d'effectuer un grand nombre de mesures et n'exige qu'un refroidissement à  $-25^{\circ}\text{C}$  (Peltier). Le faisceau reste moins longtemps sur chaque point d'analyse, il y a donc moins de chance de dégrader l'échantillon. (Résolution :  $256 \times 256$  pixels :  $10 \mu\text{s}$  par pixel). Une moyenne des valeurs peut être effectuée sur l'ensemble de la cartographie, ce qui permet d'améliorer la statistique de comptage.

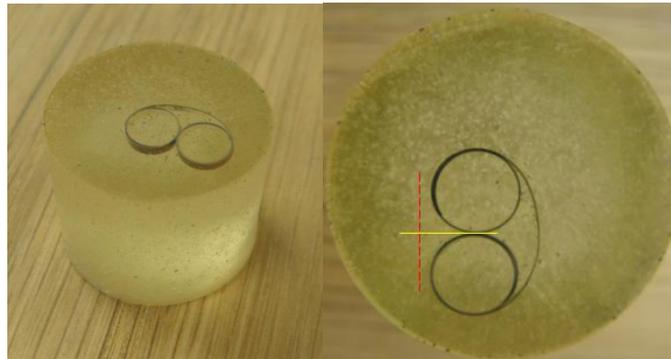
La raie  $K\alpha$  des éléments C, O, Na, Ca et Cl est utilisée pour effectuer les détections. C'est la raie la plus adaptée dans la gamme d'énergie choisie. La résolution du mode cartographie est inférieure à la résolution du mode trace (la diffusion des électrons est plus importante en mode cartographie). La résolution spatiale est de l'ordre du micron.



**Figure 74 : Microsonde à spectrométrie de rayons X  
(l'EDS est situé derrière l'appareil)**

Afin d'étudier la composition du film d'alginate sur toute son épaisseur et de vérifier que la répartition atomique du calcium en son sein est homogène, il est nécessaire de déterminer la composition atomique d'une coupe du film (Figure 75). L'échantillon est préparé, après obtention d'un film sec d'alginate de calcium, en respectant le protocole suivant :

- ❑ Le film est placé entre les deux cylindres d'un ressort de maintien
- ❑ L'ensemble est placé dans un moule dans lequel est coulée de la résine époxyde
- ❑ La résine est démoulée et le cylindre découpé au niveau du ressort afin que la coupe du film soit au ras de la surface
- ❑ La surface est alors polie (poli optique)



**Figure 75 : Echantillon emprisonné sous résine pour analyse**

Les électrons bombardent la coupe du film (en jaune) selon un parcours perpendiculaire (en pointillés rouges), en différents points de l'épaisseur du film (figure de gauche).

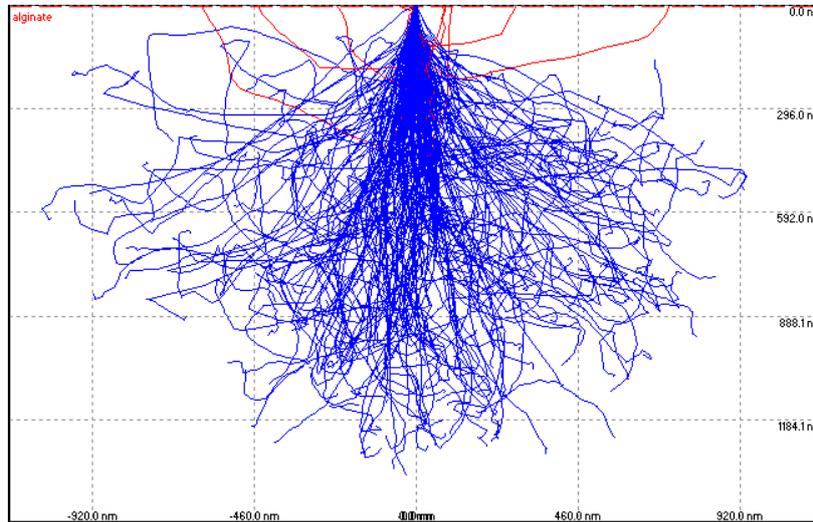
Il est nécessaire de recouvrir la surface polie d'une fine pellicule de métal conducteur afin :

- ❑ d'évacuer les électrons absorbés vers la masse
- ❑ de limiter l'échauffement du film et empêcher sa dégradation sous l'effet du faisceau

L'échantillon est donc passé au plasma d'or pour y subir un dépôt en phase vapeur (PVD Physical Vapor Deposition). Le film recouvert étant très fragile, il est nécessaire de déposer une épaisseur d'environ 2,5nm au lieu de 1,5nm d'or usuellement. Cependant, il faut prendre garde à ne pas déposer une épaisseur trop importante qui risquerait d'absorber les rayons X émis par l'échantillon et qui provoquerait une perte d'information du point de vue quantitatif. Compte-tenu de la fragilité de l'échantillon, une tension faible (7 keV) et un courant faible (5 nA) sont utilisés.

### III.4.2.3 Simulation de la trajectoire des électrons

A l'aide du logiciel CASINO (monte Carlo Simulation of electron trajectory in sOlids), il est possible de modéliser de façon statistique la trajectoire ainsi que la profondeur de pénétration des électrons dans le film d'alginate. La simulation est reproduite en Figure 76.



**Figure 76 : Simulation de Monte-Carlo du parcours des électrons dans l'alginate  
(C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>, 7 KeV)**

Les tracés bleus représentent le parcours statistique des électrons absorbés et les tracés rouges représentent le parcours statistique des électrons rétrodiffusés. Cette simulation permet de montrer que les conditions opératoires utilisées pour analyser l'alginate permettent d'en déterminer la composition avec une résolution en profondeur de l'ordre du micron.

### III.4.2.4 Composition atomique d'un film d'alginate de calcium

La composition atomique d'un film d'alginate de calcium a été déterminée *via* microsonde X (Figure 77). L'échantillon testé correspond à une solution d'alginate (1,96% massique) sur laquelle a été pulvérisée une solution de chlorure de calcium. Afin de faciliter l'observation du calcium dans le film et valider la pertinence de cette technique d'analyse, une solution fortement concentrée (30% massique) a été utilisée. Cette concentration n'est absolument pas représentative des concentrations qui seront utilisées lors de la mise en œuvre du procédé de détergence. L'échantillon subit une évaporation à température ambiante afin d'obtenir un film sec.

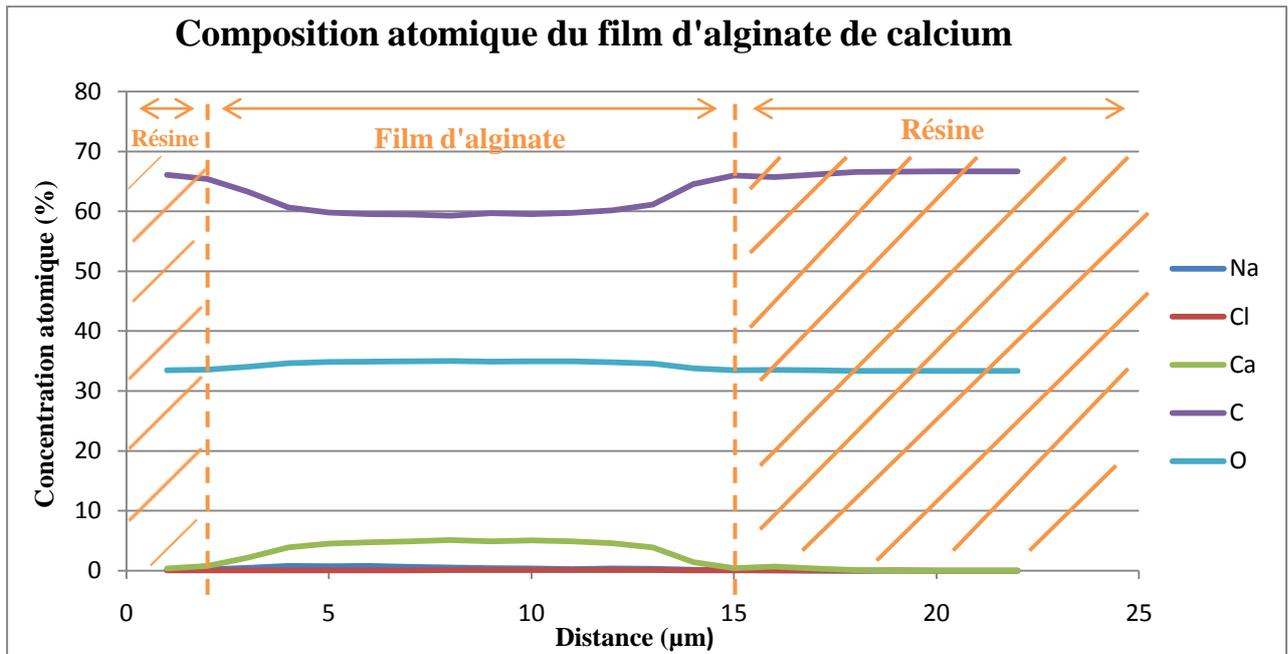


Figure 77 : Spectres de microsonde X (WDS) d'un film d'alginate de calcium

Ces résultats apportent des informations sur la composition du film d'une part mais aussi sur ses dimensions. En effet, les compositions atomiques en carbone et en oxygène indiquent qu'il existe une zone de composition différente dont l'épaisseur est d'environ 12 µm : il s'agit du film d'alginate de calcium. En dehors de cette zone, c'est la composition atomique de la résine permettant le maintien du film qui est analysée. Un agrandissement de la zone correspondant au film, aux alentours des éléments de faible concentration (Figure 78), donne des informations sur la composition en calcium.

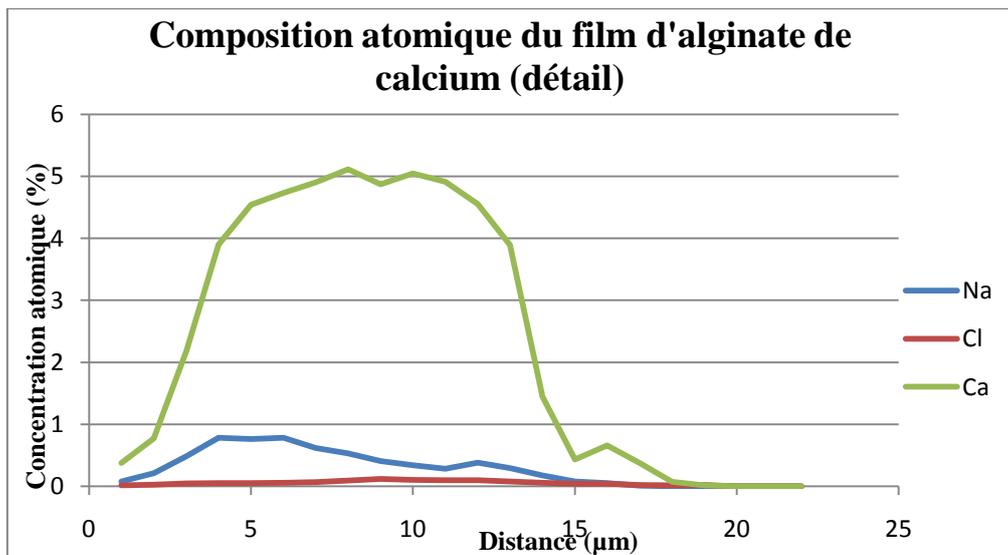


Figure 78 : Détail des spectres de microsonde X (WDS) d'un film d'alginate de calcium

Le calcium puis les ions chlorure ont été mesurés en deux passages, avec le même spectromètre. En toute logique, la quantité d'ions chlorure devrait être le double de celle des ions calcium. Cependant, il est possible que le film ait été dégradé lors du deuxième passage et que la concentration en ions chlorure soit difficilement lisible.

Compte-tenu de la faible épaisseur du film et de la forte concentration en calcium utilisée, il est difficile d'observer un gradient de concentration de calcium dans le film d'alginate alors que le procédé de préparation est hétérogène (pulvérisation du calcium sur une seule face). Les pentes de variation de concentration aux bords du film sont très fortes. Le film est saturé en calcium sur toute son épaisseur.

Un essai complémentaire est réalisé à l'aide d'une solution de calcium moins concentrée (4,76% massique) sur une plus grande quantité d'alginate, afin d'obtenir un film plus épais et pouvoir éventuellement observer un gradient de concentration en calcium (Figure 79).

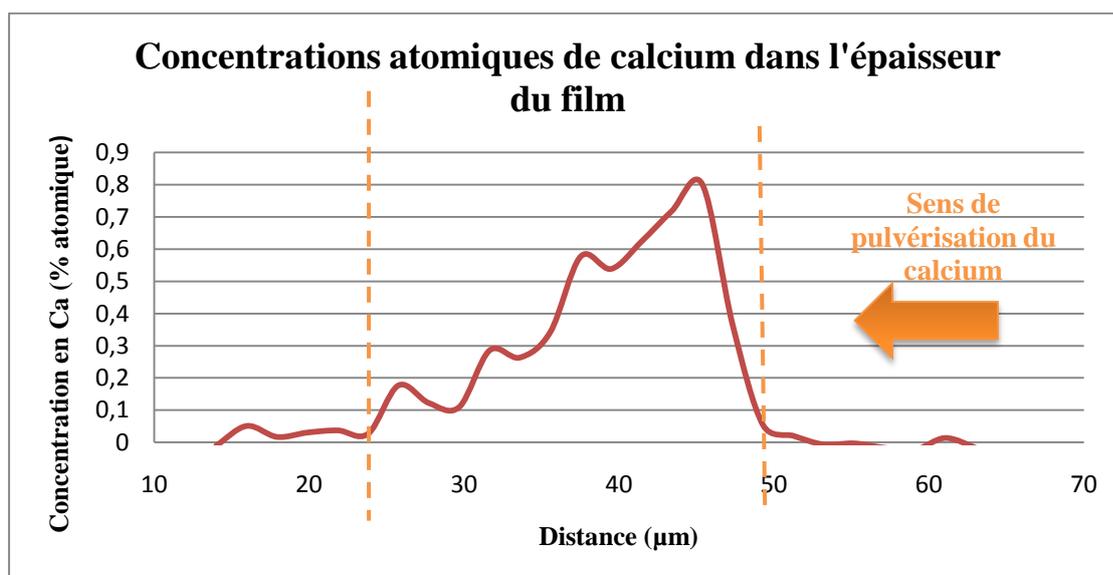


Figure 79 : Concentration atomique en calcium dans le film (WDS)

L'épaisseur du film est ici de 26µm. Dans ces conditions, il est possible d'observer un gradient de concentration en calcium dans l'épaisseur du film. Cela est dû au procédé de préparation choisi : la pulvérisation d'une solution de calcium est un procédé hétérogène (le calcium n'est pas apporté dans le volume de l'alginate mais uniquement à sa surface). On constate que le calcium a bien diffusé dans l'ensemble de l'échantillon mais qu'il est plus concentré dans la zone ayant directement subi la pulvérisation.

Sans aller jusqu'à une dégradation, il est possible que le faisceau d'électrons ait une influence sur le matériau analysé, surtout dans le cas de matériaux organiques plus sensibles. En effet, la lecture des concentrations atomiques peut être faussée par la migration de certains éléments sous l'effet du balayage du faisceau d'électrons. Il est donc nécessaire de vérifier que ces gradients de concentration sont dus à des effets de concentration et non à une perturbation du faisceau électronique. Une façon simple de le vérifier consiste à tracer deux fois la courbe de composition avec des sens de balayage de faisceau opposés (Figure 80).

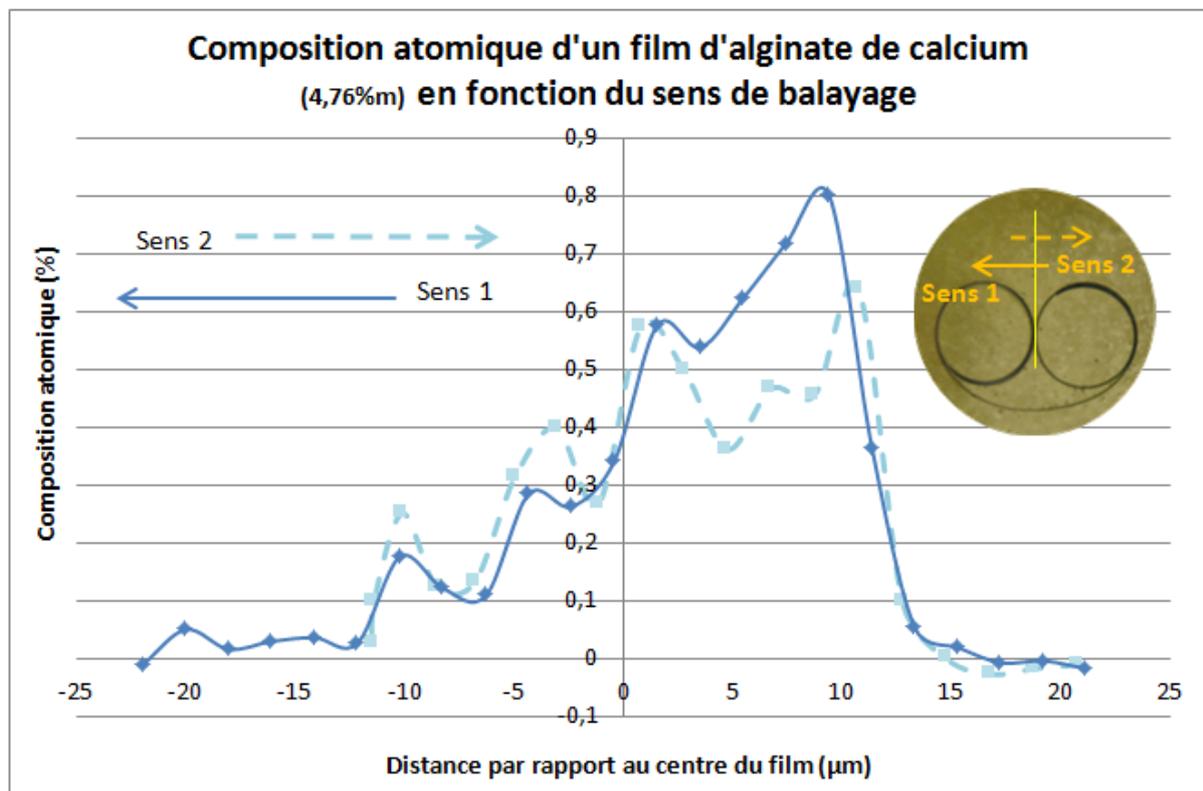


Figure 80 : Composition atomique du film en fonction du sens de balayage (WDS)

Afin de ne pas dégrader le film, les balayages aller et retour sont effectués sur deux sections différentes (très proches) du film. Ces résultats démontrent que quel que soit le sens de balayage, les courbes de quantification sont similaires et qu'il n'y a pas d'artefact de mesure observable. Cependant, ces courbes ne sont pas absolument identiques, ce qui signifie qu'il existe des disparités locales de concentration en calcium dans le film. Pour connaître l'ampleur de ce phénomène, il est possible d'effectuer des cartographies de la coupe du film.

En conclusion, il existe deux profils de répartition du calcium dans le film en fonction de la concentration en calcium. Pour de très fortes concentrations en calcium, il n'y a pas de gradient de concentration en calcium dans le film. De très fortes variations sont cependant observées aux bords du film. Pour des concentrations en calcium plus faibles (concentrations de travail), un gradient de concentration en calcium est observable (Figure 81).

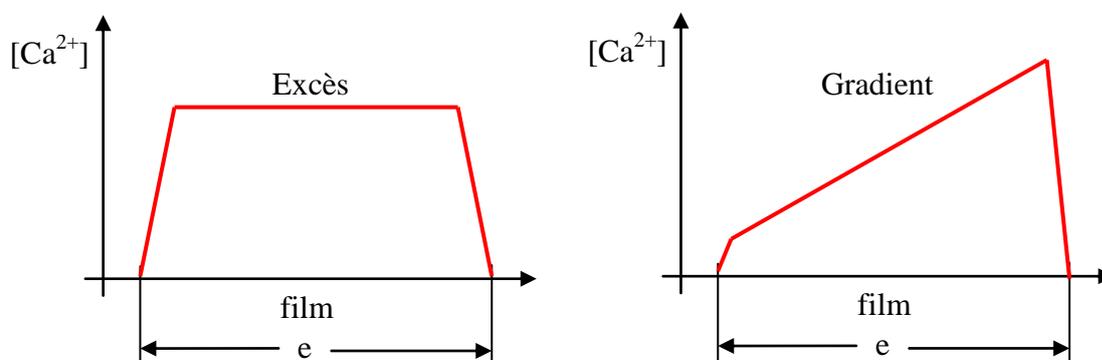


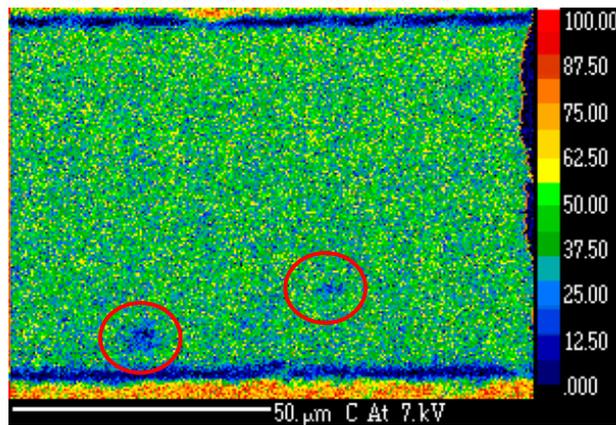
Figure 81 : Schémas de la répartition du calcium dans le film

#### III.4.2.5 Cartographie de la coupe du film

Afin de bien percevoir les différences de concentrations au sein du film, les cartographies de composition atomique sont effectuées sur des échantillons plus épais. L'analyse est effectuée avec l'EDS, aligné dans l'axe de la coupe du film afin d'éviter les phénomènes d'ombrage aux bords de l'échantillon. En effet, il existe un retrait important après polissage de l'échantillon.

Le film étudié est obtenu à partir d'une solution d'alginate à 2,91% massique dans l'eau et d'une solution de  $\text{CaCl}_2$  à 4,76% massique dans l'eau. La solution d'alginate (10g) est versée dans une coupelle de 52 mm de diamètre ( $4700 \text{ g/m}^2$ ). Un excès de solution de  $\text{CaCl}_2$  est ensuite pulvérisée ( $15 \text{ g/m}^2$ ) sur la solution d'alginate. Après évaporation, un échantillon est préparé pour la microsonde.

Chaque cartographie présentée ci-dessous définit la présence d'un seul élément à la fois. Les concentrations atomiques sont codées selon une échelle de couleur. Les couleurs froides correspondent à de faibles concentrations alors que les couleurs chaudes correspondent à de fortes concentrations de l'élément considéré. A titre d'exemple, la représentation cartographique de la composition en carbone est reportée en Figure 82. Le calcium a été pulvérisé sur la face supérieure (liseré bleuté en haut de l'image).

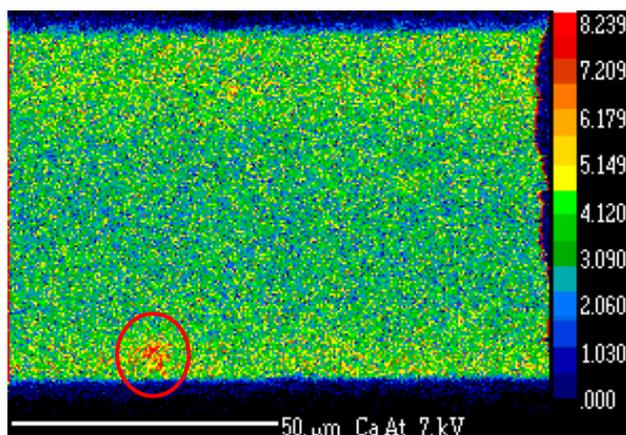


**Figure 82 : Pourcentage atomique du carbone  
(pourcentage atomique)**

La composition atomique en carbone donne plusieurs informations sur les propriétés de l'échantillon :

- Les zones fortement concentrées (en rouge et orange) représentent l'extérieur du film en contact avec la résine époxyde de maintien de l'échantillon.
- Les zones faiblement concentrées (en bleu et noir) représentent des absences de matière. Sur les bords du film, l'absence de matière peut être due soit à un retrait du film de quelques microns dans la résine, soit à un phénomène d'ombrage. L'absence de matière au sein du film (zones entourées en rouge) indique que l'échantillon n'est pas complètement homogène, probablement en raison de la présence de fines bulles d'air piégées dans le gel au cours du séchage.
- La zone moyennement concentrée (en vert) représente le film dont la composition est étudiée. La composition en carbone est homogène sur l'ensemble du film, dont l'épaisseur est égale à 65 μm.

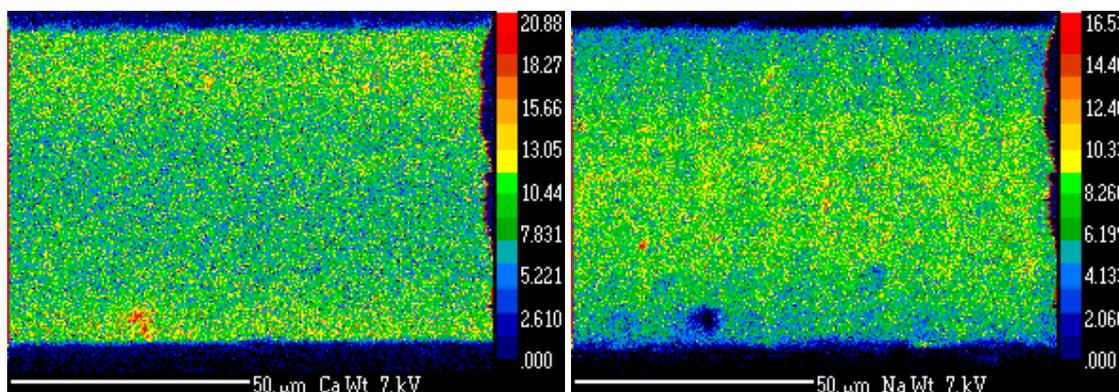
La représentation en quantification atomique du calcium est la suivante (Figure 83) :



**Figure 83 : Pourcentage atomique du calcium**  
(pourcentage atomique)

Ces résultats indiquent qu'il existe bien un gradient de concentration en calcium dans le film sec. Près de la face supérieure (zone ayant subi la pulvérisation) il existe une zone plus concentrée en calcium. En-deçà de cette zone (à partir de 15  $\mu\text{m}$  de profondeur), il existe une zone moins concentrée où le calcium est présent de façon homogène. Enfin, dans les 5 derniers microns, il existe une légère accumulation de calcium à la face inférieure du film. Cette zone n'avait pas été détectée lors des analyses microsonde WDS en balayage. Nous ne sommes pas sûrs de l'origine de cette accumulation. Il peut s'agir d'un artefact dû à la mesure comme d'un phénomène de ruissellement de la solution de chlorure de calcium sur les côtés puis sous le film lors de sa création.

La zone rouge vif (entourée en rouge sur l'image) ne représente pas une zone plus concentrée en calcium mais correspond à un manque de matière (bulle d'air) mal interprété par le logiciel de traitement. Les quantifications des ions calcium et sodium sont comparées en Figure 84:



**Figure 84 : Pourcentages massiques du calcium et du sodium**

Les images de quantification du calcium et du sodium sont le négatif l'une de l'autre. En effet, contrairement au calcium, le sodium est plus concentré au cœur du film et est quasiment absent aux bords de l'échantillon. Ce résultat indique que, conformément à la théorie de la formation des hydrogels alginate de calcium, les ions calcium chassent les ions sodium pour prendre leur place le long de la chaîne alginate.

### III.4.3 Morphologie des brins d'alginate au contact avec le calcium

#### *III.4.3.1 Visualisation par microscopie à force atomique*

Une solution d'alginate à la concentration de travail ( $10^{-6}$ M, soit 106 mg/L) est préparée et déposée sur deux pastilles de mica selon le protocole suivant :

- ❑ 50 $\mu$ L de solution sont déposés à la pipette sur les pastilles de mica
- ❑ Un temps d'attente de 5 secondes est respecté afin qu'il y ait une adsorption suffisante des chaînes d'alginate sur la surface
- ❑ Les pastilles sont alors débarrassées de cette solution à l'aide du spin-coating (3000 trs/min pendant 2 min)
- ❑ La première pastille est finalement laissée au séchage (24H) alors qu'une solution de chlorure de calcium (4,7% massique) est déposée sur la deuxième pendant 5 minutes
- ❑ La deuxième pastille est ensuite doucement rincée à l'eau distillée pour enlever le calcium résiduel puis laissée à sécher pendant au moins 24 heures

Les représentations AFM de phase de ces échantillons (Figure 85) montrent les changements de structure des chaînes alginates lorsqu'elles sont mises en contact avec le calcium:

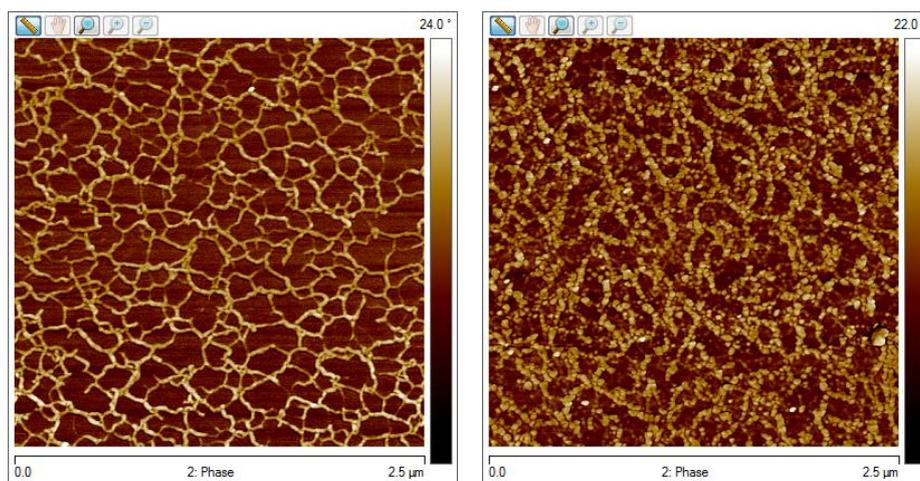


Figure 85 : Images AFM de phase d'une solution d'alginate ( $10^{-6}\text{M}$ ) avant (à gauche) et après (à droite) traitement au calcium

Dans le cas de l'alginate seul, le réseau est constitué de brins d'alginate disposés selon des motifs ramifiés interconnectés. Dans le cas de l'alginate de calcium, cette structure de réseau continu est toujours présente mais l'alginate de calcium apparaît cette fois sous la forme de billes percolées. Comme le montre la Figure 86, l'épaisseur du réseau n'est alors plus la même.

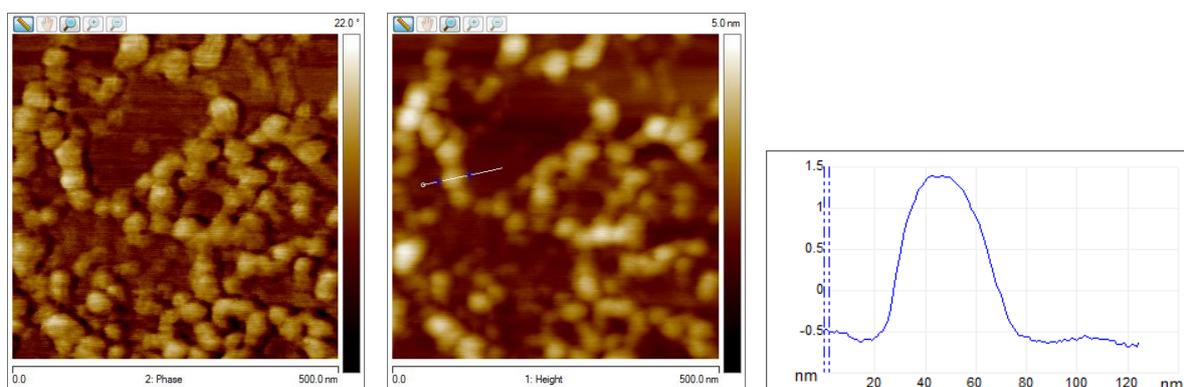
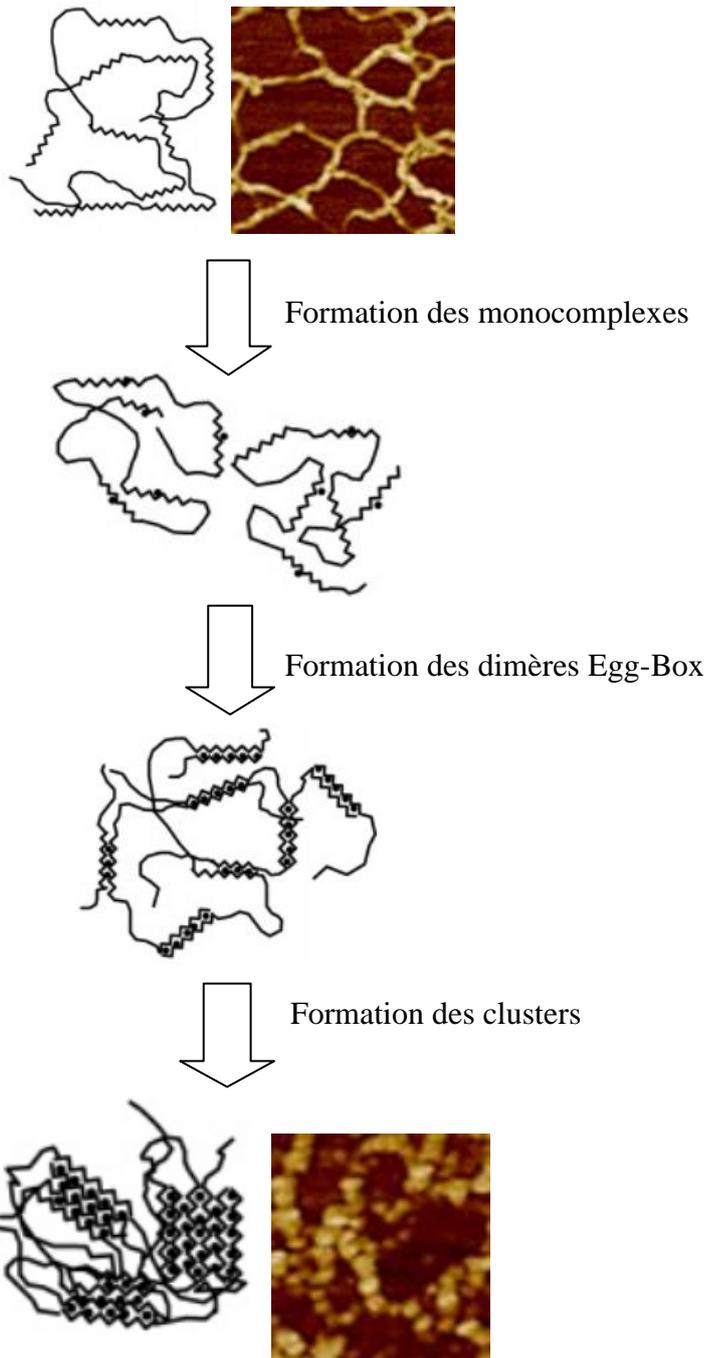


Figure 86 : Analyse de section d'une bille du réseau d'alginate de calcium

Les mesures indiquent que les billes sont très aplaties avec un diamètre de 40 à 45 nm pour une épaisseur de 2 nm. Cette épaisseur est supérieure à celle des brins d'alginate seuls (0,8 nm comme indiqué dans la section III.2.3.5 – Taille des brins d'alginate). Ces résultats sont en accord avec le modèle établi par Fang et al. (Fang, 2007) pour décrire la formation de multimères résultant de l'association latérale des dimères d'alginate de calcium (Figure 87).



**Figure 87 : Association latérale des dimères d'alginate de calcium menant à la formation de clusters (Fang, 2007)**

Ces billes percolées pourraient donc tout à fait correspondre à des amas de type boîte à œufs (multimères).

### III.4.4 Propriétés mécaniques des films d'alginate de calcium

Les films d'alginate étant très fins (quelques dizaines de micromètres), les premiers essais mécaniques en utilisant les techniques de DMA (Dynamical Mechanical Analysis) se sont avérés infructueux. Compte-tenu de la fragilité et de la petite taille des échantillons, ceux-ci se cassaient régulièrement lors du placement des échantillons dans les mors de l'appareil (rupture nette). Des essais mécaniques classiques ont été réalisés sur des films plus grands et plus épais.

#### III.4.4.1 Essais mécaniques classiques

Pour préparer les éprouvettes, une quantité fixe de solution d'alginate ( $4500 \text{ g/m}^2$ ) à différentes concentrations est versée dans un moule rectangulaire. La solution est alors stockée jusqu'à évaporation complète de l'eau. Pour les films devant contenir du calcium, une solution de  $\text{CaCl}_2$  (4,76% m) est pulvérisée à l'aérographe durant 10 secondes ( $15 \text{ g/m}^2$ ) en surface de la solution avant évaporation.

Après évaporation, les éprouvettes de traction sont découpées à l'aide d'un emporte-pièce (type H3). En raison du phénomène de contraction superficielle du film, il est nécessaire de découper les films sprayés dans les zones centrales homogènes (Figure 88).



**Figure 88 : Zone de découpe des échantillons de traction.**

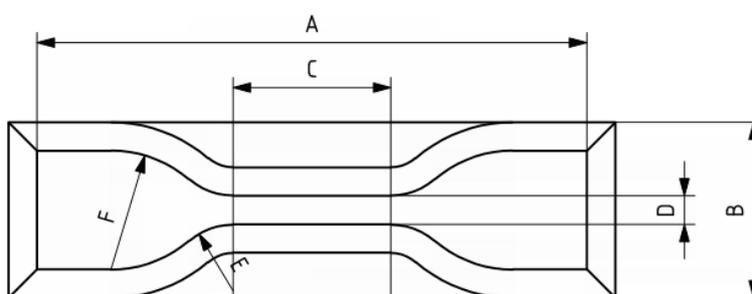
Les éprouvettes de type H3 sont définies selon un référentiel normé (Figure 89) :

Type d'éprouvette	Type 1	Type 1A	Type 2	Type 3	Type 4
Longueur d'essai (mm)	25 ± 0,5	20 ± 0,5 <sup>a</sup>	20 ± 0,5	10 ± 0,5	10 ± 0,5

<sup>a</sup> La longueur d'essai ne doit pas être supérieure à la longueur de la partie étroite (dimension C du Tableau 2)

Dimension	Type 1	Type 1A	Type 2	Type 3	Type 4
A Longueur totale <sup>a</sup> (minimum) (mm)	115	100	75	50	35
B Largeur des têtes (mm)	25,0 ± 1	25,0 ± 0,5	12,5 ± 1	8,5 ± 0,5	6 ± 0,5
C Longueur de la partie étroite droite (mm)	33 ± 2	20 <sup>+2</sup> <sub>0</sub>	25 ± 1	16 ± 1	12 ± 0,5
D Largeur de la partie étroite droite (mm)	6 <sup>+0,4</sup> <sub>0</sub>	5 ± 0,1	4 ± 0,1	4 ± 0,1	2 ± 0,1
E Rayon de raccordement extérieur (mm)	14 ± 1	11 ± 1	8 ± 0,5	7,5 ± 0,5	3 ± 0,1
F Rayon de raccordement intérieur (mm)	25 ± 2	25 ± 2	12,5 ± 1	10 ± 0,5	3 ± 0,1

<sup>a</sup> Une longueur totale supérieure peut s'avérer nécessaire pour être assuré que seules les extrémités larges entrent en contact avec les mâchoires de la machine, contribuant ainsi à éviter des ruptures en dehors de la partie étroite des éprouvettes.



**Figure 89 : Emporte-pièce pour éprouvette haltère et dimensions associées**

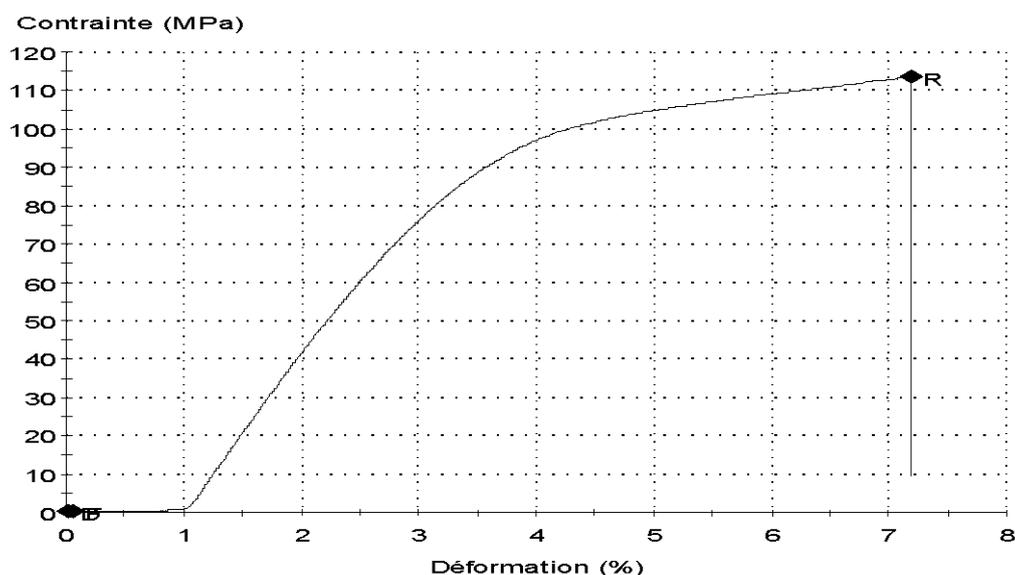
Les conditions d'analyse sont les suivantes :

- Machine d'essai : machine de traction MTS Systems 400/M
- Capteur de force : 100N
- Température d'essai : 23,5°C
- Taux d'humidité relatif : 50%
- Type d'essai : essais de traction sans extensomètre
- Vitesse de traction : 5 mm/min

Dimensions caractéristiques des échantillons :

- Largeur de la partie centrale (moyenne) : 4,19 mm
- Longueur nominale : 30,00 mm
- Epaisseur de la partie centrale (moyenne alginate à 30 g/L) : 0,030 mm

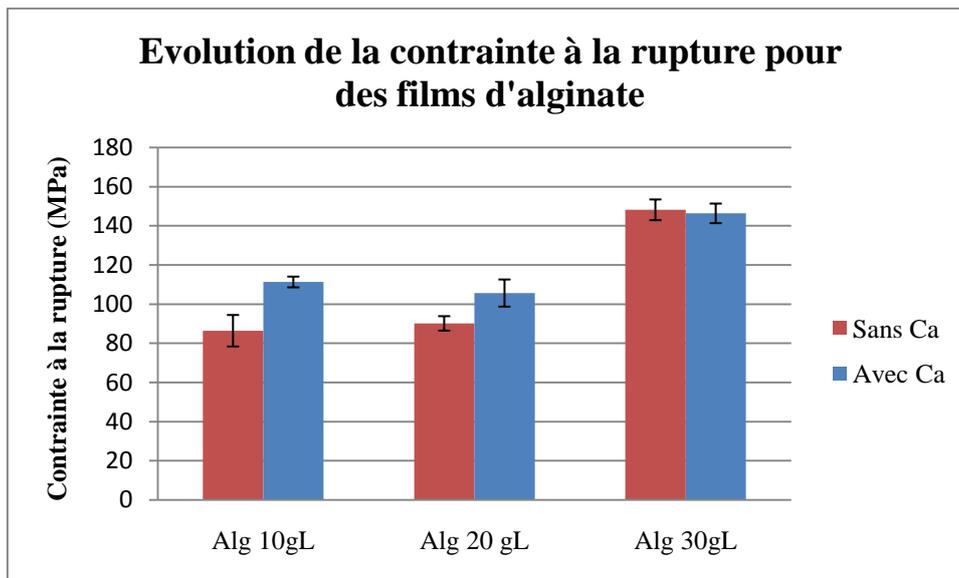
La courbe caractéristique Déformation-Contraainte d'un film réticulé (alginate à 30 g/L et calcium à 50 g/L) est donnée en Figure 90 :



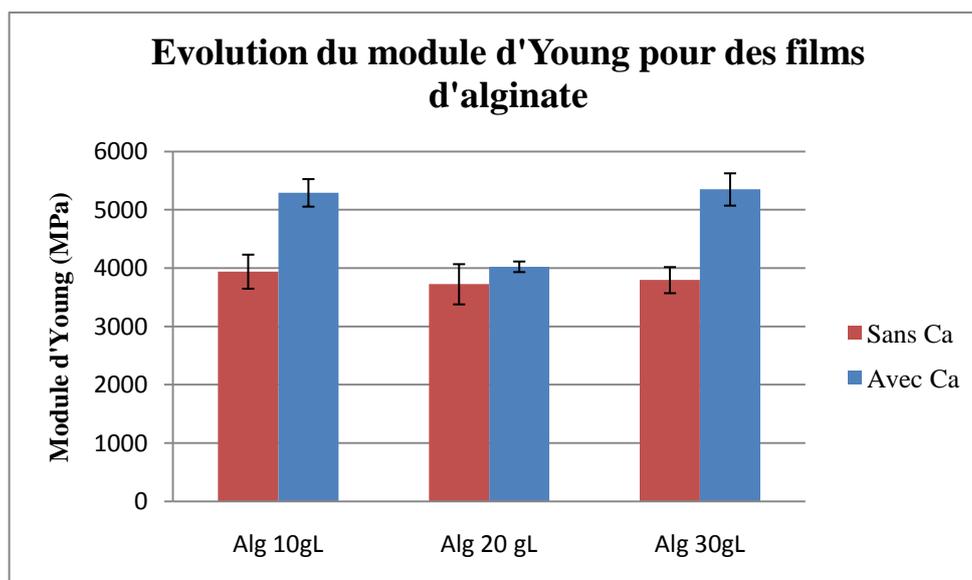
**Figure 90 : Courbe déformation-contraainte d'un film d'alginate réticulé**

La première partie de la courbe (augmentation de la déformation à contraainte nulle) est due au fait que l'échantillon n'a pas été complètement tendu entre les mors lors de son placement. Il est ainsi possible d'éviter une sollicitation trop forte du film avant la mesure. Le placement de l'échantillon est en effet une étape critique au cours de laquelle il est indispensable de porter des gants en latex afin que l'humidité de la surface de la peau des doigts ne vienne polluer l'échantillon (film qui « colle » aux doigts, empreinte digitale persistante sur le film). Ces précautions sont primordiales, surtout aux faibles concentrations en alginate, où les épaisseurs de film sont très faibles. Les autres parties de la courbe décrivent le comportement classique d'un matériau polymère (domaine élastique linéaire puis domaine viscoélastique) et enfin rupture au-delà d'une contraainte seuil. Cette courbe démontre donc une certaine homogénéité du film au niveau macroscopique.

Cinq essais ont été faits pour chaque formulation. Les valeurs moyennes des essais ont permis d'obtenir l'évolution de la contraainte à la rupture du film en fonction de la concentration en alginate, pour des échantillons réticulés et non-réticulés par le calcium (Figure 91). Le module d'Young des échantillons a lui aussi été déterminé (Figure 92).



**Figure 91 : Contrainte à la rupture pour des films d'alginate (avec et sans calcium) à différentes concentrations**



**Figure 92 : Module d'Young pour des films d'alginate (avec et sans calcium) à différentes concentrations**

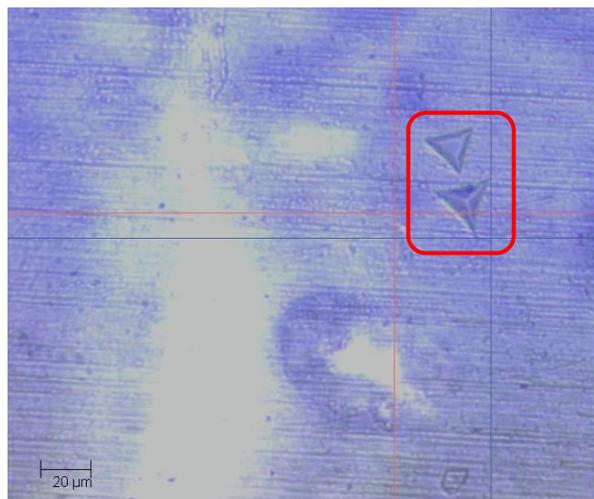
Ces résultats indiquent des tendances sur le comportement mécanique des films d'alginate. Il apparaît que les échantillons ayant subi une pulvérisation de calcium résistent mieux en traction et sont plus rigides. La présence de calcium augmente donc la rigidité du film d'alginate tout en lui apportant une meilleure résistance à la contrainte.

### III.4.4.2 Nanoindentation

L'étude de la concentration en calcium dans l'épaisseur du film, effectuée par microsonde X, a révélé que cette concentration est variable dans le film (existence d'un gradient de concentration de calcium dans l'épaisseur du film). Il a notamment été montré que la concentration en calcium à la surface du film est supérieure à celle du cœur de l'échantillon. Or, les propriétés mécaniques dépendent, entre autres, des concentrations en calcium. L'étude des propriétés mécaniques de la surface des films apparaît donc pertinente.

La nano-indentation est une technique qui nous permettra de révéler ces propriétés. En effet, cette technique, couramment utilisée pour déterminer les propriétés mécaniques de films fins ou de revêtements, va nous permettre de connaître le comportement mécanique des surfaces des films.

La nano-indentation permet d'évaluer la dureté et le module d'élasticité d'un matériau par l'enfoncement d'une pointe. L'avantage de l'instrument de nano-indentation est sa capacité à mesurer avec une résolution nanométrique, la profondeur de pénétration allant jusqu'à quelques micromètres. Ceci est très important dans le cas des alginate, puisque les films étudiés sont très fins (de 20 à 150 microns). Les essais sont effectués à l'aide d'un nano-indenteur équipé d'une pointe Berkovich, de forme pyramidale à base triangulaire. Les conditions des essais sont les suivantes : la force appliquée passe de 0 à 10 mN en 30 secondes, puis la force est maintenue à 10 mN pendant 30 secondes avant de diminuer jusqu'à être nulle. L'enfoncement de la pointe est de l'ordre du micron (Figure 93).



**Figure 93 : Empreintes laissées par la pointe Berkovich sur le film**

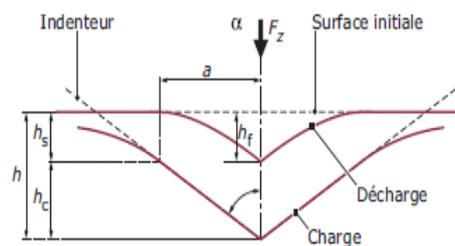
Le module d'élasticité est déduit de l'analyse des courbes force-déplacement. Toutes ces courbes sont corrigées en considérant la dérive thermique. Le module d'élasticité est déterminé à partir de la pente  $S$  de la courbe de déchargement, prise au début celui-ci (Figure 96). Les équations permettant de calculer ce module sont les suivantes :

$$\frac{1}{E_r} = \frac{(1 - \nu_i)^2}{E_i} + \frac{(1 - \nu)^2}{E} \quad \text{et} \quad S = \frac{\partial F}{\partial h} = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \cdot E_r \cdot \sqrt{A_p}$$

Avec :

- $E_r$  = module d'Young réduit du matériau testé
- $E_i$  = module d'Young de l'indenteur
- $E$  = module d'Young du matériau testé
- $\nu$  = coefficient de Poisson de l'indenteur (caractéristique de la contraction de la matière perpendiculairement à la direction de l'effort appliqué)
- $A_p$  = aire de contact projetée

L'aire de contact projeté  $A_p$  dépend de la profondeur de contact  $h_c$  entre l'indenteur et le matériau (Figure 94).



**Figure 94 : Enfoncement de la pointe dans le matériau**

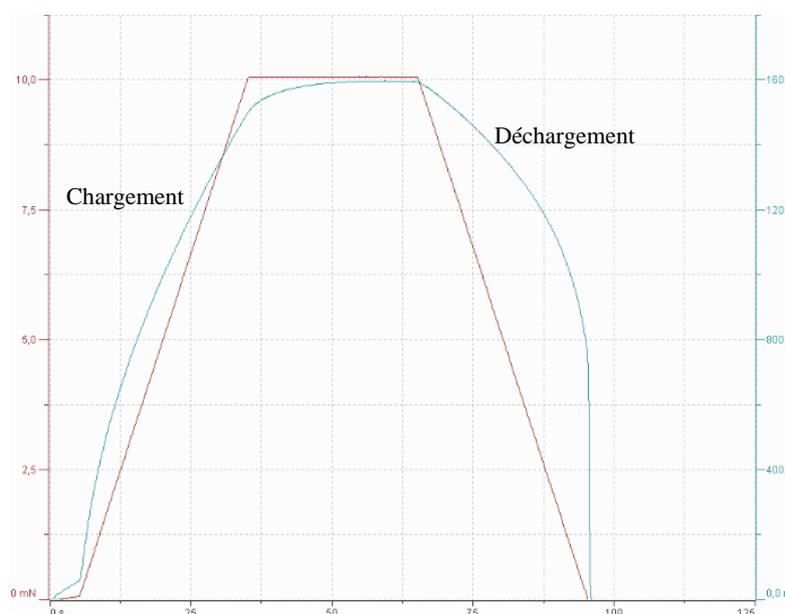
Les échantillons choisis pour la réalisation des tests sont détaillés dans le Tableau 12. La solution de calcium utilisée a une concentration de 50 g/L.

**Tableau 12 : Epaisseur des films d'alginate étudiés en nano-indentation**

Type d'alginate	10 g/L	10 g/L + Ca	20 g/L	20 g/L + Ca	30 g/L	30 g/L + Ca	40 g/L	40 g/L + Ca
Epaisseur (µm)	34	34	42	55	83	98	103	120

Les épaisseurs de film (mesurées au micromètre) donnent des indications supplémentaires concernant l'influence du calcium. Les films d'alginate de calcium sont en effet plus volumineux que les films d'alginate seul, ce qui signifie que l'association des chaînes d'alginate sous la forme de multimères occupe un volume plus important que lorsque ces chaînes sont libres.

Les échantillons de film sont collés à l'aide d'un adhésif double-face sur des lamelles de verre avant analyse. La force d'indentation est choisie de telle sorte que les rigidités de l'adhésif et de la lamelle ne soient pas ressenties : la profondeur de l'enfoncement de la pointe est inférieure à 10% de l'épaisseur du film d'alginate (**Mammeri, 2003**). Une courbe caractéristique montrant l'évolution de la consigne de force et de l'enfoncement en fonction du temps est montré en Figure 95.



**Figure 95 : Evolution de la consigne (en rouge) et de l'enfoncement (en vert) en fonction du temps**

La courbe caractéristique de force-Enfoncement correspondante pour un film d'alginate (30 g/L) réticulé au calcium est présentée en Figure 96.

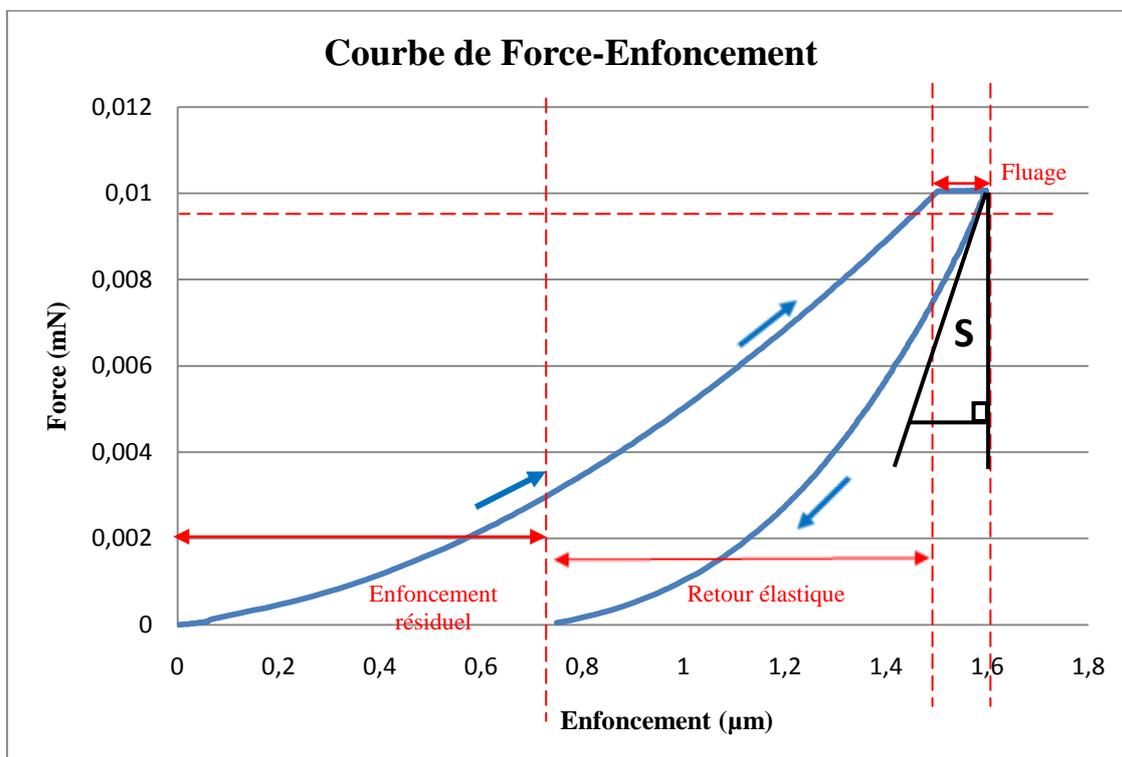


Figure 96 : Courbe de Force-Enfoncement d'un film d'alginate (30 g/L) réticulé au calcium

Les données des courbes de Force-Enfoncement permettent de calculer les modules d'Young des films d'alginate (Figure 97) :

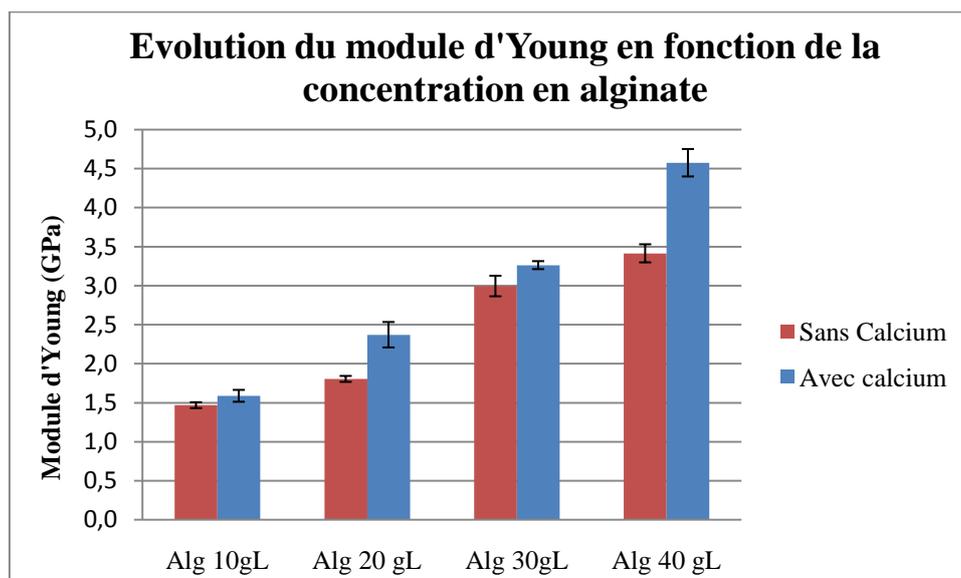


Figure 97 : Module d'Young en fonction de la concentration en alginate (surface du film)

Les tendances observées lors de l'étude des films à l'aide d'essais mécaniques classiques sont confirmées par ces résultats : à concentration en alginate constante, le module d'Young est plus élevé pour le film réticulé. Les ordres de grandeur des modules d'Young sont les mêmes pour les deux techniques. Cependant, dans le cas de la nano-indentation, on constate une augmentation du module d'Young en fonction de la concentration en alginate. Il semblerait donc que, malgré toutes les précautions prises, la présence de l'adhésif double-face soit « ressentie » lors de la mesure. Cette influence, due à la différence d'élasticité du film d'alginate et de l'adhésif, diminue quand l'épaisseur du film d'alginate augmente.

Même si ces films sont fragiles, leur manipulation lors du procédé de détergence est pourtant aisée compte-tenu que :

- ❑ Les films sont manipulés avant évaporation à température ambiante. Ils sont pelés alors qu'ils sont encore gorgés d'eau et sont donc beaucoup plus souples, leur cohésion étant garantie par la réticulation au calcium. Le pelage des films a lieu entre 5 et 10 minutes après la pulvérisation du chlorure de calcium.
- ❑ La migration des résidus au sein de la solution détergente va permettre de plastifier les films et donc de les assouplir. Cependant, cette plastification sera accompagnée d'une diminution de la cohésion des films.

Nous avons voulu étudier les propriétés mécaniques des films à différents temps d'évaporation mais aucune des deux méthodes d'analyse n'a pu être utilisée :

- ❑ Le placement des films encore gorgés d'eau dans les mors de la machine de traction est impossible. Le fait de serrer les mors dégrade instantanément les échantillons.
- ❑ La nanoindentation n'est pas non plus applicable : le matériau est trop mou pour être détecté lors de la phase d'approche de l'indenteur

## III.5 Conclusion

Les travaux de recherche présentés dans ce troisième chapitre ont permis d'apporter un complément de connaissances pour le meilleur développement d'un procédé de détergence utilisant les propriétés de réticulation par le calcium d'une solution d'alginate. Nous avons pu mettre en avant et mieux comprendre les différents phénomènes entrant dans la préparation de ces films :

- **La composition de l'alginate.** Nous avons choisi d'utiliser une variété d'alginate dont la masse molaire et la composition sont moyennes (environ 106000 g/mol et autant d'unités M que G). Cela permet d'assurer un bon compromis entre la flexibilité et la résistance mécanique du film. D'autre part, cette composition permet une bonne migration des espèces ioniques en son sein. L'existence d'un nombre limité de blocs homogènes MM ou GG implique aussi une meilleure résistance aux écarts de pH (résistance à l'hydrolyse) et donc augmente la stabilité. Enfin, le coût réduit de ce type d'alginate est un atout à prendre en considération.
- **Les propriétés de l'alginate en solution.** L'alginate sélectionné présente en solution un comportement rhéofluidifiant aux fortes concentrations. Cela constitue un avantage pour la mise en œuvre : l'application du produit (pinceau, spray) est possible sans qu'il n'y ait de coulures sur les surfaces de géométrie complexe par exemple.
- **Le choix des concentrations de travail.** Les concentrations de travail en alginate et en calcium sont choisies pour permettre la formation d'un film d'alginate de calcium homogène, tout en étant capable de cohabiter avec une solution détergente.
- **La cinétique de formation du gel.** Nous avons vu que le calcium migre dans la solution d'alginate selon un mécanisme diffusif. La cinétique de cette diffusion a été comparée à celle de l'évaporation de la solution et il a été montré qu'elle lui était supérieure. Nous avons aussi montré que le coefficient de perte de masse est constant au cours de l'évaporation et qu'il n'y a donc pas un effet de peau en surface de la solution. Enfin, il a été prouvé que la formation du gel d'alginate de calcium n'empêche pas la diffusion du calcium (pas d'effet barrière).

- **L'homogénéité des films d'alginate de calcium.** L'analyse électronique des films d'alginate de calcium a montré que leur composition est homogène sur toute leur épaisseur.
- **L'aspect du film d'alginate de calcium.** Le film d'alginate de calcium tend à se contracter au cours de l'évaporation. Cette contraction est susceptible de provoquer l'apparition de zones hétérogènes en concentration de calcium. Cependant, il a été vérifié que les concentrations minimales en calcium étaient atteintes pour former un film complètement réticulé.

Il reste maintenant à utiliser ces résultats pour mettre en œuvre une solution de détergence réticulable, en particulier dans les étapes du choix des principes actifs de la formulation détergente, de la mise au point du protocole de dégraissage des surfaces souillées et des conditions d'application de la solution de calcium.





# Chapitre IV Mise au point de la solution détergente pelable

## IV.1 Choix de la formulation détergente et des souillures

### IV.1.1 Mise au point du protocole de dégraissage

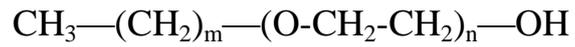
Plusieurs principes actifs connus en détergence ont été testés avec la solution d'alginate caractérisée au chapitre III. Afin de garantir le bon déroulement du procédé de fabrication du gel d'alginate de calcium, il est nécessaire de choisir ces principes actifs en fonction de deux conditions critiques :

- ❑ La solution d'alginate et la formulation détergente doivent être compatibles (pas de démixtion)
- ❑ La formulation détergente ne doit pas gêner la formation du film d'alginate de calcium réticulé

Il est donc préférable de travailler avec des solutions à pH neutres ou faiblement alcalins, afin d'empêcher une trop forte interaction de l'alginate avec son solvant et d'éviter de gêner son association avec les contre-ions divalents. De plus, des essais effectués avec des solutions fortement alcalines montrent qu'il est impossible d'obtenir une réticulation de l'alginate de calcium. Ces essais corroborent les résultats obtenus par Haug (**Haug, 1963**) selon lesquels les chaînes d'alginate se dégradent pour des pH trop acides (<6) ou trop basiques (>10). Les agents chélatants, couramment utilisés dans les formulations détergentes, sont aussi à proscrire car ils sont susceptibles de bloquer l'action du contre-ion calcium.

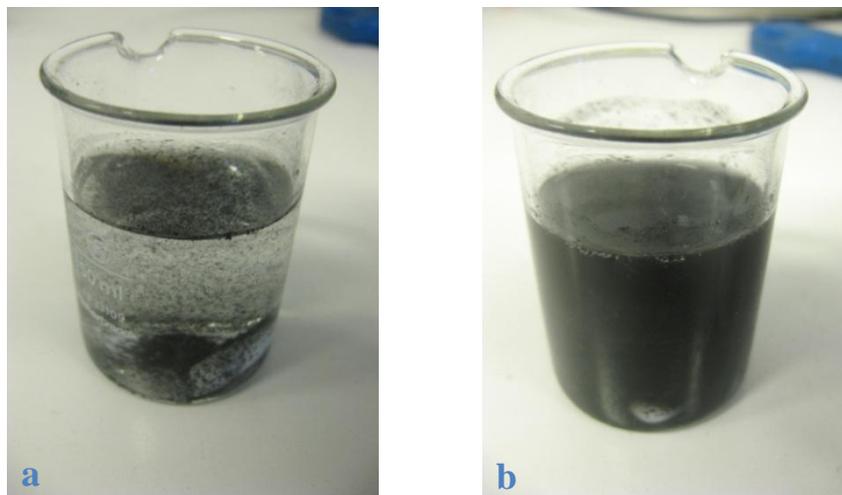
#### *IV.1.1.1 Choix des principes actifs de la solution détergente*

Afin d'éliminer les résidus solides (poudre de noir de carbone), il est nécessaire d'utiliser un tensioactif. Celui-ci s'adsorbe sur les particules solides ce qui permet la disparition des interactions inter-particulaires. La force ionique du système est un paramètre critique de la stabilité des alginates en solution. Afin de modifier le moins possible cette force ionique et d'éviter de générer des interactions attractives entre le tensioactif et l'alginate (polyélectrolyte chargé négativement), il est nécessaire de sélectionner un tensioactif non-ionique. Les tests effectués avec le Synperonic A50 (Croda Uniqema) (Figure 98) ont montré une très bonne compatibilité avec les résidus solides tels que le noir de carbone.



**Figure 98 : Formule chimique du Synperonic A50**

Le Synperonic A50 est composé d'une chaîne hydrocarbonée comportant  $m= 12$  à  $15$  motifs méthyls et d'une partie hydrophile polyéthoxylée comportant  $n=50$  motifs. L'efficacité de ce tensioactif vis-à-vis des particules de noir de carbone est vérifiée :  $25$  mg de noir de carbone (fines particules broyées) sont introduits sous agitation magnétique dans  $40$  mL d'eau avec et sans Synperonic A50 (Figure 99).



**Figure 99 : Particules de noir de carbone en dispersion dans l'eau**

**(a) Sans Synperonic A50**

**(b) Avec Synperonic A50**

Les conditions opératoires sont les mêmes pour les deux solutions (agitation pendant  $2$  minutes, repos pendant  $2$  minutes). La solution contenant le tensioactif permet une dispersion stable des particules de noir de carbone dans la solution.

Un second constituant de la formulation est le solvant à base de 2-butoxyéthanol ou EGBE : c'est un solvant incolore principalement utilisé dans les peintures et revêtements (Figure 100). Il est aussi couramment utilisé dans les formulations détergentes (son odeur est caractéristique des produits « lave-vitres ») car il est capable de solubiliser les graisses grâce à son caractère amphiphile. Le 2-butoxyéthanol se décompose naturellement en quelques jours sans être toxique pour l'environnement. Il est connu pour être présent chez certaines plantes ou espèces animales (ATSDR, 1998).

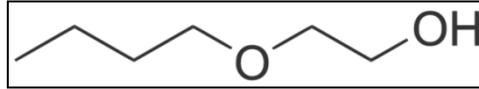


Figure 100 : Formule chimique de l'EGBE

#### IV.1.1.2 Protocole de préparation de la solution détergente

Pour une stabilité optimale du mélange, il est nécessaire de respecter avec précision un ordre d'addition des constituants. Il convient de solubiliser en premier les principes actifs (tensioactifs, agents détergents) dans l'eau puis additionner une solution d'alginate dans l'eau. En effet, la précipitation ou la diminution importante de la cinétique de solubilisation des chaînes d'alginate est mise en évidence si :

- ❑ Les espèces chargées sont introduites directement dans la solution d'alginate
- ❑ L'alginate est solubilisé directement dans la solution contenant les espèces chargées

Le protocole suivant a été mis au point. Pour 100mL de solution détergente contenant des alginates :

- ❑ Dans un premier bécher (solution A) :
  - 3,2 g de Synperonic A50 sont ajoutés à 16,59g d'eau. Le tout est mélangé par agitation magnétique jusqu'à solubilisation complète du tensioactif dans l'eau (solution limpide)
  - 10,6g d'EGBE sont ajoutés
  - Le mélange est homogénéisé par agitation magnétique jusqu'à obtention d'une solution limpide
- ❑ Dans un second bécher (solution B) :
  - 4,5g d'alginate sont incorporés progressivement dans 100mL d'eau (4,3% massique). L'agitation peut être magnétique ou effectuée à l'aide d'une pâle (plus rapide), jusqu'à solubilisation complète de l'alginate

Finalement, la totalité de la solution A est versée très lentement dans 69,61g de solution B. Il est nécessaire d'ajouter progressivement la formulation détergente à la solution d'alginate et non l'inverse, afin d'éviter d'utiliser les alginates dans un milieu trop fortement concentré en

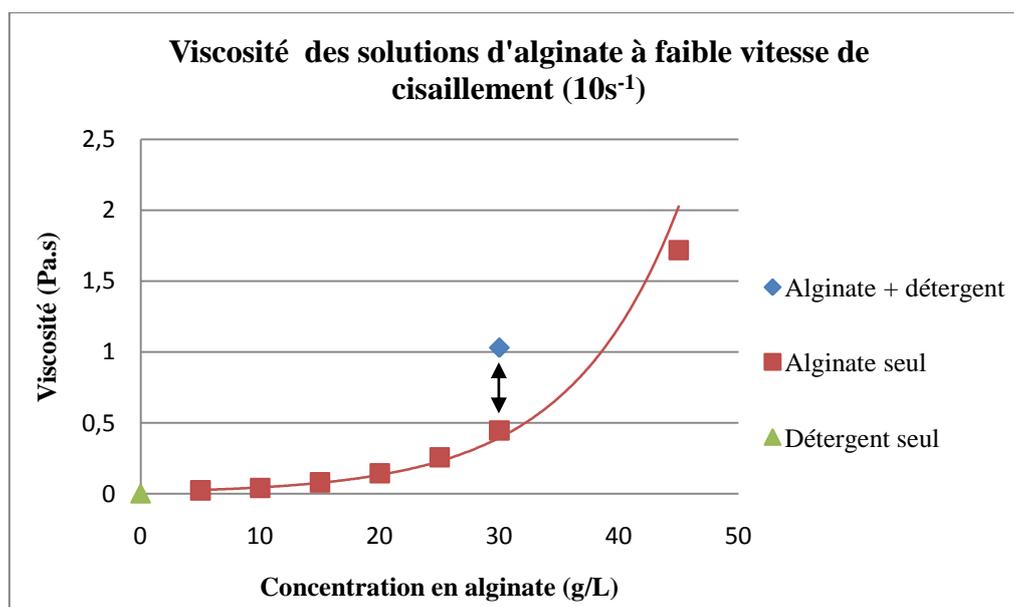
principes actifs. La concentration finale des alginates dans le mélange obtenu est de 3% massique. Le pH de la solution a été mesuré et est égal à 6,33 (à 21°C).

La composition massique de cette formulation est donnée dans le Tableau 13.

**Tableau 13 : composition de la formulation détergente contenant l'alginate**

Composant	Pourcentage massique
EGBE	10,6 %m
Synperonic A50	3,2 %m
Alginate	3,0 %m
Eau	83,2 %m

Les constituants de la solution détergente ont été choisis pour interagir le moins possible avec la solution d'alginate. En pratique, ces interactions ne peuvent être totalement nulles. Les mesures de viscosité à faible vitesse de cisaillement (Figure 101) révèlent clairement ces interactions. Il est important de préciser ici que la vitesse de cisaillement utilisée pour cette expérience n'est pas forcément représentative des vitesses de sollicitation des moyens de mise en œuvre des solutions.



**Figure 101 : Influence des principes actifs sur la viscosité de la solution d'alginate**

A concentration égale en alginate, la solution d'alginate contenant les principes actifs détergents présente une viscosité supérieure. Cette augmentation de viscosité (1,03 Pa.s) est due aux interactions entre la formulation détergente et les chaînes d'alginate. En effet, les

principes actifs détergents et la solution d'alginate à concentration équivalente ne présentent pas des viscosités aussi fortes (respectivement  $2.10^{-3}$  Pa.s et 0,45 Pa.s).

## IV.1.2 Préparation des souillures modèles

Afin de reproduire le plus fidèlement possible la composition des souillures générées par l'usinage des matériaux composites, il est nécessaire d'y inclure les deux constituants principaux :

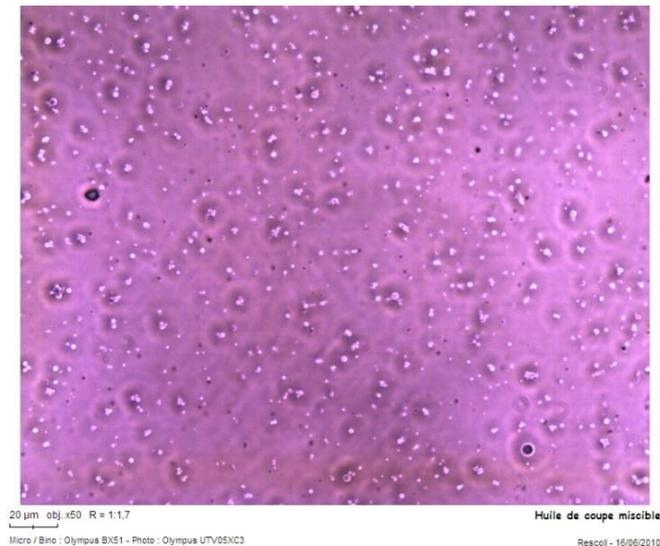
- ❑ L'huile, dont la nature chimique correspond aux huiles de coupe utilisées pour l'usinage des matériaux composites,
- ❑ Des particules caractéristiques des résidus solides issus de la découpe de ces matériaux (morceaux de fibres, particules de la matrice, etc.).

### IV.1.2.1 Huile de coupe

Des échantillons d'huile de coupe ont été fournis par M. Jean-Louis Kabs de la société SNP2I (Solutions techniques pour le nettoyage et la préparation de surface). Pour des raisons de confidentialité, la formulation de cette huile n'a pas pu être communiquée. Les seules informations qui ont pu être divulguées sont les suivantes :

- ❑ La matrice de l'huile de coupe utilisée est comparable à celles utilisées lors des opérations d'usinage des composites,
- ❑ L'huile est partiellement miscible à l'eau (à hauteur de 5% en volume).

L'extrait sec de l'huile de coupe est de 51,11% (calculs effectués sur deux échantillons dans des conditions de chauffage à 105°C pendant 24 heures). L'extrait sec se présente sous la forme d'une huile plus visqueuse et plus foncée que l'huile originale. L'observation de l'huile pure au microscope (X50 et X100, en transmission avec contraste de phase) révèle une solution homogène. En revanche, dès que la concentration de l'huile dans l'eau dépasse 5% en volume, le mélange huile-eau s'opacifie pour devenir blanc. Ce phénomène est caractéristique de la formation d'une émulsion dont la taille des gouttes est supérieure au micron (Figure 102).



**Figure 102 : Mélange huile de coupe/eau (50/50)**

Lors de l'usinage des composites, il est nécessaire de travailler à des vitesses de coupe importantes, ce qui génère un échauffement considérable de l'ensemble copeau / pièce / outil. Un fluide de coupe en émulsion aqueuse est donc recommandé pour ces opérations. Sa fluidité permet aux pompes de transporter facilement le liquide tout en gardant des propriétés lubrifiantes. L'eau contenue dans les huiles solubles permet alors la dissipation de la chaleur en étant vaporisée au contact des éléments chauds mais sans émanation nocive (**Broquerie, 2005**).

Comme précisé dans la section I.1.3, il existe quatre grandes familles d'huiles solubles utilisables en tant que fluides de coupe :

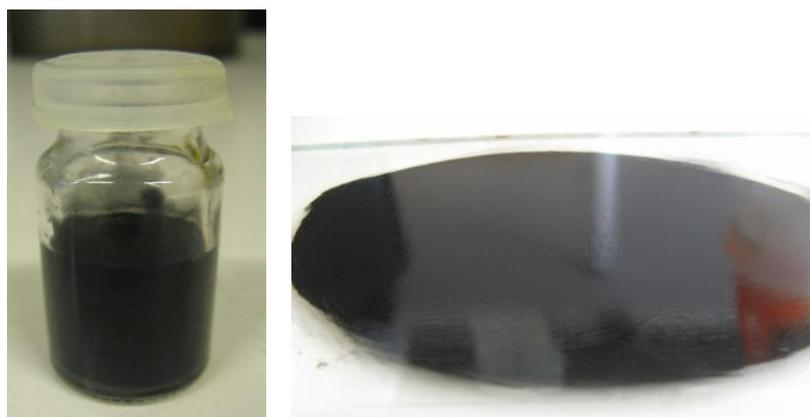
1. Les huiles « solubles » traditionnelles : ce sont des émulsions laiteuses blanches et grossières dont la taille des gouttes est d'environ 10µm
2. Les émulsions fines : ce sont des émulsions laiteuses blanches et grossières dont les tailles de gouttes sont inférieures à 10µm
3. Les fluides semi-synthétiques : ce sont des émulsions très fines translucides, dont les tailles de gouttes sont inférieures à 1µm
4. Les fluides synthétiques : ce sont des solutions transparentes permettant un très bon refroidissement

Compte-tenu des résultats obtenus au microscope, il apparaît que cette huile appartient à la famille des fluides synthétiques ou semi-synthétiques. Cette huile est donc susceptible de contenir les composants suivants (AFSSET, 2009) : tensioactifs (alcools acides et amides gras éthoxylés), additifs anti-usure (corps gras naturel, esters synthétiques, etc.), antimousse (silicones, polysiloxanes), biocides et fongicides (dérivés nitrés, borates), tampons alcalins (mono et triéthanolamine, diglycolamine), inhibiteurs de corrosion (imidazoline, benzotriazole), etc.

#### *IV.1.2.2 Résidus solides*

Dans le cas des matériaux composites, l'usinage dit « par enlèvement de copeaux » se traduit en fait par une création de poudre et non par la formation d'un copeau. Le noir de carbone a été choisi afin de simuler ces fines particules solides. Il permet une grande répétabilité lors de la préparation des souillures artificielles. Les granulés de noir de carbone utilisés pour réaliser les souillures (ELFTEX 180, Cabot Corp.) sont broyés avant d'être incorporés à l'huile de coupe. Leur taille finale varie d'environ 10 à 100  $\mu\text{m}$ .

Le mélange {noir de carbone + huile de coupe} permet alors d'obtenir une solution grasse, opaque et chargée, utilisable pour souiller des pièces sur lesquelles les formulations détergentes pourront être testées (Figure 103). Pour obtenir ce résultat, le noir de carbone est incorporé à hauteur de 1,70% massique dans l'huile de coupe.



**Figure 103 : Mélange {huile + noir de carbone} permettant l'obtention de surfaces souillées**

### IV.1.2.3 Préparation de surfaces souillées modèles

Les surfaces souillées ont été obtenues de deux façons différentes :

- ❑ Pour les petites surfaces, telles que les lamelles de microscope en verre, un spin-coater a été utilisé pour enduire totalement la surface de la lamelle, avec un grammage le plus répétable possible (Figure 104).
- ❑ Pour de plus grandes surfaces, l'étalement des souillures a été effectué à l'aide d'un tampon en mousse.

Afin de se placer dans des conditions optimales, un faible grammage de souillures est choisi : 4 g/m<sup>2</sup>. Dans les deux cas (petites et grandes surfaces), ce grammage est considéré comme homogène sur toute la surface et est contrôlé par pesée. Les substrats choisis pour effectuer les essais sont le verre, les matériaux composites (à base de fibres de carbone) et le polystyrène (coupelles de dimensions variables).



**Figure 104 : Lamelle souillée par spin-coating (4g/m<sup>2</sup>)**

Les différents supports ont été choisis par rapport à leur capacité à être mouillés par la solution détergente. Dans les trois cas, la mouillabilité est suffisante pour permettre la préparation d'une couche homogène qui adhère à la surface.

## IV.2 Protocole de dégraissage des surfaces souillées

Les différentes étapes du procédé de dégraissage que nous avons mis au point sont les suivantes :

- ❑ Application de la solution détergente contenant l'alginate,
- ❑ Temps d'attente durant lequel s'effectue l'action détergente,
- ❑ Pulvérisation d'une solution de chlorure de calcium (15g/m<sup>2</sup>),
- ❑ Temps d'attente durant lequel la diffusion du calcium et le séchage du film ont lieu,
- ❑ Pelage du film.

L'application de la solution détergente et la pulvérisation du calcium ne sont pas effectuées simultanément car il est nécessaire d'attendre que l'action détergente se produise avant de réticuler la solution. Ces étapes sont détaillées dans les pages suivantes.

#### IV.2.1 Application de la solution détergente

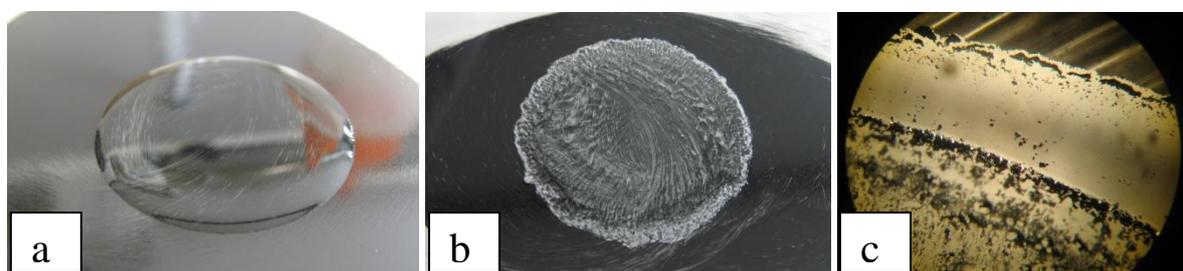
Deux méthodes qui diffèrent par le mode d'application de la solution détergente sur la surface souillée sont envisageables :

- Application de la solution détergente sans action mécanique : la solution est coulée sur la surface souillée,
- Application de la solution détergente avec action mécanique : la solution est appliquée au pinceau ou pulvérisée.

Dans les deux cas, il est nécessaire de s'assurer de la compatibilité de la solution détergente avec la pollution à traiter. Des essais réalisés au paragraphe II.3.1 ont déjà montré que le tensioactif (Synperonic A50) est très efficace pour disperser de façon stable les particules de noir de carbone.

##### *Application sans action mécanique*

La solution détergente contenant l'alginate est directement versée sur la surface à dépolluer. L'action des principes actifs détergents est rapidement visible sur la surface souillée (Figure 105). En effet, il apparaît clairement que les particules de noir de carbone sont déplacées. Cependant, cette méthode ne garantit pas une homogénéité en épaisseur sur toute la surface en contact.



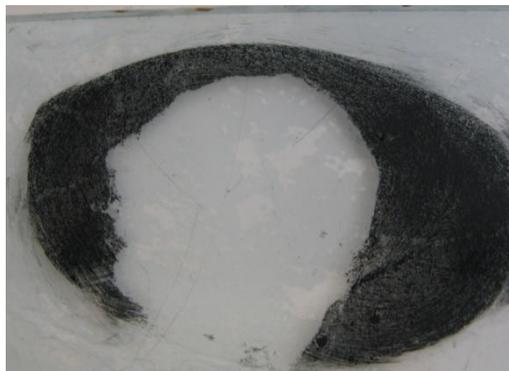
**Figure 105 : Action de la solution détergente sur les souillures**

**(a) A  $t_0$ , la solution est déposée sur la surface**

**(b) A  $t=60s$ , l'action détergente est déjà détectable**

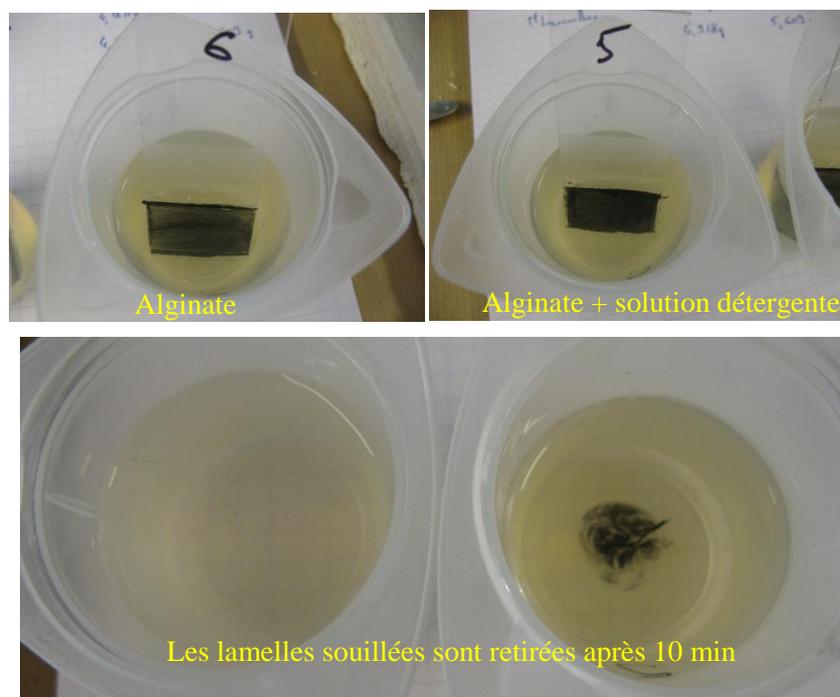
**(c) Détail au microscope (X16) du liseré de solution détergente**

Un simple rinçage à l'eau après une dizaine de minutes permet de constater que la solution détergente contenant l'alginate est aussi efficace que la solution détergente seule vis-à-vis des souillures (Figure 106).



**Figure 106 : Etat de la surface souillée après rinçage**

L'élimination des souillures est bien imputable à la présence de la solution détergente. En effet, les alginates seuls n'ont aucun pouvoir détergent (Figure 107). Deux lamelles de verre sont enduites de souillures et trempées dans une solution d'alginate seule et une solution d'alginate + détergent. Après 10 minutes d'immersion, les lamelles sont retirées. Seule la solution contenant le détergent permet de capter une partie des souillures présentes sur la lamelle.



**Figure 107 : Démonstration de l'absence de pouvoir détergent de la solution d'alginate seule**

Une autre expérience a été menée afin d'évaluer la capacité de la solution détergente à disperser les souillures. Pour cela, la solution détergente est placée au sommet des souillures dans un tube à essai (Figure 108), celles-ci ont immédiatement tendance à migrer vers le haut du tube en raison de la différence de densité mais également par le pouvoir dispersant de la solution détergente (visible à partir de la 6<sup>ème</sup> minute).

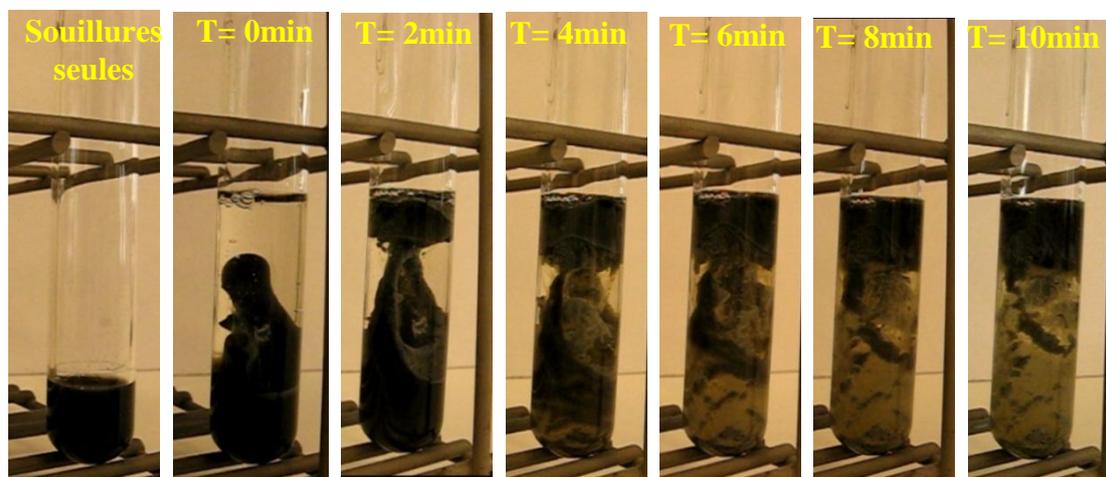


Figure 108 : Affinités entre la solution détergente et les souillures

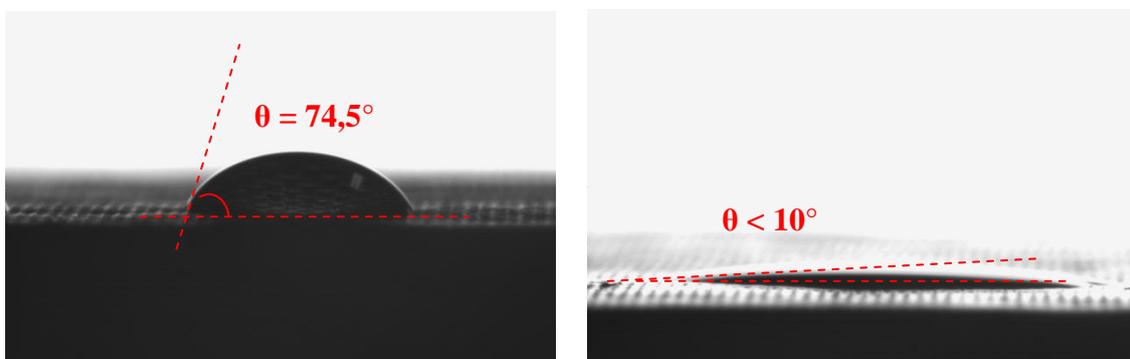
Les angles de contact confirment également la qualité du mouillage de la surface et la compatibilité entre la solution détergente et les souillures (Tableau 14).

Tableau 14 : Angles de contact sur surface verre et composite, avec et sans souillures

	Verre	Verre/souillures	Composite	composite/souillures
eau	17,5°	<10°	74,5°	<10°
huile seule	18,4°	-	24,7°	-
huile souillée	18,7°	-	18,9°	-
alginate	-	<10°	-	15,7°
alginate + détergent	-	<10°	-	22°

Compte-tenu de la miscibilité partielle des souillures avec l'eau, les angles de contact de l'eau vis-à-vis des surfaces souillées sont plus faibles que pour les surfaces propres (Figure 109). Dans le cas de la solution détergente, l'étalement de la goutte est aussi dû à la dispersion des souillures qui se fait de manière quasi-instantanée. La présence d'alginate et de détergent ne semble pas avoir d'influence sur les angles de contact sur le verre souillée, alors qu'ils augmentent légèrement dans le cas des composites souillés. Il existe donc une différence entre les surfaces du verre et du composite.

Dans l'état actuel d'avancement de nos recherches, nous ne pouvons pas conclure, si ce n'est sur le fait que la rugosité et la porosité des deux substrats sont totalement différentes. C'est peut-être pour cela que les angles de contact sont différents.

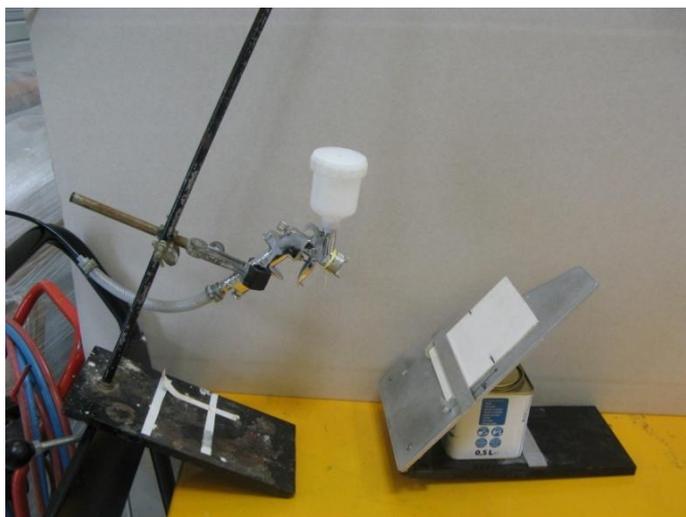


**Figure 109 : Angles de contact de l'eau sur composite avant application des souillures (à gauche) et après (à droite)**

L'étude des angles de contact de l'eau sur les surfaces composites est donc susceptible de donner des indications sur l'efficacité de la détergence du système {alginate + détergent}. En effet, les angles de contact d'une surface souillée et d'une surface propre sont différents, ce qui peut servir de critère de contrôle de la propreté de surface.

#### *Application avec action mécanique*

Grâce à l'action mécanique résultant de l'utilisation d'un pinceau ou d'un dispositif de pulvérisation, il est possible d'améliorer le contact entre les souillures et la solution détergente. Ces méthodes permettent également d'utiliser des grammages de solution détergente inférieurs. En effet, l'action mécanique du pinceau permet de forcer le contact entre les souillures et la solution détergente. On peut donc admettre que la dispersion se fera d'autant plus facilement. Lorsque la solution détergente est pulvérisée (Figure 110) sur la surface souillée, l'impact des gouttelettes permet d'exercer une action mécanique locale sur les souillures.

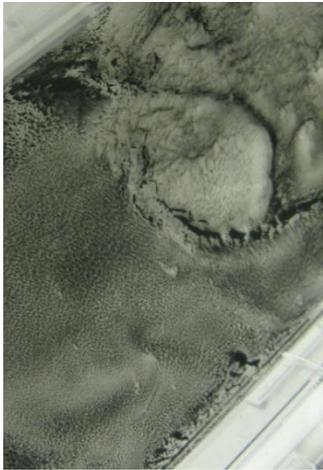
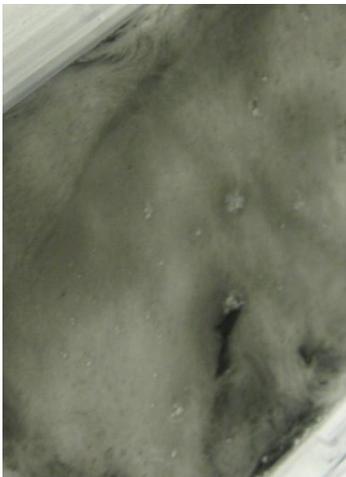
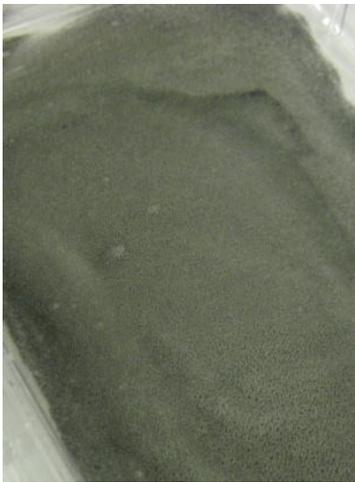


**Figure 110 : Dispositif de pulvérisation de la solution détergente**

Dans le cas de la pulvérisation au pistolet à peinture, la buse a un diamètre de 1,5mm et la pression d'utilisation est de 3bars. L'application de la solution détergente est toujours effectuée avec un angle de pulvérisation supérieur à  $60^\circ$  par rapport à la surface. La distance de pulvérisation est comprise entre 10 et 30cm.

L'influence du procédé d'application choisi est détaillée dans le Tableau 15 :

**Tableau 15 : Influence du procédé d'application sur les souillures**

Coulée	Pinceau	Pulvérisation
		
<p>Pour que l'étalement soit complet, il est nécessaire de verser beaucoup de solution détergente. La sollicitation mécanique est quasiment nulle. <b>Grammage <math>\approx 4300 \text{ g/m}^2</math></b></p>	<p>Les souillures sont soumises à des forces de cisaillement. Il faut une quantité moyenne de solution détergente. <b>Grammage <math>\approx 2400 \text{ g/m}^2</math></b></p>	<p>Les souillures sont moyennement cisailées. Il faut une quantité faible de solution détergente. <b>Grammage <math>\approx 500 \text{ g/m}^2</math></b></p>

Il est donc préférable de sélectionner une application au spray. C'est la méthode qui permet de consommer le moins de matière et qui garantit une bonne adsorption des souillures. Pour résumer, cette méthode permet :

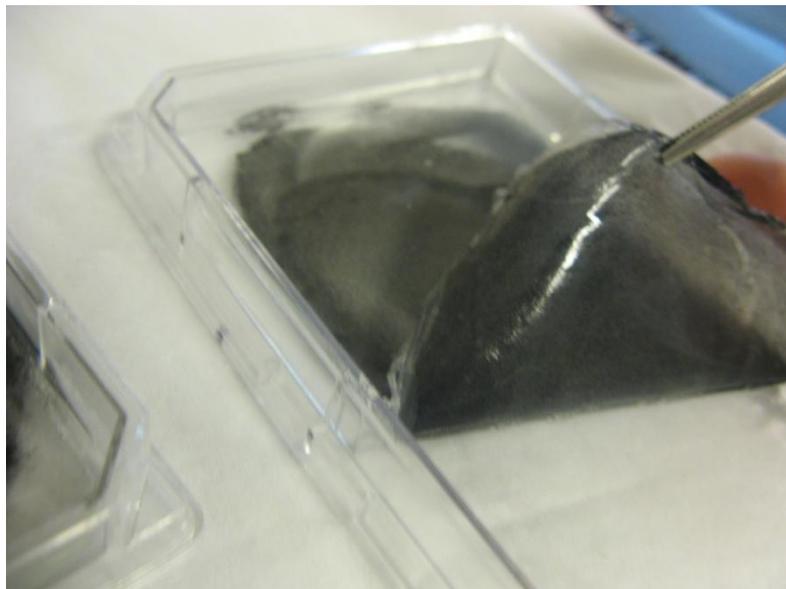
- ❑ d'utiliser une quantité plus faible de solution détergente par unité de surface souillée
- ❑ une meilleure accroche aux parois verticales ou aux géométries de surface complexes grâce à la pulvérisation qui favorise le mouillage
- ❑ une automatisation du procédé de détergence que ne permet pas une application au pinceau

Ce choix est confirmé à partir des résultats de l'étude de l'efficacité de détergence en fonction du procédé d'application (Figure 111, Figure 112 et Figure 113). La solution détergente est appliquée selon chacune des trois méthodes. Un temps d'attente de dix minutes est respecté pour que l'action détergente puisse avoir lieu. Le calcium est alors pulvérisé et un temps

d'attente de 5 minutes avant pelage est de nouveau respecté pour que la diffusion du calcium soit totale (temps suffisant compte-tenu de l'épaisseur et du coefficient de diffusion apparent mesuré).



**Figure 111 : Pelage de la solution détergente appliquée par écoulement**



**Figure 112 : Pelage de la solution détergente appliquée par pulvérisation**



**Figure 113 : Pelage de la solution détergente appliquée au pinceau**

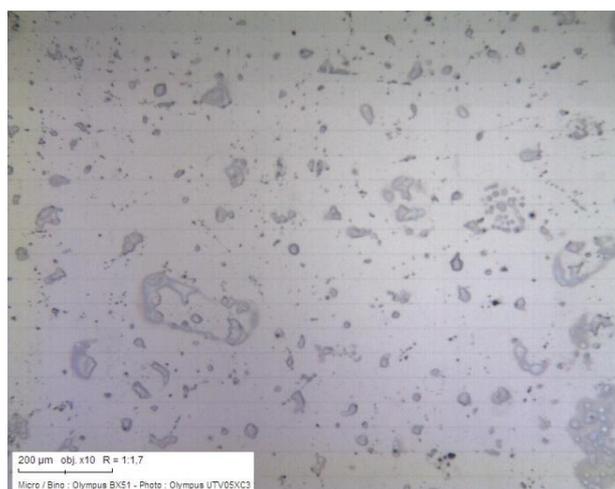
Le procédé le plus efficace est celui utilisant la pulvérisation. Il ne laisse que très peu de résidus et permet une utilisation minimale de solution détergente pour fonctionner. Le film correspondant se déchire moins facilement. De plus, lorsque le film sèche, il laisse très peu de traces sur les doigts.

#### IV.2.2 Pulvérisation du calcium

Après un temps d'attente d'une dizaine de minutes (temps de l'action détergente), le calcium est appliqué sur la solution détergente contenant l'alginate. Cette étape est critique car elle conditionne l'homogénéité des propriétés de cohésion du film et le niveau de ses propriétés mécaniques qui permettront son pelage. Il est donc nécessaire que la pellicule de chlorure de calcium déposée soit homogène et que le temps de pulvérisation soit suffisamment long afin que la quantité de calcium pulvérisée soit suffisante pour réticuler l'ensemble des chaînes d'alginate.

Afin de procéder à cette fine pulvérisation, un aérographe a été utilisé. Le faible diamètre de la buse permet de pulvériser la solution de chlorure de calcium sous la forme de très fines particules. Il présente de plus l'avantage d'un entretien facile comparé à un équipement de type Microniser (atomiseur).

Les tailles de gouttelettes étalées peuvent être caractérisées à l'aide d'un microscope optique. Une brève pulvérisation (moins d'une seconde) de la solution de chlorure de calcium sur une lamelle de verre permet de créer des gouttes de solution une fois qu'elles sont étalées (Figure 114) et de déterminer par microscopie optique leur diamètre.



**Figure 114 : Etalement des gouttes de solution de chlorure de calcium après une brève pulvérisation**

Afin de déterminer la durée optimale de pulvérisation, plusieurs essais ont été effectués sur des lamelles de verre ensuite examinées au microscope afin de déterminer le schéma de dépose des gouttelettes (Figure 115). Le diamètre moyen des gouttes après étalement a été calculé à l'aide du logiciel ImageJ sur 3 clichés différents.



**Figure 115 : Schéma de dépose des gouttes à différents temps de pulvérisation**

**(a) 5s, diamètre moyen : 77μm**

**(b) 10s, diamètre moyen : 128μm**

**(c) 15s, recouvrement total**

Le temps de pulvérisation sélectionné est de 10 secondes. Pour des temps inférieurs, le diamètre des gouttelettes déposées est trop petit et présente trop d'hétérogénéités. Pour des temps supérieurs, la surface est saturée en solution de chlorure de calcium, ce qui sera un inconvénient lors de la phase de séchage. Avec 10 secondes de pulvérisation, la quantité de solution de chlorure de calcium déposée sur la surface est d'environ 15,5g/m<sup>2</sup>. Cela correspond, avec une solution de chlorure de calcium concentrée à 4,76%, à un dépôt de 0,775g de CaCl<sub>2</sub> par mètre carré.

### IV.2.3 Temps d'attente avant pelage

La présence de calcium est indispensable à la bonne conduite du procédé de pelage du film. Sans calcium, il n'y a pas de réticulation des alginates et il est donc impossible d'obtenir un film cohésif. Le paramètre critique qui conditionne le temps d'attente avant pelage est la diffusion totale du calcium dans la solution détergente. Nous avons vu précédemment qu'aux concentrations de travail, il est nécessaire d'attendre au moins 200 secondes pour réticuler un film liquide d'alginate (30 g/L) de 4,5 mm d'épaisseur. Les conditions réelles d'application (température du laboratoire variable, application non-homogène du film d'alginate + détergent) imposent de prévoir une marge de sécurité pour le temps de diffusion du calcium. Les tests en laboratoire ont montré qu'un temps d'attente de 300 secondes (5 minutes) est approprié pour ce procédé.

Un autre paramètre critique rentre en jeu au-delà de ces 5 minutes : la teneur en eau. Deux situations sont alors possibles :

- ❑ A des temps courts, le film d'alginate de calcium imprégné de souillures est facile à peler mais il reste de l'eau sur la surface traitée
- ❑ A des temps longs, le film est plus difficile à peler car il développe des forces d'adhésion avec la surface susceptibles d'être plus fortes que la cohésion du film. Le film peut alors se déchirer lors du pelage.

Il faut donc privilégier la première situation et ne pas laisser trop de temps avant pelage. Dans le cas d'une application de la solution détergente au pistolet à peinture, une durée de 10 minutes est idéale. Au-delà de 30 minutes, les forces d'adhésion avec la surface sont très importantes comparées à la cohésion du film. Ainsi, il n'est plus possible de peler le film sans le découper en petits morceaux. Dans ce cas, le procédé est inapplicable (Figure 116).



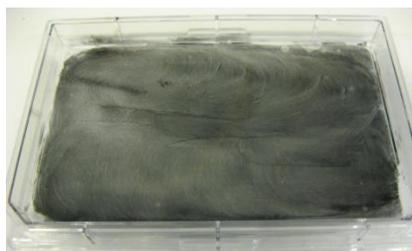
**Figure 116 : Pelage d'un film d'alginate de calcium non cohésif**

#### IV.2.4 Conclusions sur le choix du procédé de détergence

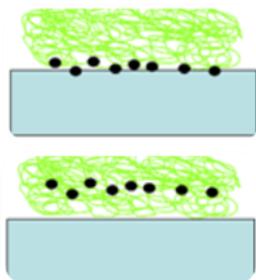
Une vue générale du procédé choisi est donnée en Figure 117. La moitié seulement de la surface est traitée afin de mieux rendre compte de l'efficacité de la détergence. Les conditions opératoires sont les suivantes :

- ❑ Grammage des souillures : 4 g/m<sup>2</sup>
- ❑ Souillures appliquées au tampon en mousse
- ❑ Concentration en alginate de la solution détergente : 30 g/L (2,97% m)
- ❑ Concentration de la solution de calcium : 50 g/L (4,76% m à 15 g/m<sup>2</sup>)
- ❑ Solution détergente appliquée au pistolet à peinture
- ❑ Temps d'attente avant pulvérisation de calcium : 10 min
- ❑ Solution de chlorure de calcium appliquée à l'aérographe
- ❑ Temps d'attente avant pelage : 10 min

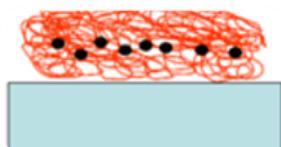
*Surface souillée*



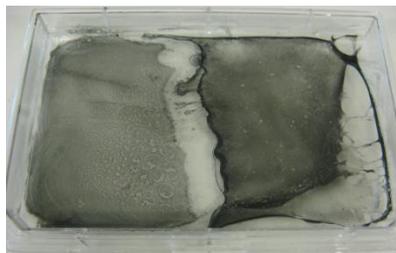
*Pulvérisation de la solution détergente et migration des souillures*



*Pulvérisation du calcium et réticulation*

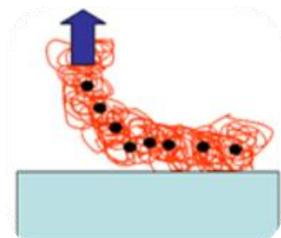


1 min après pulvérisation



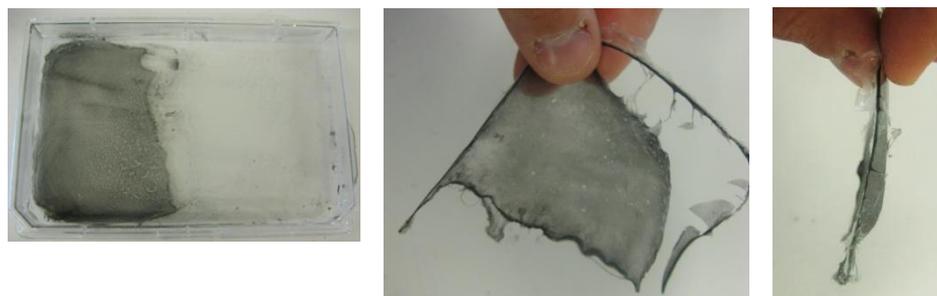
10 min après pulvérisation

*Pelage du film réticulé*



**Figure 117 : Procédé final de détergence des surfaces souillées**

Le film finalement obtenu est cohésif et ne laisse pas de résidus sur les doigts (Figure 118).

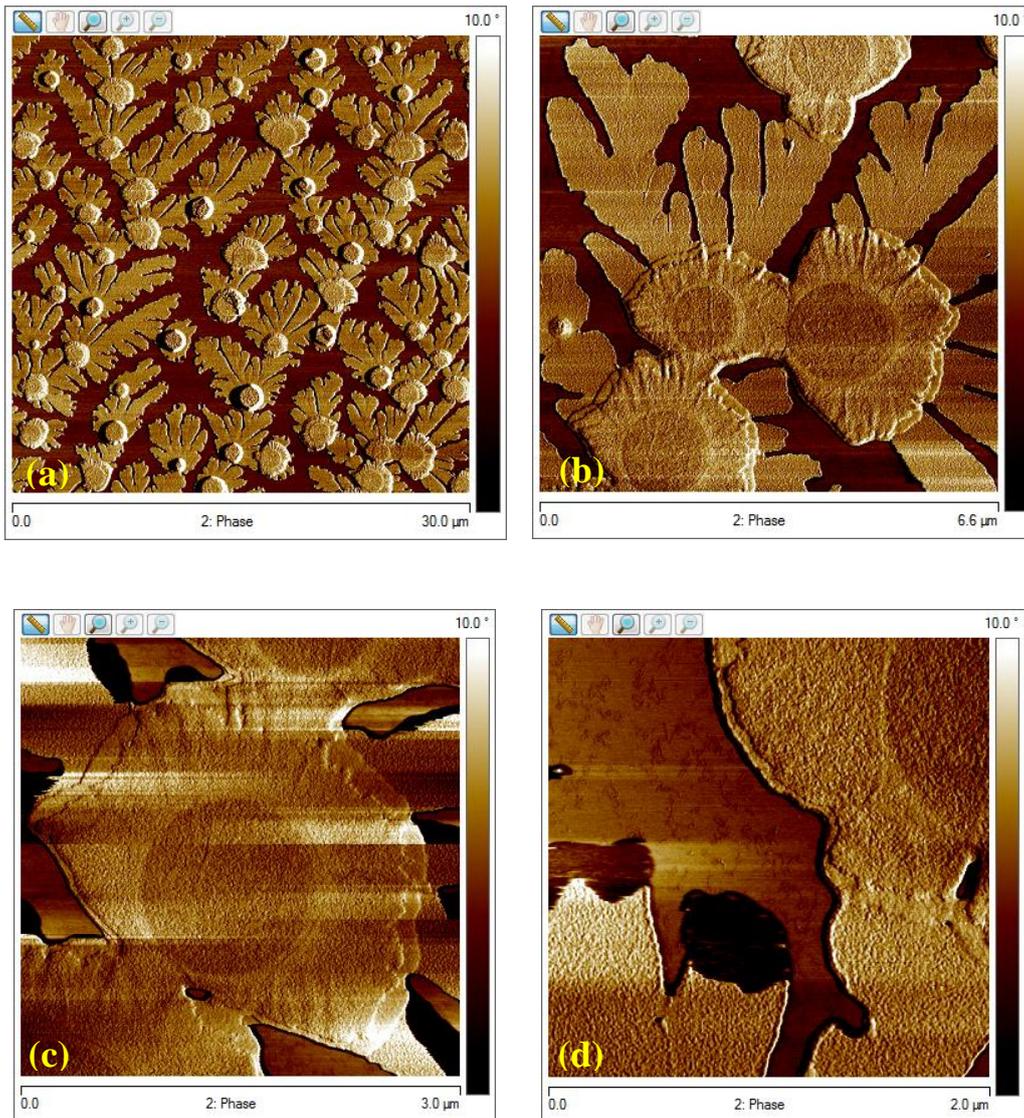


**Figure 118 : Film sec d'alginate de calcium + détergent contenant les résidus souillés**

#### IV.2.5 Effet de la solution détergente sur l'alginate

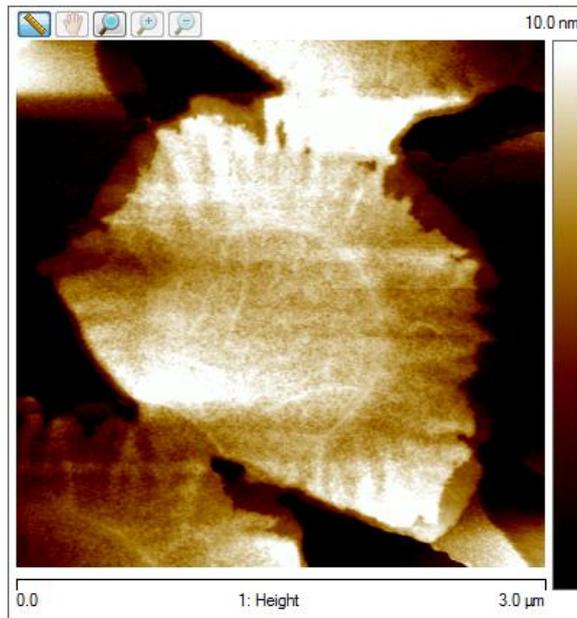
La solution détergente a été choisie pour ne pas perturber la réticulation des chaînes d'alginate. Il est donc nécessaire de vérifier à l'échelle microscopique comment se comporte le mélange alginate + détergent.

Une solution d'alginate à la concentration de  $10^{-6}$ M (106 mg/L) est mélangée à une solution détergente dans les concentrations et selon le protocole décrit paragraphe IV.1.1.2. Cette solution est ensuite déposée par spin-coating (3000trs/min pendant 2 minutes) sur une mica fraîchement clivée. Les images AFM de phase de cette solution sont présentées en Figure 119.



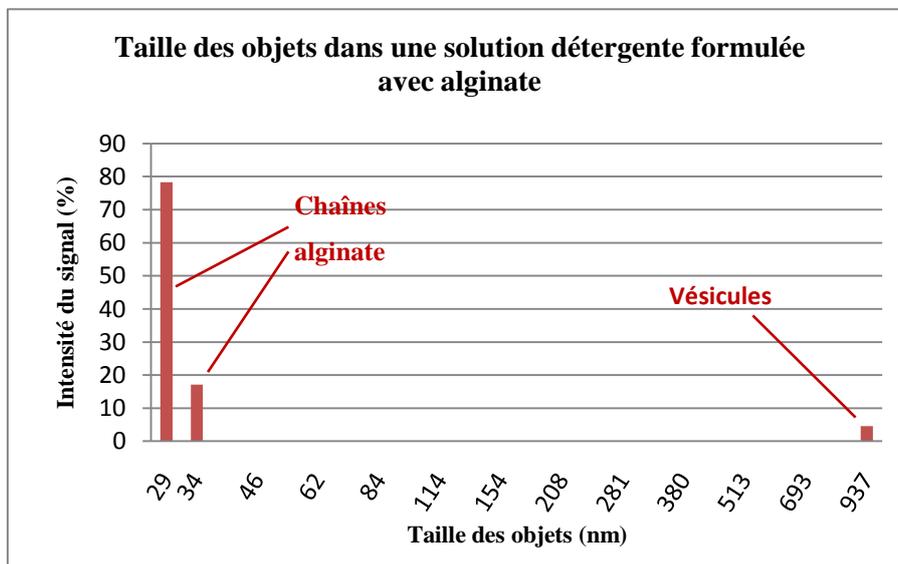
**Figure 119 : Images AFM de phase de la formulation détergente sur mica**

Des amas de taille micrométrique se forment sur la surface de mica. Il apparait clairement des objets qui pourraient être dus à la cristallisation des chaînes de poly(oxyde d'éthylène) portées par le tensioactif (Zhu, 2007). Une vitesse inférieure de rotation du spin-coating n'a pas permis d'obtenir des images d'objets intacts (les objets ont tendance à s'accumuler sur les bords de la pastille de mica). La figure 119d révèle l'existence de chaînes d'alginate en dehors des vésicules qui n'ont pas la structure caractéristique ramifiée. Comme le montre l'image AFM en topographie de la Figure 120, il existe aussi des chaînes alginate au sein même des vésicules.



**Figure 120 : Image AFM en topographie d'une vésicule.  
Les brins d'alginate apparaissent plus clairs au cœur de la vésicule.**

L'analyse de la solution détergente par diffusion dynamique de la lumière (DDL) vient confirmer l'existence de ces vésicules (Figure 121) parmi les chaînes alginate. Ces vésicules proviendraient de l'association d'une partie des chaînes d'alginate avec le tensioactif.

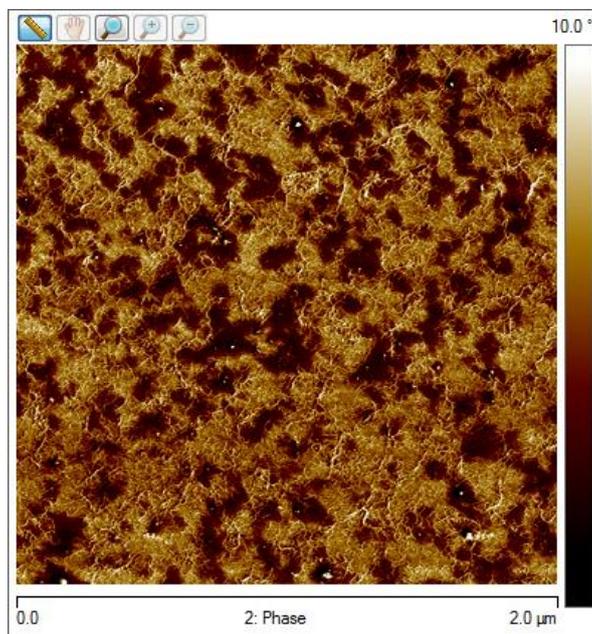


**Figure 121 : Données de DDL de la formulation détergente.**

Cependant, il apparaît nécessaire ici d'apporter une réserve à ces résultats. En effet, malgré l'observation d'objets de taille micrométrique *via* les analyses de diffusion dynamique de la lumière, la solution détergente contenant les alginates reste limpide (pas de turbidité

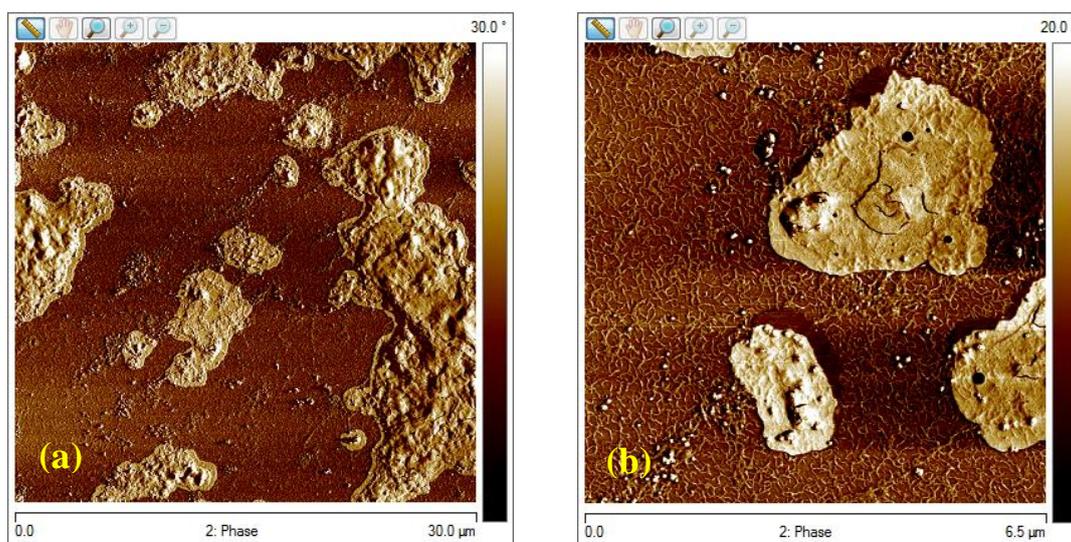
caractéristique de ces objets). Il se peut donc que les objets observés en AFM soient des artefacts dus à l'évaporation du solvant (voire de l'EGBME) par spin-coating.

Lorsque cette surface est mise en contact avec une solution contenant des ions calcium puis rincée, les vésicules sont dégradées et le réseau d'alginate de calcium est créé (Figure 122).



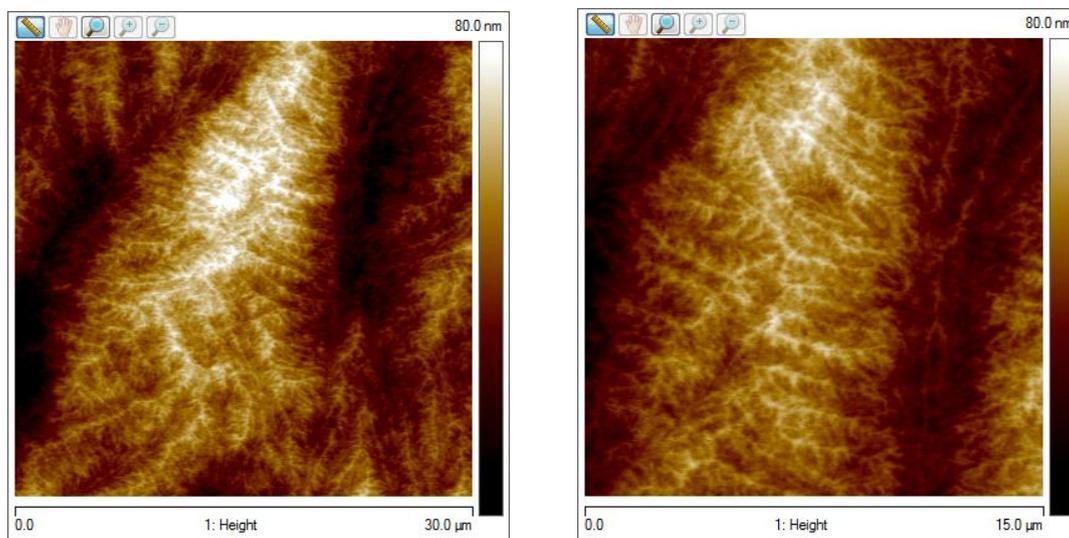
**Figure 122 : Image AFM de phase de la formulation détergente après contact avec le calcium.**

Lorsqu'une goutte de solution détergente est déposée, sans spin-coating, sur une pastille de mica fraîchement clivée, il est possible d'observer les vésicules intactes mais agrégées (Figure 123).



**Figure 123 : Images AFM de phase d'une solution détergente déposée sans spin-coating**

Les chaînes (ou amas de chaînes) alginate apparaissent clairement (Figure 123b) à l'extérieur des vésicules. Lorsqu'une goutte de calcium est déposée pendant cinq secondes et que la surface est rincée, il y a formation du réseau d'alginate de calcium (Figure 124).



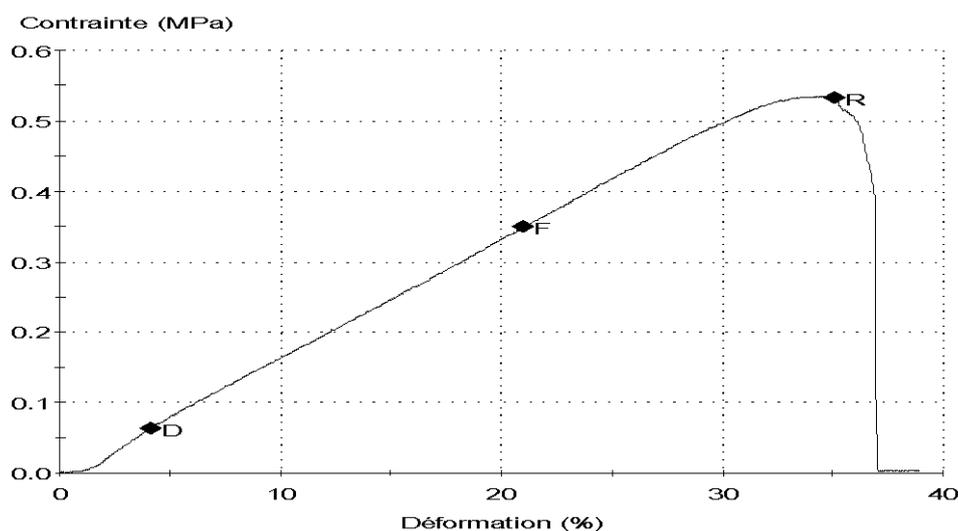
**Figure 124 : Images AFM de phase de la solution détergente après contact avec le calcium**

Le réseau apparaît cette fois sous la forme de dendrites.

### **IV.3 Propriétés des films pelés**

#### **IV.3.1 Propriétés mécaniques des films pelés**

Il est impossible de procéder à des essais mécaniques avant séchage du film à température ambiante. Le film, encore gorgé d'eau, ne peut être inséré dans les mors de la machine de traction sans être dégradé. Comme l'indique la Figure 125, le film pelé (après 3 heures de séchage) est souple et peu cohésif.



**Figure 125 : Courbe déformation-contrainte du film pelé contenant les résidus**

Les valeurs de contrainte et de pourcentage de déformation à la rupture de film d'alginate (30 g/L) réticulé au calcium (50 g/L) avec et sans détergent sont rappelées dans le Tableau 16:

**Tableau 16 : Propriétés mécaniques de films d'alginate réticulés au calcium, avec et sans détergent**

Film	Contrainte à la rupture	Pourcentage de déformation
<b>Alginate seul + Ca</b>	115 MPa	7%
<b>Alginate + détergent + Ca</b>	0,55 MPa	35%

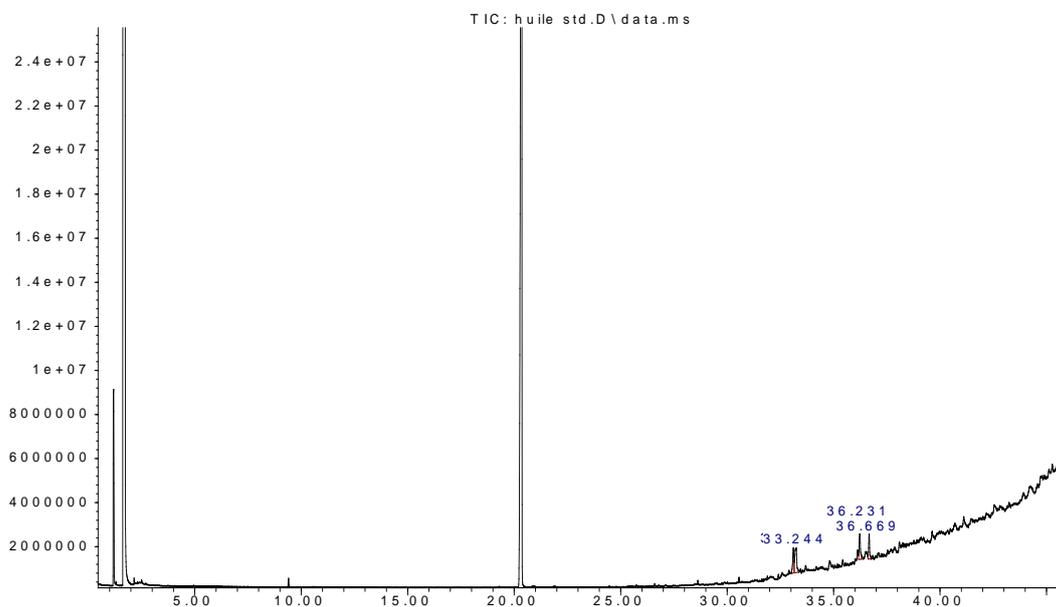
Il se produit une très nette dégradation des performances mécaniques du film par rapport au film d'alginate seul. La présence de solution détergente ainsi que des souillures entraîne une plastification du film et une diminution de ses propriétés mécaniques. Le film reste cependant suffisamment cohésif à condition de ne pas le solliciter trop brutalement et de ne pas perdre trop d'eau entre l'étape de pulvérisation de calcium et le pelage. Il est donc essentiel de ne pas dépasser les temps d'attente préconisés.

### IV.3.2 Identification des souillures

Afin de pouvoir identifier les souillures et quantifier l'efficacité de la détergence, il est nécessaire de caractériser les résidus. Les souillures emprisonnées dans les films pelés ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GCMS). Les résidus ne sont pas entièrement solubles dans le THF (solvant couramment utilisé en GCMS) mais il est possible de solubiliser le film pelé dans de l'eau chaude (60°C)

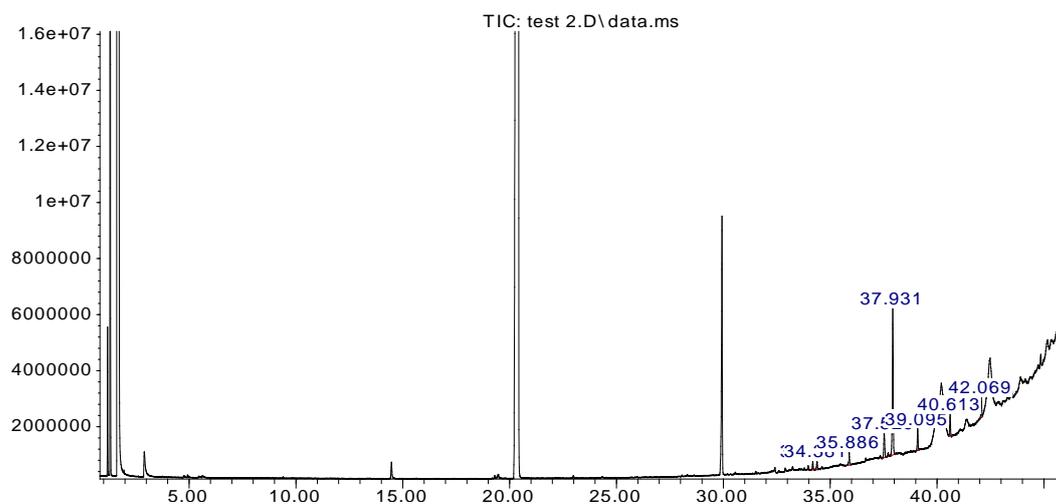
sous agitation. Le mélange aqueux est ensuite évaporé à l'évaporateur rotatif et le résidu présent dans le ballon est filtré et solubilisé dans 2mL de THF.

Un standard de mélange huile de coupe + noir de carbone est présenté en Figure 126. Les courbes de GCMS représentent le temps de rétention en fonction de l'abondance des espèces.



**Figure 126 : Standard de mélange {huile de coupe + noir de carbone} en GCMS**

Le spectre de l'huile de coupe présente une « forêt de pics » aux temps de rétention élevés (environ 36 minutes). Ces pics se distinguent à peine du bruit de fond et ne sont pas reproductibles. Ces résultats sont comparés à ceux obtenus lors de l'analyse des résidus pelés (Figure 127).



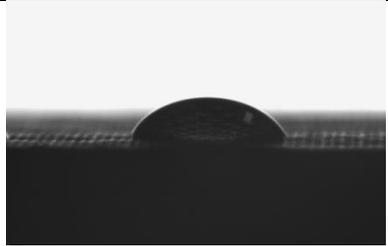
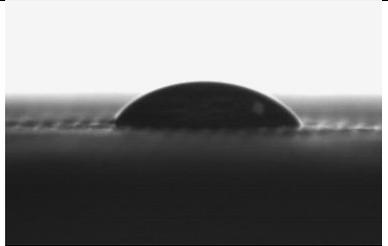
**Figure 127 : Analyse GCMS du résidu pelé**

Il n'est plus possible de discriminer les pics des résidus afin de les utiliser comme pics caractéristiques. L'huile et les résidus sont trop lourds et commencent juste à sortir aux températures avoisinant les 280°C. L'équipement de chromatographie n'autorise pas de travailler à des températures supérieures afin d'éviter la dégradation de la colonne. L'utilisation de solvants plus lourds, qui permettent habituellement d'augmenter la sensibilité, ne permet pas non plus d'identifier la teneur en souillure des films pelés. Les autres méthodes de chromatographie (Ultra-Violet et Infrarouge) ou d'analyse électronique (XPS, microsonde) n'ont pas non plus été fructueuses.

### IV.3.3 Angles de contact d'une surface composite traitée

Comme décrit au paragraphe IV.2.1, l'étude des angles de contact permet de distinguer une surface propre d'une surface polluée. Un traitement détergent efficace de la surface polluée devrait donc permettre un retour aux angles de contact originaux. Les résultats de mesure d'angles de contact sont montrés au Tableau 17.

**Tableau 17 : Angles de contact d'une goutte d'eau sur une surface composite traitée**

Avant pollution	Après pollution	Après traitement
		
Valeur de l'angle : <b>74°</b>	Valeur de l'angle : <b>&lt;10°</b>	Valeur de l'angle : <b>62°</b>

Il est nécessaire de rappeler que l'huile utilisée pour souiller les surfaces est partiellement miscible dans l'eau (à hauteur de 5%v). Cela explique la valeur très faible de l'angle de contact d'une goutte d'eau sur la surface souillée. Après traitement avec une solution détergente contenant des alginates et séchage, la valeur de l'angle de contact atteint une valeur très proche de l'angle de contact initial d'une surface non-souillée. Il est donc raisonnable de penser que le traitement détergent formulé à partir d'alginates est efficace.

Mais l'écart d'angles de contact entre la surface traitée et la surface non-traitée peut avoir plusieurs origines :

- ❑ Il reste encore sur la surface des résidus du mélange {huile + noir de carbone} n'ayant pas migré dans le film.
- ❑ Il reste sur la surface des faibles quantités de solution détergente. Il est alors possible que la diminution de l'angle de contact par rapport à une surface propre soit due à la présence de tensioactifs résiduels par exemple.



# Conclusion générale

Chaque phase de fabrication d'un matériau composite usiné comporte un cahier des charges spécifiques. Pour chaque procédé, il peut exister une technique de dégraissage de surface spécifique. Ces travaux de thèse ont montré que l'utilisation d'un produit naturel tel que l'alginate dans le cadre du dégraissage des surfaces est une voie très prometteuse, car elle est susceptible d'être adaptée à un grand nombre de surfaces et de souillures. La solution détergente mise au point au cours de cette thèse répond déjà à un cahier des charges général :

- ❑ La toxicité de la solution est inférieure ou égale à celle du procédé standard (lingettes préimprégnées de diestone dans le meilleur des cas)
- ❑ Pas d'oxydation (pH quasi-neutre)
- ❑ Procédé applicable sur un poste de travail standard (pas ou peu de projection, facilité d'application sur des surfaces complexes)
- ❑ Durée acceptable de traitement, inférieure ou égale au procédé manuel avec lingettes

Le mode d'action mis en évidence lors de nos différents travaux de recherche repose sur un mécanisme en plusieurs étapes :

- 1) **La solution détergente contenant les alginates est appliquée sur la surface souillée.** Nous avons montré qu'il est possible de travailler avec des concentrations en alginate permettant une application facile, rapide et homogène de la solution détergente. Celle-ci, légèrement visqueuse, est idéale pour des applications sur des surfaces verticales ou de géométrie complexe. Pour cela, le mode d'application devant être privilégié est la pulvérisation au pistolet à peinture qui permet de plus une faible consommation de matière.
- 2) **La solution détergente capte les souillures.** Nous avons mis en évidence l'efficacité naturelle de la solution détergente vis-à-vis des souillures. Cette efficacité peut être renforcée *via* une mise en œuvre permettant une sollicitation mécanique et donc une amélioration du contact entre la solution détergente et les souillures.

- 3) **La réticulation de la solution détergente contenant les alginates, sous l'effet d'une pulvérisation de calcium est possible.** Nous avons vu que la pulvérisation d'une solution de chlorure de calcium sous la forme de fines particules (à l'aide d'un aérographe) permet la réticulation des alginates contenus dans la solution détergente. La migration des ions calcium au sein de la solution détergente se fait au rythme d'une diffusion et la formation du gel d'alginate de calcium n'est pas un frein à cette diffusion.
  
- 4) **Le pelage du film formé est réalisable.** Avant de pouvoir peler le film contenant les souillures, il est nécessaire d'attendre suffisamment longtemps pour que d'une part le réseau alginate de calcium puisse se constituer et que, d'autre part, le film puisse gagner en cohésion *via* une évaporation partielle du solvant.

Les essais et caractérisations réalisés ont permis de mettre en évidence la viabilité du procédé, mais il reste encore beaucoup à apprendre en ce qui concerne les différentes phases du mécanisme. Il nous faudrait par exemple approfondir notre connaissance du diagramme de phase des alginates dans la solution détergente, caractériser la cinétique du processus de détergence, connaître de façon plus précise les propriétés mécaniques du gel pelable à différentes teneurs en eau.

L'objectif de cette thèse a été de démontrer la faisabilité d'un procédé de détergence utilisant les alginates et permettant une réduction considérable des volumes d'eau utilisés pour un dégraissage lessiviel. De plus, un protocole de mise en œuvre a été défini. Cependant, la sélection des matières premières (type d'alginate, principes actifs de la solution détergente) a été effectuée via une succession d'expérimentations de type succès/échecs. Le premier point critique qui mérite une étude complémentaire est donc la relation structure-propriétés entre le type d'alginate choisi et les propriétés du film pelé après absorption des souillures. Le second point concerne la sélection des principes actifs en fonction de la nature des souillures.

Ces recherches ont ouvert de larges perspectives pour le dégraissage des surfaces et en particulier des surfaces composites. Il reste maintenant à confronter cette technologie aux réalités industrielles afin de la généraliser à d'autres surfaces ainsi que d'autres types de souillures.





# Références bibliographiques

- AFSSET, 2009** Conséquences sur la santé des fluides de coupe, rapport d'appui scientifique et technique. Rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail.
- Amsden, 1998** B. Amsden, Solute diffusion in hydrogels : an examination of the retardation effect. *Polym. Gels and Networks*, 6 : 13-43.
- Amsden, 1999** B. Amsden, N. Turner, Diffusion characteristics of calcium alginate gels. *Biotechnol. And Bioeng* Vol. 65 No. 5.
- Andresen, 1977** I.L. Andresen, O. Skipnes, O. Smidsrød, K. Østgaard, P.C. Hemmer, Some biological functions of matrix components in enthic algae in relation to their chemistry and the composition of seawater. *ACS Symp. Ser.* 48, 361-224.
- Atkins, 1973a** E.D. Atkins, I.A. Nieduszynski, W. Mackie, K.D. Parker, E.E. Smolko, Structural components of alginic acid I. The crystalline structure of poly-beta-D-mannuronic acid. Results of X-ray diffraction and polarized infrared studies. *Biopolymers* 12 : 1865-1878.
- Atkins, 1973b** E.D. Atkins, I.A. Nieduszynski, W. Mackie, K.D. Parker, E.E. Smolko, Structural components of alginic acid II. The crystalline structure of poly-alpha-L-guluronic acid. Results of X-ray diffraction and polarized infrared studies. *Biopolymers* 12 : 1879-1887.
- ATSDR, 1998** IRIS Toxicological Review of Ethylene Glycol Mono-Butyl Ether (EGBE), Agency for Toxic Substances and Disease Registry [www.atsdr.cdc.gov](http://www.atsdr.cdc.gov)
- Blandino, 1999** A. Blandino, M. Macias, D. Cantero, Formation of calcium alginate gel capsules : influence of sodium alginate and CaCl<sub>2</sub> concentration on gelation kinetics. *J. Biosc. Bioeng.* 88 No. 6 : 686-689.
- Braccini, 1999** I. Braccini, S. Perez, R.P. Grasso, Conformational and configurationnal features of acidic polysaccharides and their interactions with calcium ions : a molecular modeling investigation. *Carbohydr. Res.* 317 : 119-130.
- Braccini, 2001** I. Braccini, S. Perez, Molecular basis of Ca<sup>2+</sup>-induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. *Biomacromol* 2 : 1089-1096.
- Broquerie, 2005** B. Broquerie, Fluides de coupe – rôle en usinage et classification. *Techniques de l'ingénieur* BM7064.
- Chung, 2002** T.W. Chung, J. Yang, K.Y. Cho, T. Akaike, J.W. Nah, S.I. Kim, C.S. Cho, Preparation of alginate/galactosylated chitosan scaffold for hepatocyte attachment. *Biomaterials* 23, issue 14 : 2827-2834
- Clare, 1993** K. Clare, Algin pp. 105-143 dans *Industrial Gums*, Whistler & Bemiller, San Diego California : Academic Press
- Decho, 1999** A.W. Decho, Imaging an alginate polymer gel matrix using atomic force microscopy. *Carbohydr. Res.* 315 : 330-333.
- Donati, 2009** I. Donati, S. Paoletti, Material properties of alginates. *Microbiology Monographs* 13 : 1-53.
- Draget, 1991** K.I. Draget, K. Østgaard, O. Smidsrød, Homogeneous alginate gels : a technical approach. *Carbohydr. Polym.* 14 : 159-178.

- Draget, 1993** K.I. Draget, M.K. Simensen, O. Smidsrød, E. Onsøyen, Gel strength of Ca-limited alginate gels made in situ. *Hydrobiologia* 260-261 : 563-565.
- Draget, 1994** K.I. Draget, G. Skjåk Bræk, O. Smidsrød, Alginic acid gels : the effect of alginate chemical composition and molecular weight. *Carbohydr. Polym.* 25 : 31-38.
- Draget, 2001** K.I. Draget, I. Aune, P.O. Andersen, O. Gåserød, B. Storbakken, B.T. Stokke, O. Smidsrød, Effects of molecular weight and elastic segment flexibility on syneresis in Ca-Alginate gels. *Food Hydrocolloids* 15 : 485-490.
- Fang, 2007** Y. Fang, S. Al-Assaf, K. Nishinari, G.O. Phillips, T. Funami, P.A. Williams, L. Li, Multiple steps and critical behaviors of the bonding of calcium to alginate. *J.Phys. Chem. B*, 111 (10) : 2456-2462.
- Fisher, 1955** F.G. Fisher, H. Dörfel, Die Polyuronsäuren der Braunalgen (Kohlenhydrate der Algen), *Z. Physiol. Che.*, 302, 186-203.
- Gåserød, 1998** O. Gåserød, O. Smidsrød, G. Skjåk-Bræk, Microcapsules of alginate-chitosan I : a quantitative study of the interaction between alginate and chitosan. *Biomaterials* 19 : 1815-1825.
- Grant, 1973** G.T. Grant, E.R.Morris, D.A. Rees, P.J.C. Smith, D. Thom, Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS Lett.* 32 : 195-198.
- Grasdalen, 1977** H. Grasdalen, B. Larsen, O. Smidsrød, <sup>13</sup>C-NMR studies of alginate. *Carbohydr. Res.* 56 : C11-C15.
- Grasdalen, 1979** H. Grasdalen, B. Larsen, O. Smidsrød, A PMR study of the composition and sequence of urinate residues in alginates. *Carbohydr. Res.* 68 : 23-31.
- Grasdalen, 1981** H. Grasdalen, B. Larsen, O. Smidsrød, <sup>13</sup>C-NMR studies of monomeric composition and sequence in alginates. *Carbohydr. Res.* 89 : 179-191.
- Haug, 1959** A. Haug, Fractionation of alginic acid. *Acta Chem. Scand.* 13 : 601-603.
- Haug, 1963** A. Haug, B. Larsen, O. Smidsrød, The degradation of alginates at different pH values. *Acta Chem. Scand.* 17 : 1466-1468.
- Haug, 1966** A. Haug, B. Larsen, O. Smidsrød, A study on the constitution of alginic acid by partial hydrolysis. *Acta Chem. Scand.* 20 : 183-190.
- Haug, 1967** A. Haug, B. Larsen, O. Smidsrød, Alkaline degradation of alginates. *Acta Chem. Scand.* 21 : 2859-2870.
- Haug, 1970** A. Haug, O. Smidsrød, Selectivity of some anionic polymers for divalent metal ions. *Acta Chem. Scand.* 24 : 843-854.
- Hertzberg, 1995** S. Hertzberg, E. Moen, C. Vogelsang, K. Østgaard, Mixed photo-cross-linked polyvinyl alcohol and calcium-alginate gels for cell entrapment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43 : 10-17.
- Hirst, 1939** E.L. Hirst, J.K.N. Jones, W.O. Jones, The structure of alginic acid. Part I, *J. Chem. Soc.* 1880-1885
- Hoffman, 2002** A.S. Hoffman, Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54 : 3-12.
- King, 1983** A.H. King, Brown Seaweed extracts (Alginates), *Food hydrocolloids*, 2 : 115-188.

- Larsen, 1970** B. Larsen, O. Smidsrød, T. Painter, A. Haug, Calculation of the nearest-neighbour frequencies in fragments of alginate from the yields of free monomer after partial hydrolysis. *Acta Chem. Scand.* 24 : 726-728.
- Letellier, 2001** M. Letellier, S. Mariez, S. Prigent, B. Brunet-Imbault, Diffusion macroscopique dans un tuffeau et un alginate, mesure IRM. *Comptes-rendus de l'Académie des Sciences - Séries IIC Chemistry Vol4 – 11* : 863-867.
- Li, 2008** L. Li, R. Vreeker, E. Mendes, Y. Fang, I. Appelqvist, Drying and rehydration of calcium alginate gels. *Food Biophys.* 3 : 361-369.
- Lim, 1980** F. Lim, A.M. Sun, Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas. *Science* 210 : 908-910.
- Ma, 2007** H.L. Ma, X.R. Qi, T. Nagai, Y. Maitani, Preparation and characterization of superparamagnetic iron oxide nanoparticles stabilized by alginate. *Int. J. Pharmac.* 333 : 177-186.
- Mammeri, 2003** F. Mammeri, Relation entre la structure et les propriétés mécaniques de films minces hybrides organiques-inorganiques préparés par voie sol-gel. Thèse. Université Pierre et Marie Curie.
- Martinsen, 1989** A. Martinsen, G. Skjåk-Bræk, O. Smidsrød, Alginate as immobilization material I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. *Biotechnol. Bioeng.* 33 : 79-89.
- Martinsen, 1991** A. Martinsen, G. Skjåk-Bræk, O. Smidsrød, F. Zanetti, S. Paoletti, Comparison of different methods for determination of molecular weight and molecular weight distribution of alginates. *Carbohydr. Res.* 15 : 171-193.
- Mitchell, 1976** J.R. Mitchell, J.M.V. Blanshard, Rheological properties of alginate gels. *J. Texture Stud.* 7 : 219-234.
- Mørch, 2006** Y.A. Mørch, I. Donati, B.L. Strand, Effect of Ca<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup> and Sr<sup>2+</sup> on alginate microbeads. *Biomacromol.* 7 : 1471-1480.
- Mørch, 2009** Y.A. Mørch, I. Donati, B.L. Strand, S. Holtan, G. Skjåk-Bræk, Mechanical properties of C5-epimerized alginates. *Biomacromol.* 9 : 2360-2368.
- Morcos, 1970** I. Morcos, On contact angle and dispersion energy of the cleavage graphite/water system. *J. Colloid Interface Sc.* 34 : 469-471.
- Morris, 1978** E.R. Morris, D.A. Rees, D. Thom, J. Boyd, Chiroptical and stoichiometric evidence of a specific, primary dimerization process in alginate gelation. *Carbohydr. Res.* 66 : 145-154.
- Morris, 1981** E.R. Morris, A.N. Cutler, D.A. Rees, J. Price, S.B. Ross-Murphy, Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharide solutions. *Carbohydr. Polym.* 1 : 5-21.
- Nelson, 1930** W.L. Nelson, L.H. Cretcher, The isolation and identification of d-mannuronic acid lactone from the *Macrocystis Pyrifera*. *J. Am. Chem. Soc.* 52 : 2130-2134.
- Pastorczyk, 2009** M. Pastorczyk, M. Kozanecki, J. Ulanski, Water-polymer interactions in PVME Hydrogels – Raman spectroscopy studies. *Polymer* 50 : 4535-4542.
- Pielesz, 2008** A. Pielesz, K. Bak, Raman spectroscopy and WAXS method as a tool for analyzing ion-exchange properties of alginate hydrogels. *Int. J. Biol. Macromol.* 43 : 438-443.

- Rastello, 2002** M. Rastello de Boissesson, Microparticules d'alginate associatifs : élaboration, caractérisation et encapsulation des molécules actives, thèse INPL.
- Rehm, 1977** B.H.A. Rehm, S. Valla, Bacterial alginates: biosynthesis and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 48 : 281-288.
- Schmid, 2008** T. Schmid, A. Messmer, B.S. Yeo, W. Zhang, R. Zenobi, Towards chemical analysis of nanostructures in biofilms II : tip-enhanced Raman spectroscopy of alginates. *Anal. And Bioanal. Chem.* 391 : 1907-1916.
- Sikorski, 2007** P. Sikorski, F. Mo, B.T. Stokke, G. Skjåk-Bræk, Evidence for egg-box compatible interactions in calcium-alginate gels from fiber X-ray diffraction. *Biomacromol.* 8 :2098-2103.
- Skjåk-Bræk, 1986** G. Skjåk-Bræk, H. Grasdalen, B. Larsen, Monomer sequence and acetylation pattern in some bacterial alginates. *Carbohydr. Res.* 154 : 239-250.
- Skjåk-Bræk, 1989** G. Skjåk-Bræk, H. Grasdalen, O. Smidsrød, Inhomogeneous polysaccharide ionic gels. *Carbohydr. Polym.* 10 : 31-54.
- Smidsrød, 1969** O. Smidsrød, S.G. Whittington, Monte Carlo investigation of chemical inhomogeneity in copolymers. *Macromolecules* 2 : 42-44.
- Smidsrød, 1970** O. Smidsrød, Solution properties of alginates. *Carbohydr. Res.* 13 : 359-372.
- Smidsrød, 1972** O. Smidsrød, A. Haug, B. Lian, Properties of poly(1,4-hexuronates) in the gel state I. Evaluation of a method for the determination of stiffness. *Acta Chem. Scand.* 26 : 71-78.
- Smidsrød, 1973** O. Smidsrød, R.M. Glover, S.G. Whittington, The relative extension of alginates having different chemical composition. *Carbohydr. Res.* 27 : 107-118.
- Smidsrød, 1974** O. Smidsrød, Molecular basis of physical properties of alginates in the gel state. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 57 : 267-274.
- Stanford, 1886** E.C.C. Stanford, Algin and other useful products. US Patent #US349,760.
- Stokke, 1991** B.T. Stokke, P. Bruheim, O. Smidsrød, G. Skjåk-Bræk, Distribution of urinate residues in alginate chains in relation to alginate gelling properties. *Macromolecules* 24 : 4637-4645.
- Stokke, 2000** B.T. Stokke, K.I. Draget H.Urakawa, Y. Yuguchi, K. Kajiwara, Small-angle X-ray scattering and rheological characterization of alginate gels – time resolved studies on ionotropic gels. *J. Molec. Struct.* 554 : 21-34.
- Strand, 2001** B.L. Strand, B. Kulseng, T. Espevik, G. Skjåk-Bræk, O. Gåserød, Alginate-polylysine-alginate microcapsules : effect of size reduction on capsule properties. *J. Microencaps.* 19 : 615-630.
- Strand,2003** B.L. Strand, Y.A. Mørch, T. Espevik, Visualization of alginate-polylysine-alginate microcapsules by confocal laser scanning microscopy. *Biotechnol. Bioeng.* 82 : 386-394.
- Tanaka, 1984** H. Tanaka, M. Matsumura, I.A. Veliky, Diffusion characteristics of substrates in Ca-Alginate beads. *Biotechnol. Bioeng.* 26 : 53-58.
- Thu, 2000** B. Thu, D. Paus, R. Toffanin, F. Vittur, R. Rizzo, A. Mikkelsen, G. Skjåk-Bræk, O. Gåserød, Inhomogeneous alginate gel spheres : an assessment of the polymer gradients by synchrotron radiation-induced X-ray emission, magnetic resonance microimaging and mathematical modeling. *Biopolym.* 53 : 60-71.

- Vold, 2006** I.M.N. Vold, K.A. Kristiansen, B.E. Christensen, A study of the chain stiffness and extension of alginates, in vitro epimerized alginates, and periodate-oxidized alginates using size-exclusion chromatography combined with light scattering and viscosity detectors. *Biomacromol.* 7 : 2136-2146.
- Zhang, 2007** J. Zhang, C.R. Daubert, E.A. Foegeding, A proposed strain-hardening mechanism for alginate gels. *J. Food Eng.* 80 : 157-165.
- Zhu, 2007** D. Zhu, X. Shoux, Y. Liu, E. Chen, S.Z. Cheng, AFM-tip-induced crystallization of poly(ethylene oxide) melt droplets. *Front. Chem. China* 2(2): 174-177.